



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio

A.a. 2022-2023

Sessione di Laurea Luglio 2022

**Identificazione visiva e quantificazione delle
microplastiche e delle fibre tessili nei sedimenti
sabbiosi lungo la costa della Calabria**

Relatori:

Prof.ssa Paola Marini
Prof.ssa Rossana Bellopede
Dott.ssa Valentina Balestra

Candidata:

Federica Trunfio

Abstract

L'impiego diffuso dei materiali plastici nel campo tecnologico, alimentare, medico-sanitario, edile e merceologico, rende la plastica parte del quotidiano di ognuno di noi e, di conseguenza, un agente inquinante cospicuo all'interno delle matrici ambientali. La plastica in ambiente marino, in particolare, costituisce circa il 95% del 'Marine Litter', termine che indica qualsiasi tipo di materiale di origine antropica che è stato scartato, smaltito o abbandonato in ambiente costiero o marino.

Questo lavoro di tesi si pone l'obiettivo di quantificare, utilizzando una metodologia facilmente eseguibile ed affidabile, la presenza delle microplastiche e delle fibre tessili nei sedimenti sabbiosi lungo la costa della Calabria. I siti costieri in esame sono la spiaggia di Pezzo e la spiaggia di Porticello, nel comune di Villa San Giovanni (RC): essi sono molto diversi per impatto antropico, morfologia della costa e posizione geografica all'interno dello Stretto di Messina. Su ciascuna spiaggia sono stati prelevati 8 campioni di sabbia nell'estate 2021: 4 nel mese di giugno e 4 nel mese di settembre, raccolti in punti posti a distanza nota e crescente dalla battigia.

Le analisi di laboratorio hanno previsto le seguenti fasi: classificazione granulometrica dei sedimenti mediante setacciatura meccanica; rimozione della sostanza organica con soluzione di perossido di idrogeno (H_2O_2) al 15%; separazione densimetrica del sedimento dal particolato di interesse (microplastiche e fibre tessili) con soluzione di cloruro di sodio (NaCl); filtrazione del materiale flottato sulla superficie del liquido; essiccamento dei filtri in forno a 40°C per 24 ore. Sfruttando la fluorescenza delle particelle, i filtri essiccati sono stati fotografati in ambiente buio, sotto torcia a luce UV. L'identificazione visiva e la quantificazione delle microparticelle sono state eseguite sia visivamente al computer, mediante ingrandimento di immagine, sia con l'ausilio di Matlab, che ha permesso il conteggio automatico delle fluorescenze su ciascuna foto. Alcuni filtri sono stati osservati anche al microscopio ottico.

I risultati del conteggio tramite analisi visiva evidenziano l'assenza di schemi comuni di distribuzione spaziale, nelle zone campionate sulle due spiagge. Questo conferma che l'accumulo di microplastiche e fibre dipende da fattori specifici del sito, sia di carattere morfologico e climatologico, che antropico. Risulta, infatti, verificata l'ipotesi per cui la spiaggia ad alto impatto antropogenico sia quella più inquinata dopo la stagione estiva. Non è stata, invece, verificata la correlazione tra l'accumulo maggiore di particelle sulle frazioni più fini di sedimento. I dati in letteratura circa tale correlazione forniscono risultati

contrastanti (Alomar et al., 2016, Peter V. et al. 2021). Inoltre, non sempre è vera l'ipotesi secondo cui l'accumulo di detriti aumenta all'aumentare della distanza dalla battigia, essendo la zona interna della spiaggia meno soggetta all'azione del moto ondoso e del vento.

Il conteggio automatico su Matlab evidenzia risultati accettabili solo per Porticello.

Per la spiaggia di Pezzo i risultati sono caratterizzati da un alto margine di errore, a causa di filtri poco nitidi ai fini dell'identificazione su immagine.

L'analisi al microscopio ottico ha confermato la prevalenza di fibre sintetiche rispetto a quelle naturali, contrariamente a molti studi sulle microplastiche nei campioni ambientali, che riscontrano una maggiore concentrazione di fibre animali o vegetali.

Sommario

1	Il Marine litter	8
1.1	Origine e composizione.....	8
1.2	Il componente principale del marine litter: la plastica	8
1.3	Normativa europea per la prevenzione del Marine Litter: MSFD 2008	9
2	La plastica	12
2.1	Composizione e tipologie di polimeri	12
2.2	Proprietà	15
2.3	Classificazione dimensionale	16
2.3.1	Intervallo dimensionale caratteristico delle microplastiche.....	17
2.4	Microplastiche primarie e secondarie	19
3	Origine e forma delle microplastiche in ambiente marino.....	20
3.1	Processi di degradazione	26
3.2	Densità.....	28
3.3	Le microplastiche nei sedimenti sabbiosi.....	31
4	Fibre tessili naturali ed estruse.....	34
4.1	Fibre tessili nei campioni ambientali	36
4.1.1	Identificazione e classificazione	37
5	Campionamento dei sedimenti sabbiosi.....	39
5.1	Scelta del sito	39
5.2	Tecniche di campionamento.....	39
5.2.1	Area di campionamento	41
5.3	Parametri ambientali e controllo di qualità	42
6	Tecniche di analisi delle microplastiche nei campioni ambientali	43
6.1	Pretrattamenti sul campione	43
6.1.1	Setacciatura	43
6.1.2	Digestione	45

6.2	Tecniche di separazione delle microplastiche dalla matrice ambientale.....	46
6.2.1	Flottazione per densità	46
6.2.2	Filtrazione	48
6.3	Tecniche di identificazione e caratterizzazione delle microplastiche	49
6.3.1	Tecniche microscopiche.....	51
6.3.2	Tecniche spettroscopiche	51
6.3.3	Tecniche cromatografiche.....	52
6.3.4	Identificazione visiva	52
7	Il caso studio	53
7.1	I siti in esame: posizione, morfologia e impatto antropico	57
7.2	Campionamento in sito.....	61
7.3	Analisi di laboratorio.....	64
7.3.1	Classificazione granulometrica.....	65
7.3.2	Rimozione della sostanza organica.....	72
7.3.3	Separazione densimetrica.....	74
7.3.4	Filtrazione	77
8	Identificazione delle microplastiche e delle fibre tramite fluorescenza.....	80
8.1	Acquisizione delle foto sui filtri sotto fascio di luce UV	80
9	Analisi di immagine e risultati.....	82
9.1	Conteggio visivo tramite ingrandimento su immagine	82
9.2	Conteggio automatico su Matlab.....	84
9.2.1	Calcolo della superficie occupata da microplastiche e fibre e loro quantificazione.....	84
9.3	Analisi tramite microscopia ottica.....	90
10	Discussione	97
10.1	Distribuzione del marine litter	97
10.2	Analisi dei risultati.....	98

10.2.1	Conteggio visivo tramite ingrandimento su immagine	98
10.2.2	Conteggio automatico su Matlab	104
11	Conclusioni	108
	Bibliografia	111
	Sitografia.....	119
	Allegato I	120

1 Il Marine litter

1.1 Origine e composizione

Il termine “*Marine Litter*” definisce qualsiasi materiale solido scartato, smaltito o abbandonato in ambiente marino o costiero (UNEP, 2009). Si tratta di oggetti smarriti, oppure utilizzati e gettati deliberatamente in mare, nei fiumi o sulle spiagge; rifiuti trasportati a mare per azione di agenti atmosferici (pioggia, vento), tramite corsi d’acqua superficiali o all’interno dei fanghi di depurazione delle acque reflue (UNEP, 2005).

Il tasso di accumulo del marine litter varia ampiamente a seconda di diversi fattori quali la presenza di grossi centri urbani, la destinazione d’uso delle spiagge, lo svolgimento di attività marittime e l’influenza delle correnti marine. Pertanto, esso può derivare da sorgenti di terra o di mare.

Tra le fonti di inquinamento terrestri vi sono lo scorretto smaltimento dei rifiuti domestici, la gestione inadeguata dei rifiuti urbani, il mancato trattamento dei reflui urbani, lo smaltimento illecito di rifiuti industriali, la presenza di attività turistiche e ricreative lungo la costa.

In alcune aree più del 75% dei rifiuti annuali vengono prodotti durante la stagione estiva, quando i turisti generano in media il 10-15 % in più degli abitanti locali; anche se non tutti questi rifiuti raggiungono l’ambiente marino (Galgani *et al.*, 2011b). Si è stimato, però, che l’80% dei rifiuti che raggiungono mari e oceani abbiano origine da queste sorgenti (Allsopp, *et al.*, 2006).

Le sorgenti di mare, invece, sono lo scarico illecito o accidentale di rifiuti da imbarcazioni mercantili e di trasporto passeggeri, attività petrolifere di estrazione, allevamenti ittici e attività di pesca commerciale.

1.2 Il componente principale del marine litter: la plastica

I materiali plastici rappresentano il 95% del marine litter che si accumula lungo le coste, sulla superficie del mare, oppure sul fondo degli oceani: buste, attrezzatura da pesca e contenitori di cibi e bevande costituiscono l’80% dei detriti arenati sulle spiagge (Topçu *et al.*, 2013; Thiel *et al.*, 2013). La maggior parte di questi rifiuti necessita di centinaia di anni per degradarsi, mentre alcuni restano intatti (Barnes *et al.*, 2009). Altri materiali ampiamente presenti all’interno del marine litter sono lattine di alluminio, bottiglie di vetro, carta, fibre tessili (trasportate dagli scarichi idrici), gomma e polvere prodotta dall’erosione degli pneumatici sull’asfalto (Bergmann 2015, *Marine Anthropogenic litter*).

Oltre alle plastiche primarie, ovvero oggetti che raggiungono l'ambiente nello stato e nelle dimensioni in cui vengono prodotti, il marine litter comprende le plastiche secondarie, che hanno origine dalla frammentazione e dalla degradazione delle plastiche più grandi.

Ciò fa sì che i detriti più grandi siano una fonte indiretta ma consistente di microplastiche nell'ambiente marino, che vanno ad aggiungersi alle microplastiche primarie come, per esempio, le microsfele contenute nei cosmetici (scrub, creme, etc.), oppure i pellet utilizzati come materia prima dall'industria. In questi ultimi due casi le microplastiche vengono trasportate in ambiente marino dagli scarichi idrici, poiché hanno una dimensione troppo piccola per essere adeguatamente trattate e rimosse dagli impianti di depurazione delle acque reflue.

Uno studio condotto lungo le coste del Portogallo ha evidenziato che il 75% delle particelle plastiche rinvenute nei campioni di sabbia erano microplastiche, ovvero frammenti di dimensione inferiore a 5 mm (Martins J, Sobral P., 2011).



Figura 1. Rifiuti di plastica nell'oceano [Carmen Martínez Torrón, fonte: <https://www.ecowatch.com>].

1.3 Normativa europea per la prevenzione del Marine Litter: MSFD 2008

Sul piano normativo sono molteplici le iniziative prese dall'Unione Europea per contrastare il fenomeno del marine litter: la più importante tra queste è la Direttiva 2008/56/CE, ovvero

la Direttiva Quadro sulla Strategia per l'Ambiente Marino (*MSFD, Marine Strategy Framework Directive*), recepita in Italia con il D.Lgs. 190 del 13 ottobre 2010.

Questa direttiva rappresenta il pilastro ambientale della Politica Marittima Integrata (PMI) dell'UE, che costituisce un programma olistico a tutte le politiche marittime europee, promotore di uno sviluppo sostenibile attraverso l'adozione di strumenti trasversali (<https://www.europarl.europa.eu/portal/it>).

La Direttiva per la Strategia Marina, in particolare, promuove l'adozione di strategie complesse e obiettivi comuni all'UE per la prevenzione, protezione e conservazione dell'ambiente marino dalle pressioni e dagli impatti ambientali delle attività antropiche dannose, pur consentendone un uso sostenibile secondo un approccio ecosistemico.

L'obiettivo è il raggiungimento del Buono Stato Ambientale (*Good Environmental Status- GES*):

“Per buono stato ambientale delle acque marine si intende la capacità di preservare la diversità ecologica, la vitalità dei mari e degli oceani affinché siano puliti, sani e produttivi mantenendo l'utilizzo dell'ambiente marino ad un livello sostenibile e salvaguardando il potenziale per gli usi e le attività delle generazioni presenti e future.” [Art. 3, MSFD-2008/56/CE]

Ogni Stato membro deve adottare un piano di misure concrete per il raggiungimento e la conservazione del GES, sulla base di 11 descrittori che definiscono gli obiettivi di qualità in riferimento a diversi target. Il Marine Litter è indicato come **descrittore numero 10**, secondo cui *“le proprietà e le quantità di rifiuti marini non provocano danni all'ambiente costiero e marino”* (Tabella 1-Allegato I, Direttiva 2008/56/EC). In particolare, la norma chiede di monitorare la quantità di rifiuti spiaggiati o depositatesi lungo la riva; i rifiuti in mare, che galleggiano in superficie o che si sono depositati sul fondo; e la quantità di microparticelle, soprattutto di microplastiche. In ciascuno di questi casi la norma prevede un'analisi della composizione, della distribuzione spaziale e, ove possibile, della fonte di inquinamento (*EU Commission Decision, 2010*).

Tutti i descrittori individuati dalla direttiva sono elencati in Tabella 1: tra essi vi sono la biodiversità, le popolazioni di tutti i pesci, gli elementi della rete trofica marina e l'integrità del fondo marino.

La direttiva si applica ad ogni regione o sotto-regione marina, per le quali lo Stato di appartenenza deve intraprendere una strategia che consta delle seguenti fasi:

- valutazione iniziale dello Stato Ambientale delle acque marine e dell'impatto delle attività antropiche sull'ambiente marino (art. 8);
- determinazione dei requisiti del Buono Stato Ambientale (art.9);
- definizione dei Traguardi ambientali, relativi ai progressi nel processo di conseguimento del buono stato ambientale (art. 10);
- elaborazione dei programmi di Monitoraggio, finalizzati a valutare in modo continuo lo stato dell'ambiente marino (art.11);
- elaborazione dei programmi di Misure per il conseguimento e il mantenimento del buono stato ambientale.

Questo processo si ripete ciclicamente ogni 6 anni per tutte le aree individuate dalla direttiva, che ha definito la suddivisione delle acque marine europee in 4 regioni: Mar Baltico, Oceano Atlantico nordorientale, Mar Mediterraneo e Mar Nero, e per alcune di queste ha provveduto ad un'ulteriore suddivisione individuando delle sotto-regioni. Nel Mediterraneo sono state individuate tre sotto-regioni: il Mediterraneo occidentale, il mar Adriatico e il mar Ionio-Mediterraneo centrale. Le acque italiane appartengono a tutte e tre le sotto-regioni (<http://www.strategiamarina.isprambiente.it/>).

Tabella 1. Descrittori del Buono Stato Ambientale definiti dalla Direttiva per la Strategia Marina (2008/56/CE), <http://www.strategiamarina.isprambiente.it/>.

Descrittore 1	La biodiversità è mantenuta. La qualità e la presenza di habitat nonché la distribuzione e l'abbondanza delle specie sono in linea con le prevalenti condizioni fisiografiche, geografiche e climatiche.
Descrittore 2	Le specie non indigene introdotte dalle attività umane restano a livelli che non alterano negativamente gli ecosistemi.
Descrittore 3	Le popolazioni di tutti i pesci, molluschi e crostacei sfruttati a fini commerciali restano entro limiti biologicamente sicuri, presentando una ripartizione della popolazione per età e dimensioni indicativa della buona salute dello stock.
Descrittore 4	Tutti gli elementi della rete trofica marina, nella misura in cui siano noti, sono presenti con normale abbondanza e diversità e con livelli in grado di assicurare l'abbondanza a lungo termine delle specie e la conservazione della loro piena capacità riproduttiva.

Descrittore 5	È ridotta al minimo l'eutrofizzazione di origine umana, in particolare i suoi effetti negativi, come perdite di biodiversità, degrado dell'ecosistema, fioriture algali nocive e carenza di ossigeno nelle acque di fondo.
Descrittore 6	L'integrità del fondo marino è ad un livello tale da garantire che la struttura e le funzioni degli ecosistemi siano salvaguardate e gli ecosistemi bentonici, in particolare, non abbiano subito effetti negativi.
Descrittore 7	La modifica permanente delle condizioni idrografiche non influisce negativamente sugli ecosistemi marini.
Descrittore 8	Le concentrazioni dei contaminanti presentano livelli che non danno origine a effetti inquinanti.
Descrittore 9	I contaminanti presenti nei pesci e in altri prodotti della pesca in mare destinati al consumo umano non eccedono i livelli stabiliti dalla legislazione comunitaria o da altre norme pertinenti.
Descrittore 10	<i>Le proprietà e le quantità di rifiuti marini non provocano danni all'ambiente costiero e marino.</i>
Descrittore 11	L'introduzione di energia, comprese le fonti sonore sottomarine, è a livelli che non hanno effetti negativi sull'ambiente marino.

Le attività di monitoraggio stipulate dal MATTM (Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare) con le Arpa capofila prevedono 9 moduli, tra cui analisi delle microplastiche (modulo 2) e rifiuti spiaggiati (modulo 4). I dati del monitoraggio, raccolti ed elaborati dalle singole Arpa per le sotto-regioni, devono essere trasmessi da parte dell'Arpa Capofila ad ISPRA, mediante caricamento sul SIC (Sistema Informativo Centralizzato), gestito da ISPRA per conto del Ministero (MATTM).

2 La plastica

2.1 Composizione e tipologie di polimeri

Il termine *plastica* indica una vasta categoria di materiali sintetici o semisintetici, derivanti dalla polimerizzazione di materie prime organiche ed inorganiche, quali silicio, carbonio, ossigeno e cloruri (*Shah et al., 2008*), estratti dal petrolio o da gas naturali (*Thompson et al., 2009*).

I polimeri sono composti chimici dal peso molecolare elevato, caratterizzati da una struttura atomica complessa e concatenata: possono essere costituiti da unità ripetitive identiche (omopolimeri) oppure da diverse sottounità (copolimeri).

Il termine “polimero” deriva dal greco *πολυ* «poli» e *μέρος* «parte» e significa “che ha molte parti”. Un polimero, infatti, è ottenuto dal processo di polimerizzazione di singoli monomeri (Figura 2), cioè piccole molecole che hanno la capacità di legarsi reciprocamente originando lunghe catene di atomi.

Il polietilene, ad esempio, è costituito da una catena di sole molecole di etilene ed è pertanto un omopolimero, come mostra Figura 3. Invece i polimeri che sono formati da monomeri diversi sono detti copolimeri e hanno una struttura molecolare più complessa (Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017).

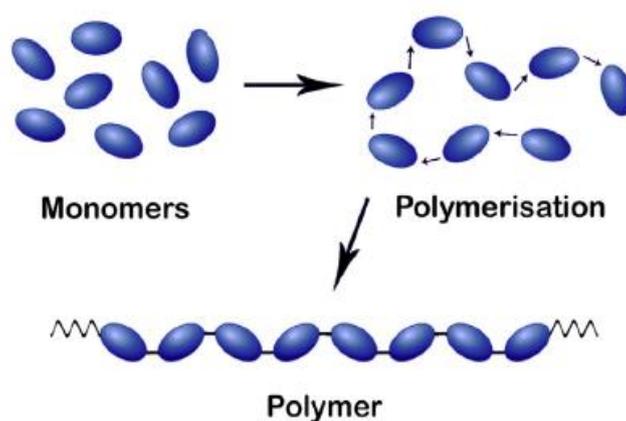


Figura 2. Processo di formazione dei polimeri, a partire da piccole unità molecolari (monomeri) che si polimerizzano in una sequenza ripetitiva di atomi, formando una macromolecola a catena [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

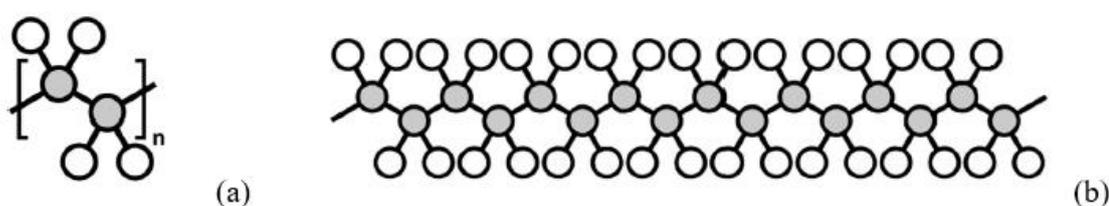


Figura 3. (a) Struttura molecolare dell’etilene (monomero), (b) struttura molecolare del polietilene (polimero) [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

La stragrande maggioranza dei polimeri plastici ha origine da idrocarburi derivanti da fonti fossili (petrolio greggio, gas naturale e carbone), ovvero composti organici che contengono unicamente atomi di carbonio e idrogeno. Gli idrocarburi vengono lavorati con un processo

industriale a più fasi, dove, mediante l'aggiunta di additivi e plasticizzanti, ottengono le proprietà chimico-fisiche specifiche alla destinazione d'uso finale.

Di conseguenza, esistono moltissime tipologie di polimeri che si distinguono per densità e resistenza. La trasformazione industriale che subiscono i polimeri sintetici è il fattore che li differenzia dai polimeri naturali (come la gomma, la cellulosa e le proteine): questi derivano da un processo di polimerizzazione avente luogo in natura, che non altera la struttura chimica della sostanza originaria.

La Norma UNI EN ISO 1043-1:2016, emessa da Uniplast (Ente Italiano di Unificazione nelle Materie Plastiche), recepisce lo standard internazionale EN ISO 1043-1:2011 e definisce i termini abbreviati per i polimeri di base. A ciascun polimero è associata una sigla che ne identifica in modo univoco il nome, la struttura molecolare e le proprietà (Figura 4).

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

Figura 4. Nomenclatura e sigla delle principali tipologie di polimeri di base [Normativa ISO 1043-1, 2011].

Nel 1988 l'organizzazione statunitense "Society of Plastic Industry" (SPI), ridenominata nel 2016 come "Plastic Industry Association", ha definito la codifica standard internazionale delle principali tipologie di polimeri ai fini del riciclo. Si tratta di 7 codici

che vengono incisi sul fondo di ogni prodotto in plastica immesso in commercio: i codici dal numero 1 al numero 6 identificano con precisione sei ampie classi polimeriche; il codice numero 7 fa riferimento a tutti i tipi di polimeri che non rientrano nei codici precedenti.

I simboli delle classi cui oggi si fa riferimento a livello internazionale sono quelli definiti nel 2013 da ASTM International (Figura 5), un organismo di normazione statunitense che sviluppa e pubblica standard tecnici di consenso volontario per un'ampia gamma di materiali, prodotti, sistemi e servizi. Come mostra la figura seguente, la grafica precedentemente adottata dalla SPI era equivocabile, poiché rimandava al tradizionale simbolo del riciclo, creando confusione sia per le industrie che accettavano solo materie plastiche riciclabili, sia per i consumatori (Crawford & Quinn, 2017).

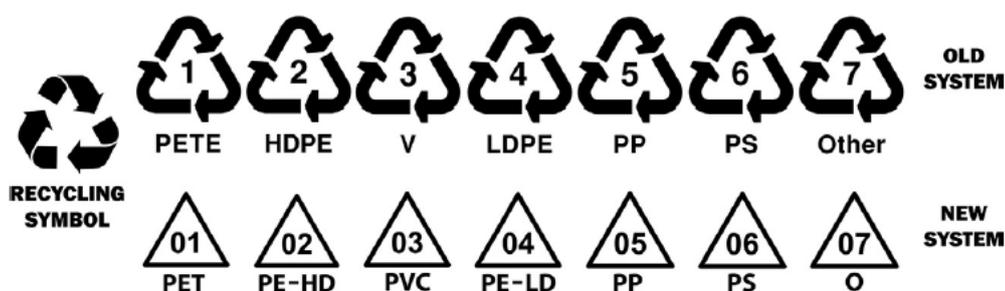


Figura 5 Confronto tra il vecchio sistema di identificazione delle tipologie di plastica (Old system, Society of Plastics Industry) e quello attualmente riconosciuto (New system, ASTM International) [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

2.2 Proprietà

La resistenza meccanica delle plastiche dipende dal loro elevato peso molecolare: i processi di degradazione cui esse sono esposte in ambiente marino alterano la struttura chimica del polimero, riducendolo drasticamente. Essendo le plastiche ottenute da una miscela di uno o più polimeri con l'aggiunta di additivi, i processi di degradazione variano in funzione della composizione chimica.

Le miscele principali sono composte da:

- polimeri termoplastici
- polimeri termoindurenti
- elastomeri

I materiali termoplastici derivano da polimeri amorfi o parzialmente cristallini e sono costituiti da macromolecole lineari o ramificate. Sono estremamente sensibili al calore: ad

elevate temperature acquisiscono malleabilità fino a fondere, mentre raffreddandosi si solidificano. Sono termoplastici il polietilene (PE), il polistirene (PS), il policloruro di vinile (PVC) e prodotti tecno-plastici come la poliammide (PA).

I materiali termoindurenti (come resine, poliuretani e poliesteri), al contrario, hanno una buona resistenza alle alte temperature: il calore ne modifica lievemente il comportamento meccanico, poiché si induriscono fino a raggiungere uno stato rigido, perdendo la capacità di deformarsi in modo plastico.

Il passaggio da stato plastico a stato rigido, indotto dal riscaldamento, è dovuto a trasformazioni chimiche con conseguente formazione di legami covalenti tra le molecole. Infine, gli elastomeri (come gomma ed ebanite) sono caratterizzati da un'elevata deformabilità in un ampio range di temperature: una volta cessato lo sforzo che li sollecita, essi riacquisiscono la conformazione e dimensioni originarie.

2.3 Classificazione dimensionale

Un metodo più semplificato per classificare le plastiche si basa sulla misura della dimensione prevalente. Una classificazione ampiamente condivisa in letteratura distingue tra:

- macroplastiche (≥ 25 mm)
- mesoplastiche (<25mm – 5mm)
- microplastiche (<5mm – 1mm)
- mini-microplastiche (<1 mm – 1 μ m)
- nanoplastiche (<1 μ m)

Per quanto riguarda le microplastiche, nonostante esse siano oggetto di studi scientifici da diversi decenni, il dibattito sull'intervallo dimensionale caratteristico è ancora aperto. Il cut-off di 1 mm sul range delle microplastiche deriva dal fatto che molti studiosi hanno intuitivamente assunto che le particelle ingeribili dagli organismi viventi fossero al di sotto di questa soglia, appunto mini-microplastiche (*Crawford & Quinn, 2017*).

La classificazione dimensionale risulta efficace se si tratta di particelle regolari, identificate dalla misura del diametro se sono sferiche o dalla lunghezza della dimensione maggiore, se hanno una forma più lineare o stirata.

Nel caso di particelle di forma irregolare, la dimensione caratteristica dipende dal metodo di misurazione: i metodi più ricorrenti in letteratura sono l'ispezione visiva e la setacciatura, talvolta usati insieme (ovvero la separazione con i setacci seguita dall'analisi visiva, solo su alcune classi granulometriche) (*Filella, 2015*).

2.3.1 Intervallo dimensionale caratteristico delle microplastiche

Le fonti bibliografiche forniscono valori discordanti circa la misura massima della dimensione d prevalente, quale estremo superiore dell'intervallo dimensionale.

Di seguito sono elencati alcuni esempi:

- $d < 10$ mm (*Graham and Thompson, 2009*)
- $d < 5$ mm (*Barnes et al., 2009; Arthur et al., 2009*)
- $d < 2$ mm (*Ryan et al., 2009*)
- $d < 1$ mm (*Browne et al., 2007; Claessens and Janssen, 2011*)
- $d < 500$ μm (*Cole et al., 2011*).

Questa incoerenza risulta problematica quando si confrontano studi diversi, rendendo evidente la necessità di creare uno standard scientifico universale.

La definizione di una classe dimensionale univoca per le microplastiche è stata discussa, per la prima volta, al workshop di ricerca internazionale ospitato dal NOAA nel 2008, riguardante la presenza, gli effetti e il destino delle microplastiche come inquinanti in ambiente marino.

Il NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) è un'agenzia federale statunitense, il cui compito è quello di monitorare le condizioni dell'atmosfera e degli oceani a fini scientifici. Il valore di 5 mm proposto in tale occasione, come estremo superiore dell'intervallo dimensionale, è ad oggi condiviso dalla maggior parte degli autori. Al contrario, l'estremo inferiore del range dimensionale non è ancora definito. Ciò dipende dal fatto che la dimensione minima delle plastiche campionate è fortemente legata al metodo di campionamento, e quindi alla matrice ambientale in esame.

Per esempio, nell'analisi di microplastiche nelle acque marine superficiali il limite inferiore è fissato dalla dimensione caratteristica dello strumento di prelievo. I campionatori più utilizzati sono le reti di tipo a manta o catamarano, a seconda della profondità di campionamento e delle condizioni idrodinamiche della superficie libera: la maglia della rete ha apertura tipica tra 53 μm e 3 mm, ma la misura più ricorrente nelle indagini scientifiche è 333 μm .

La scelta del tipo di rete e della luce delle sue aperture deve essere un compromesso tra una dimensione abbastanza piccola da trattenere le microplastiche, ma non troppo piccola tale da causare un rapido intasamento della rete (*Crawford & Quinn, 2017*).

Analogamente, la dimensione minima di campionamento non è univoca neanche nell'analisi dei sedimenti marini, poiché anche eseguendo sui campioni di sabbia uno step

finale di filtrazione, la dimensione dei pori del filtro è molto più piccola di quella delle particelle effettivamente visibili e riconoscibili (Filella, 2015). La scelta della procedura di campionamento dipende dallo scopo dello studio (qualitativo o quantitativo), e quindi dall'unità di misura con cui si intende esprimere i risultati.

Alcuni autori (Duis et al., 2016; Cauwenberghe et al., 2015) focalizzano l'attenzione sulle microplastiche nell'intervallo 5mm-1 mm, escludendo le mini-microplastiche (< 1mm fino a 1 µm): è il caso di indagini su sedimenti costieri analizzati tramite identificazione visiva e campionamento manuale.

Questo approccio, però, produce una sottostima dei risultati circa le concentrazioni di microplastiche in ambiente marino, dove si è constatato che il 35-90% siano mini-microplastiche (Song et al., 2014; Zhao et al., 2014).

Un altro studio (Andrady, A. L., 2011) distingue tra mesoplastiche (5mm-500µm), microplastiche (500µm-50µm) e nanoplastiche (< 50µm), in base alle proprietà fisiche di ogni classe e al relativo impatto biologico.

Il "Technical Subgroup on Marine Litter", gruppo di ricerca dell'Unione Europea istituito nell'ambito della Direttiva Quadro sulla Strategia Marina (MSFD, Marine Strategy Framework Directive 2008, par. 1.3), suggerisce una suddivisione e terminologia basate sulla riconoscibilità dei frammenti di plastica ad occhio nudo in (MSFD, *Guidance on monitoring of marine litter in European seas. 2013*):

- frazione visibile (>1 mm): macroplastiche (>25 mm), mesoplastiche (25-5 mm), grandi microplastiche (5-1 mm);
- frazione invisibile (< 1 mm): piccole microplastiche.

Nel 2019 la distinzione in grandi (>100 µm) e piccole microplastiche (< 100 µm) è stata ripresa da ECHA (Agenzia Europea per le Sostanze Chimiche), che definisce *microplastica* quella "particella o fibra contenente polimeri solidi, cui possono essere aggiunti additivi o altre sostanze, individuabile all'interno del range dimensionale $1\text{nm} \leq d \leq 5\text{mm}$; ed anche tutte le fibre appartenenti al range $3\text{nm} \leq x \leq 15\text{mm}$, con rapporto lunghezza/diametro maggiore di 3" (ECHA, *Annual report 2019*).

In questo lavoro di tesi, si è focalizzata l'attenzione sulle particelle comprese tra 5 mm e 100 µm per motivi legati sia alla procedura di campionamento dei sedimenti marini, sia per il limite strumentale delle apparecchiature e dei metodi utilizzati.

I microscopi ottici, per esempio, hanno un sistema a diffrazione limitata la cui risoluzione, sia laterale che in profondità, dipende dalla capacità di ingrandimento della lente e dalla

lunghezza d'onda della luce incidente. Il microscopio utilizzato in questo studio per l'ispezione visiva delle particelle (par. 9.3) ha un limite strumentale caratteristico pari a 0.1 mm (100 μ m).

Inoltre, al di sotto questo valore non è possibile l'identificazione delle microplastiche neanche tramite analisi di immagine (par. 9).

2.4 Microplastiche primarie e secondarie

Le microplastiche che entrano a contatto con l'ambiente possono essere ulteriormente classificate in *microplastiche primarie* e *microplastiche secondarie*, in base alla loro destinazione d'uso originaria e alla sorgente di provenienza (Lee et al., 2013).

Le **microplastiche primarie** (Figura 6) sono plastiche fabbricate per essere di dimensioni microscopiche (*pellet o microbeads*) e possono avere un uso:

- indiretto, ovvero come materia prima in molteplici applicazioni industriali, quali la produzione delle polveri di plastica per lo stampaggio o di prodotti per la pulizia della casa; in attività di sabbiatura, dove vengono preferite alla sabbia naturale in quanto più resistenti; oppure si tratta di microplastiche prodotte per essere successivamente lavorate in manufatti di plastica più grandi, come i pellet di resina.
- diretto, ovvero in medicina come vettori per i farmaci e nell'industria cosmetica per la produzione di scrubber, esfolianti, detergenti per il viso, prodotti make-up e creme (Turner and Holmes, 2011).



Figura 6. Microplastiche primarie: esempio di pellet in resina prodotti a livello industriale [OCS Report 2019, PlasticsEurope].

Le **microplastiche secondarie**, invece, sono il risultato della frammentazione di oggetti di plastica più grandi oppure della degradazione che questi subiscono nell'ambiente, ad opera

di processi chimici e biologici (*Galgani et al. 2015; Koelmans et al., 2015*), che ne riducono l'integrità strutturale, non rendendole per questo biodegradabili.

Le microplastiche secondarie si configurano come particelle di plastica irregolari, che hanno origine dalla decomposizione di buste, imballaggi, bottiglie, e soprattutto da corde e reti da pesca (Figura 7).

Queste, dalle quali si stima abbia origine il 18% delle microplastiche in ambiente marino (*Andrady et al., 2011*), rilasciano grandi quantità di fibre sintetiche sia a causa dell'usura durante l'utilizzo, sia per effetto dei raggi solari UV e dell'azione delle onde, quando vengono perse o abbandonate in mare.



Figura 7. Degradazione di una corda da pesca in ambiente marino [*Crawford & Quinn, Microplastic pollutants, 2017*].

Un report del 2016 (Study to support the development of measures to combat a range of marine litter sources, *Sherrington et al.*) per la Commissione Europea ha stimato che l'Europa rilascia ogni anno negli oceani tra 80,042 e 218,662 tonnellate di microplastiche primarie, e tra 68,500 e 275,000 tonnellate di microplastiche secondarie.

3 Origine e forma delle microplastiche in ambiente marino

Le microplastiche in ambiente marino sono presenti ovunque, come anche in fiumi, laghi, suolo e persino nei ghiacciai (*Gall and Thompson, 2015; Klein et al., 2015; Yonkos et al., 2014*). Uno studio recente, ad esempio, evidenzia che le concentrazioni di microplastiche nei ghiacciai del Mar Glaciale Artico sono due ordini di grandezza superiori a quelle delle microplastiche presenti nelle acque superficiali (*Obbard et al., 2014*). Se si pensa al rapido

scioglimento delle calotte polari a causa del surriscaldamento globale, è evidente che anche i ghiacciai contribuiscono in modo significativo al rilascio di plastiche nei mari e negli oceani.

Le microplastiche maggiormente presenti in ambiente marino sono le fibre sintetiche dei capi di abbigliamento e le microsfele dei prodotti cosmetici (*Gallagher et al., 2016*). In entrambi i casi le principali fonti di rilascio sono scarichi industriali e scarichi urbani da civile abitazione. Infatti, un singolo indumento è in grado di rilasciare più di 2000 fibre plastiche in un solo ciclo di lavaggio (*Andrady, 2015*).

Le microparticelle contenute nei cosmetici, invece, sono andate a sostituire negli ultimi 40 anni sostanze più tradizionali quali la pietra pomice o i fiocchi d'avena, in virtù della loro azione più efficace, e al tempo stesso delicata, a contatto con la pelle. Il polietilene è molto usato in questo settore grazie alla sua superficie liscia rispetto ad altri materiali più abrasivi. Il risultato è che tutte queste particelle vengono lavate via in seguito all'utilizzo dei prodotti, finendo nei reflui urbani e successivamente in mare, in quanto gli impianti di trattamento delle acque reflue non sono progettati per trattenere e rimuovere particelle di dimensioni microscopiche.

Figura 8 e Figura 9 mostrano esempi di microplastiche primarie e secondarie ritrovate in ambiente marino.



Figura 8. Microplastiche primarie raccolte in ambiente marino [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].



Figura 9. Microplastiche secondarie raccolte in ambiente marino [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

In Figura 10 sono illustrate le vie di contaminazione attraverso cui la plastica raggiunge l'ambiente marino e costiero, a partire da fonti terrestri, fluviali e marine.

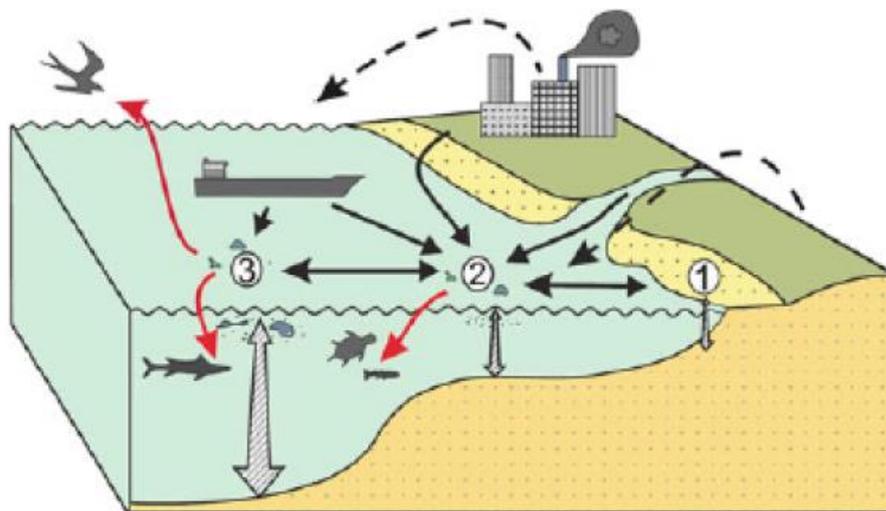


Figura 10. Principali sorgenti terrestri e marine della plastica verso l'ambiente marino e costiero [Ryan et al., 2009].

- I numeri (1), (2) e (3) indicano rispettivamente i detriti di plastica accumulatisi sulle spiagge, quelli che galleggiano in acque costiere e quelli che raggiungono il mare aperto;
- le frecce nere tratteggiate individuano le microplastiche da fonti terrestri, che sono trasportate dal vento (polveri da abrasione del manto stradale, polveri di pneumatici o emissioni industriali);
- le frecce nere continue i detriti di origine marina (da traffico navale), fluviale (per trasporto nei corpi idrici superficiali), o terrestre (come rifiuti intenzionalmente abbandonati o mal gestiti in fase di smaltimento);
- le frecce rosse indicano la potenziale interazione con gli ecosistemi, attraverso l'ingestione da parte di volatili, pesci e organismi marini;
- le frecce grigie rappresentano la traiettoria delle plastiche che si depositano sul fondo, in quanto caratterizzate da una densità maggiore di quella dell'acqua di mare.

La plastica è presente in ambiente marino in moltissime forme e dimensioni (Figura 11). La forma delle microplastiche può dare informazioni in merito alla loro origine, al percorso e alla diffusione nell'ambiente costiero.

In letteratura, la denominazione delle microplastiche in base alla forma distingue tra (E. Hendrickson et al, 2018):

- *sphere, pellet e bead*: detriti di forma pseudosferica;
- *fragment*: particelle irregolari, o porzioni di plastica dura e frammentata dal contorno indefinito;
- *film*: microplastiche lamellari e di forma planare;
- *foam*: particelle morbide, di forma più o meno sferoidale;
- *fibrous bundle*: fibre e filamenti sottili (per esempio quelli derivanti dalle reti da pesca).

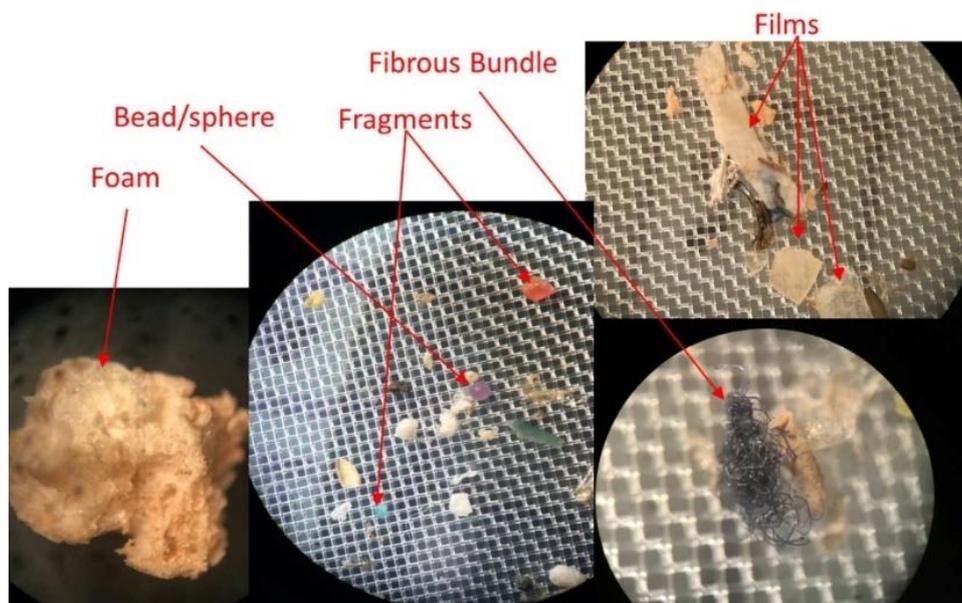


Figura 11. Esempi di microplastiche in ambiente marino [E. Hendrickson, E. Minor, K. Schreiner, 2018].

In Figura 12 è illustrata la classificazione delle microplastiche secondo il sistema SCS (Standardised Size and Colour Sorting System) applicabile per l'identificazione delle microplastiche in base alle dimensioni e alla forma, proposto da Crawford & Quinn 2017.

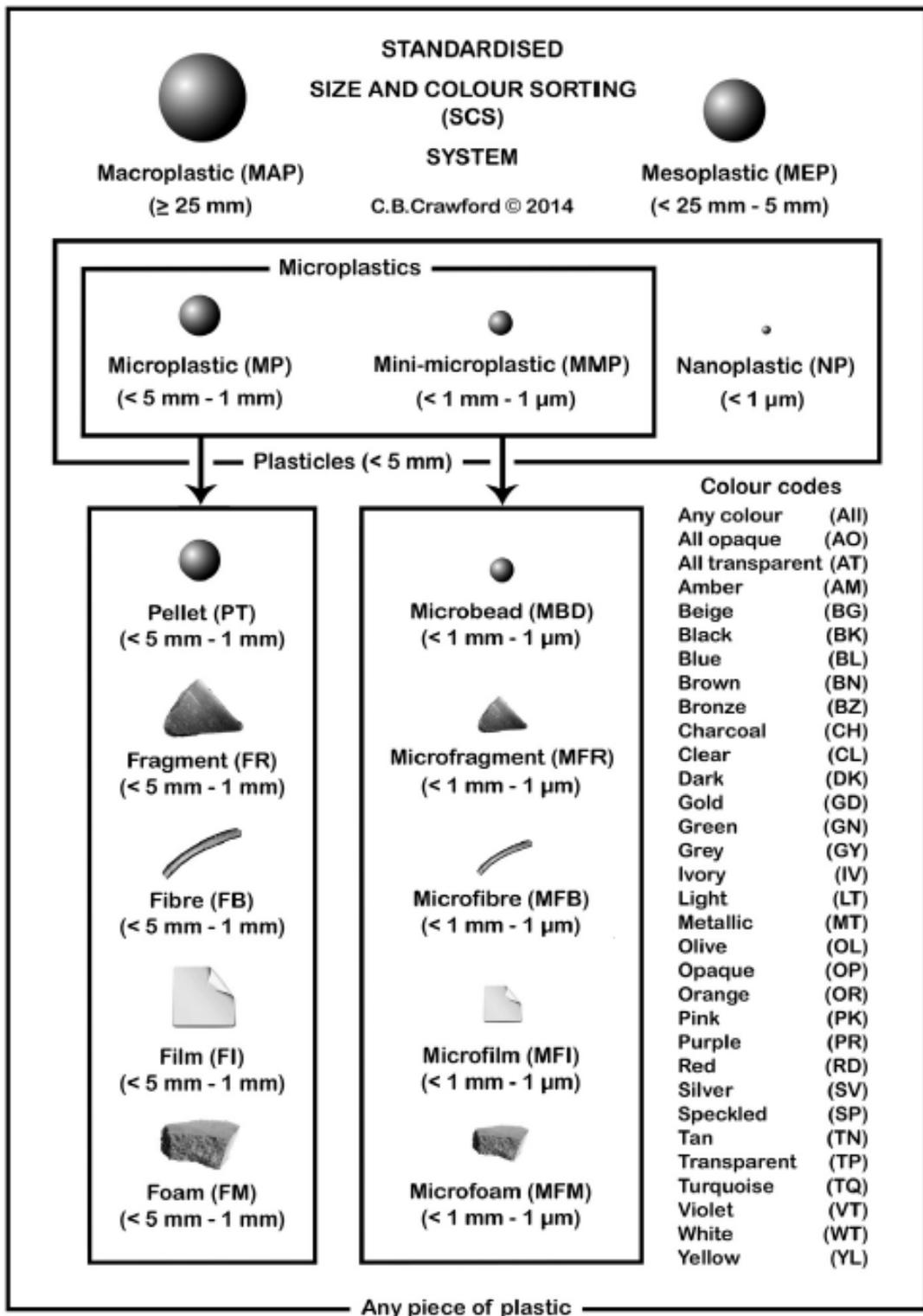


Figura 12. Sistema di classificazione delle microplastiche per dimensione, forma e apparenza [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

3.1 Processi di degradazione

La capacità di persistere nell'ambiente è il motivo per cui le materie plastiche sono considerate una grave minaccia per gli ecosistemi marini. Il tempo di decadimento degli oggetti in plastica nell'ambiente marino è stato stimato tra le centinaia e le migliaia di anni (*Barnes et al., 2009*).

Plastiche come PE, PP, PS, PVC e PET, costituite da polimeri a media e alta densità, sono le più utilizzate ed altamente persistenti (*Andrady et al., 2011*).

La degradazione delle materie plastiche dipende dal polimero costituente e dall'eventuale presenza di additivi, aggiunti in fase di lavorazione industriale: è un processo lento e complesso, che varia a seconda della matrice ambientale in cui la plastica lo subisce. La colonizzazione degli oggetti in plastica da parte di microorganismi, alghe e invertebrati funge da scudo nei confronti di agenti esterni, ritardandone quindi la decomposizione.

Andrady (2011) definisce il processo di degradazione come una trasformazione che riduce drasticamente il peso molecolare medio del polimero, diminuendone la resistenza meccanica. Di conseguenza, le plastiche degradate col passare del tempo diventano fragili e si sfaldano in frammenti microscopici.

Lo stesso studio distingue i processi di degradazione della plastica in ambiente marino in:

- a) *fitodegradazione*, per effetto dell'esposizione alla luce solare;
- b) *biodegradazione*, da parte di microrganismi;
- c) *degradazione termo-ossidativa*, per effetto dell'esposizione a temperature moderate;
- d) *degradazione termica*, per effetto dell'esposizione a temperature elevate;
- e) *idrolisi*: per effetto della reazione con l'acqua.

La *fitodegradazione*, o degradazione foto-ossidativa, è la principale causa di degrado dei materiali plastici nell'ambiente, soprattutto sulle spiagge.

È una reazione a radicali liberi prodotta dalle radiazioni solari ultraviolette ad alta energia UV-B ($\lambda = 290-315$ nm) e a media energia UV-A ($\lambda = 315-400$ nm), in presenza di ossigeno (*Andrady et al., 1996*).

Non è la catena polimerica ad assorbire la luce UV, ma additivi e pigmenti aggiunti in fase di lavorazione industriale, come anche impurità accumulate sulla superficie nel tempo.

Il tasso di degradazione è maggiore a temperature ambientali elevate: le plastiche sulla sabbia esposta al sole subiscono un processo di foto-ossidazione significativamente più veloce di quelle che galleggiano sull'acqua. Analogamente, le plastiche di colore scuro

tendono ad assorbire più energia infrarossa nello spettro solare, raggiungendo temperature più alte. La disponibilità della luce solare è limitata sia dagli eventi climatici e atmosferici, che dalla presenza di bio-incrostazioni sulla superficie (Andrady et al., 2015).

La *biodegradazione* è la decomposizione per effetto di batteri, funghi e microbi che possono operare in condizioni aerobiche o anaerobiche. È un processo lento che interessa più le plastiche in ambiente acquatico, rapidamente colonizzate da questi microrganismi, che non quelle sulla spiaggia.

La *degradazione termo-ossidativa* è una reazione di ossidazione lenta che si verifica a temperature modeste; pertanto, risulta efficace sulle plastiche galleggianti o sulle spiagge (Cooper et al., 2010). Questo tipo di degradazione inizia con la foto-ossidazione e procede, anche in assenza di radiazione solare UV, fino a quando vi è disponibilità di ossigeno. La reazione avviene più velocemente nei pellet che, a differenza di altri materiali in plastica, non contengono stabilizzanti UV. Il risultato è la comparsa di microfessurazioni superficiali e perdita di colore.

La *degradazione termica*, invece, consiste nella scissione molecolare causata dal surriscaldamento.

A temperature elevate i componenti della catena del polimero iniziano a separarsi e a reagire tra loro, modificando le proprietà fisiche e ottiche del materiale, con conseguenti sfarinamento, variazione di colore, ridotta duttilità, screpolature e riduzione del peso molecolare.

I prodotti in plastica generalmente contengono antiossidanti per contrastare la degradazione termica; tuttavia, ogni 10°C di aumento della temperatura ambiente la velocità di reazione raddoppia.

L'*idrolisi* determina la rottura della catena polimerica, come accade con la degradazione termica, in modo molto più lento. La struttura del materiale si indebolisce per effetto della reazione con l'acqua, che può essere catalizzata da acidi, basi o enzimi. Inoltre, l'idrolisi non si limita alla superficie del materiale plastico, in quanto l'acqua può penetrare al suo interno attraverso microfessure.

Come i processi ossidativi, anche l'idrolisi modifica la proprietà meccaniche del materiale, rendendolo più fragile e favorendone la frammentazione in microplastiche e nanoplastiche.

Oltre a questi processi vi è la *degradazione meccanica* dovuta all'abrasione di oggetti di plastica grossolani e alla loro frammentazione in pezzetti più piccoli, a causa dell'attrito

con sabbia e pietre, dell'azione del vento oppure delle onde. Si tratta, quindi, di un processo fisico e non chimico, come nel caso precedente.

In Figura 13 sono illustrati i processi di degradazione cui è soggetta la plastica in ambiente acquatico.

La frammentazione meccanica, la fotodegradazione, la degradazione termica e quella termo-ossidativa sono, invece, quelli di maggiore interesse per le plastiche contenute nel "beach litter", ovvero nel marine litter accumulatosi sulle spiagge.

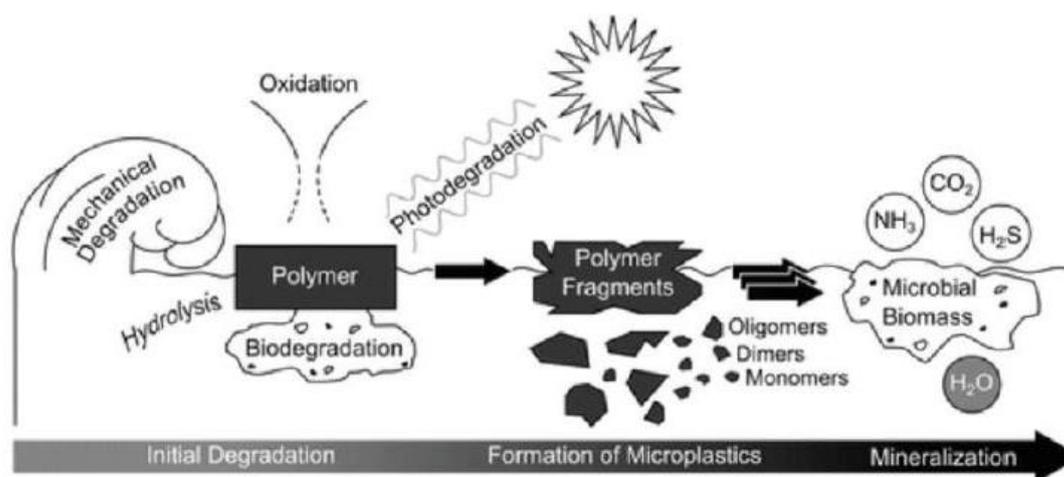


Figura 13. Processi di degradazione dei polimeri sintetici nell'ambiente acquatico e fasi intermedie fino alla completa mineralizzazione [Sasha et al., 2017].

3.2 Densità

La densità delle microplastiche varia sensibilmente a seconda della composizione polimerica e non solo: il polimero principale è nella maggior parte dei casi miscelato con fibra di vetro e altri materiali, che fungono da plasticizzanti. Il risultato è un incremento di densità.

Al contrario, nei processi che prevedono l'espansione chimico-fisica del polimero, la densità diminuisce: ne è un esempio il poliuretano, che è molto utilizzato come isolante termico nel settore edile sotto forma di schiuma poliuretanic.

In Tabella 2 sono elencati i valori di densità delle plastiche più diffuse (Crawford & Quinn, 2017).

Le plastiche maggiormente presenti in ambiente marino sono polietilene, polipropilene, polistirene, polietilene tereftalato e cloruro di polivinile (Rocha-Santos T. et al., 2015). Il polietilene (0.92-0.97 g/cm³), il polistirene (0.01-0.05 g/cm³) e il polipropilene (0.88-1.23

g/cm³) sono stati rinvenuti in concentrazioni più elevate degli altri e con una densità superiore a quella caratteristica, che ne influenza la distribuzione e la persistenza nell'ambiente.

Tabella 2. Densità delle plastiche più comunemente diffuse [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

PLASTICA	Abbreviazione	Densità (g/cm³)
Polystyrene (expanded foam)	EPS	0.01–0.05
Polystyrene (extruded foam)	XPS	0.03–0.05
Polychloroprene (neoprene) (foamed)	CR	0.11–0.56
Polypropylene (impact modified)	PP	0.88–0.91
Polypropylene (homopolymer)	PP	0.90–0.91
Polypropylene (copolymer)	PP	0.90–0.91
Low-density polyethylene	LDPE	0.92–0.94
Linear low-density polyethylene	LLDPE	0.92–0.95
High-density polyethylene	HDPE	0.94–0.97
Polypropylene (10–20% glass fibre)	PP	0.97–1.05
Polystyrene (crystal)	PS	1.04–1.05
Polystyrene (high heat)	PS	1.04–1.05
Acrylonitrile butadiene styrene (high impact)	ABS	1.00–1.10
Acrylonitrile butadiene styrene (high heat)	ABS	1.00–1.15
Nylon 6,6 (impact modified)	PA	1.05–1.10
Polypropylene (10–40% mineral filled)	PP	0.97–1.25
Polypropylene (10–40% talc)	PP	0.97–1.25
Acrylonitrile butadiene styrene	ABS	1.03–1.21
Nylon 6	PA	1.12–1.14
Nylon 6,6	PA	1.13–1.15
Poly(methyl methacrylate) (impact modified)	PMA	1.10–1.20
Polypropylene (30–40% glass fibre)	PP	1.10–1.23
Polycarbonate (high heat)	PC	1.15–1.20
Acrylonitrile butadiene styrene (flame retardant)	ABS	1.15–1.20
Poly(methyl methacrylate)	PMA	1.17–1.20
Poly(methyl methacrylate) (high heat)	PMA	1.15–1.25
Polychloroprene (neoprene) (solid)	CR	1.20–1.24
Polyvinyl chloride (plasticised and filled)	PVC	1.15–1.35
Nylon 6,6 (impact modified and 15–30% glass fibre)	PA	1.25–1.35

Polyethylene terephthalate	PET	1.30–1.40
Nylon 6,6 (30% mineral filled)	PA	1.35–1.38
Nylon 6,6 (30% glass fibre)	PA	1.37–1.38
Polyvinyl chloride (rigid)	PVC	1.35–1.50
Polycarbonate (20–40% glass fibre)	PC	1.35–1.52
Polyethylene terephthalate (30% glass fibre and impact modified)	PET	1.40–1.50
Polystyrene (30% glass fibre)	PS	1.40–1.50
Polycarbonate (20–40% glass fibre and flame retardant)	PC	1.40–1.50
Polyvinyl chloride (20% glass fibre)	PVC	1.45–1.50
Polyvinyl chloride (plasticised)	PVC	1.30–1.70
Polyethylene terephthalate (30% glass fibre)	PET	1.50–1.60
Polytetrafluoroethylene	PTFE	2.10–2.20
Polytetrafluoroethylene (25% glass fibre)	PTFE	2.20–2.30

Negli ambienti acquatici (mari, oceani o corpi idrici superficiali), è evidente aspettarsi che la densità delle microplastiche determini l'altezza a cui queste si trovano rispetto alla colonna d'acqua: in condizioni di densità tipica, ciascuna particella galleggerà in superficie o si depositerà sul fondo a seconda che abbia una densità minore o maggiore di quella dell'acqua; ma è anche possibile che essa resti in sospensione se ha una densità pressoché uguale a quella del mezzo liquido.

Molte indagini scientifiche, tuttavia, hanno evidenziato la presenza di microplastiche più dense dell'acqua di mare (che ha densità tipica pari a 1.025-1.030 g/cm³) in campioni prelevati in superficie, contrariamente all'ipotesi che queste possano trovarsi esclusivamente nei sedimenti marini di fondo (*Crawford & Quinn, 2017*).

Ciò è dovuto a due fattori: il primo è il gradiente termico verticale nei corpi idrici, che produce il rimescolamento delle correnti lungo la colonna d'acqua, favorendo la risalita del materiale più pesante; il secondo è dovuto alla possibilità che si creino delle bolle d'aria all'interno della particella, che ne aumentano la forza di galleggiamento portandola in superficie (*Rochman et al., 2013*).

Questo chiaramente influenza la deposizione e la distribuzione delle microplastiche pesanti che si ritrovano nei sedimenti sulle spiagge, trasportate dalle correnti e dal vento.

Al contrario, i fattori che producono un aumento di densità, favorendo l'affondamento di plastiche normalmente leggere, sono i fenomeni di *weathering* e *biofouling*.

Il primo indica l'alterazione e la decomposizione delle plastiche sotto l'effetto degli agenti atmosferici e può essere di tipo:

- fisico, come quello prodotto dall'erosione del vento o delle onde oppure dall'attrito dovuto al contatto con i sedimenti;
- chimico, se causato dalla reazione con l'acqua o dai raggi solari ultravioletti;
- biologico, se dovuto all'azione di microorganismi.

Le microplastiche accumulate nei sedimenti sono soggette a temperature più basse e a concentrazioni di ossigeno minori: esse, quindi, sono meno esposte alle alterazioni fisiche e alle radiazioni solari (par. 3.1) e presentano un tempo di persistenza nell'ambiente più lungo.

Il termine *biofouling*, invece, indica l'accumulo di biomassa sulla superficie delle microplastiche, in particolare microorganismi come batteri, funghi, alghe e plankton.

La presenza di fratture, abrasioni o cavità favorisce questo fenomeno, che incrementa non solo la densità delle particelle plastiche ma anche l'area superficiale e, quindi, la possibilità di contaminazione. Le microplastiche, infatti, sono soggette all'accumulo superficiale e all'adsorbimento di contaminanti tossici di origine antropica, presenti in ambiente marino. L'insieme di questi fattori modifica i valori minimo e massimo dell'intervallo di densità tipica delle plastiche, quindi occorre tenerne conto nelle analisi di campioni ambientali, che sono volte all'estrazione delle microplastiche, come spiegato più in seguito nel par. 7.3.3.

3.3 Le microplastiche nei sedimenti sabbiosi

Per quanto riguarda le microplastiche all'interno dei sedimenti sabbiosi sulle spiagge (Figura 10), l'apporto quantitativo preponderante arriva da fonti primarie quali:

- attività turistiche lungo la costa, che durante la stagione estiva può produrre un aumento della contaminazione da plastica di circa il 40%, rispetto alla media negli altri mesi dell'anno (*Galgani et al., 2013*);
- la vicinanza ad uno o più centri urbani, che incidono in misura proporzionale alla distanza dalla costa e al numero di abitanti;
- introduzione indiretta tramite deflusso (acque di dilavamento urbano, corpi idrici superficiali, scarichi civili).

La formazione di microplastiche secondarie sulle spiagge avviene principalmente a causa dell'erosione del vento e delle onde, oppure dell'esposizione alla luce solare che innesca processi fotochimici. Le microplastiche che subiscono tale processo sono caratterizzate

dalla formazione di crepe, microfessurazioni e perdita di colore. Al contrario, per le microplastiche che galleggiano in mare la fotodegradazione è meno significativa, sia a causa del contatto con l'acqua salata sia perché la temperatura e la concentrazione di ossigeno sono minori.

Nel 2010 la produzione mondiale di plastica primaria è stata superata, sebbene di poco, dalla produzione di rifiuti in plastica, che si è registrata intorno a 275 milioni di tonnellate, di cui 99,5 milioni sono stati annoverati come rifiuti in aree costiere. Ciò si spiega principalmente con il fatto che circa la metà della popolazione mondiale risiede entro 50 km dalla costa (Figura 14).

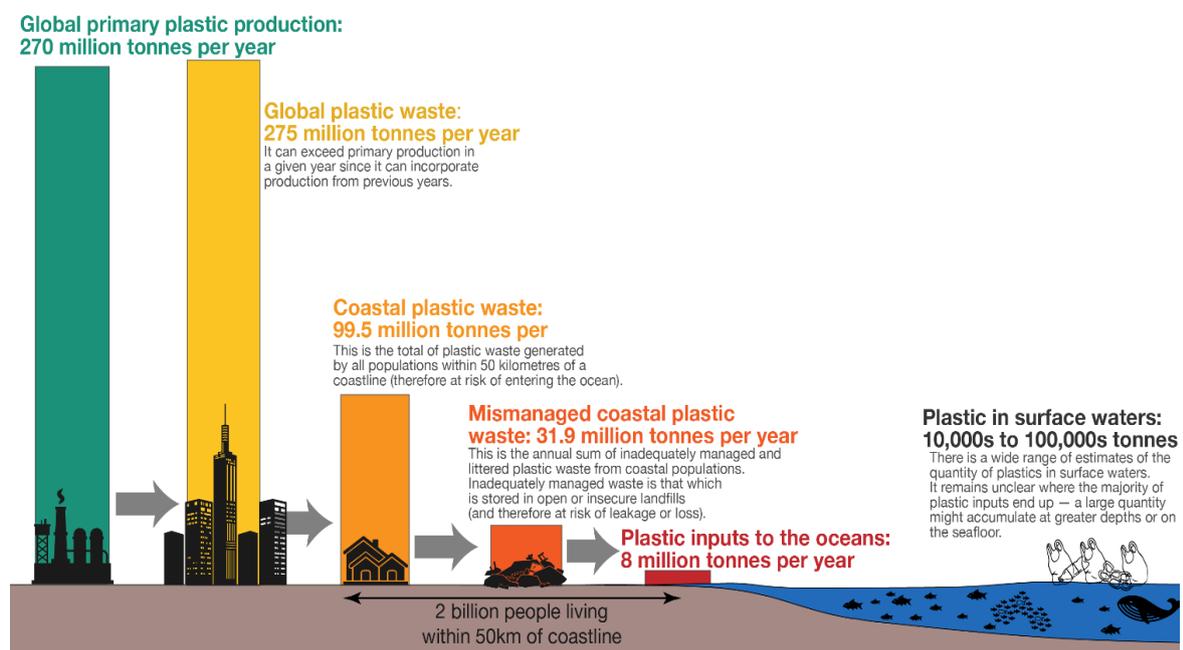


Figura 14. Stima (anno 2010) della plastica che entra negli oceani da fonti terrestri di produzione primaria [Jambeck et al., 2015, Eriksen et al., 2014].

Di questi è stato stimato che circa 32 milioni sono rifiuti in plastica non correttamente gestiti nelle discariche e, quindi, a rischio rilascio nel percolato: 8 milioni (ovvero il 3% della produzione di plastica complessiva di quell'anno) hanno raggiunto gli oceani e i mari. Le stime relative al 2010, pertanto, riferiscono un valore complessivo compreso tra 10.000 e 100.000 tonnellate di detriti plastici, che sono finiti in acque costiere. È evidente, dunque, che la quantità di detriti nelle acque oceaniche è di diversi ordini di grandezza inferiore a quella totalmente emessa: questa discrepanza è nota come “problema della plastica mancante”.

La plastica che entra nei sistemi fluviali direttamente o all'interno di effluenti delle acque reflue, o nei percolati di discarica, è trasportata verso il mare e finisce per accumularsi nei sedimenti.

In Figura 15 sono illustrati i dati, aggiornati al 2019, relativi ai rifiuti di plastica pro-capite non correttamente gestiti che raggiungono gli oceani: l'80 % deriva da più di 1000 corpi idrici superficiali. In particolare, la plastica che raggiunge annualmente i mari per deflusso superficiale è stata stimata tra 0.8 e 2.7 milioni di tonnellate (Lourens J.J Meijer et al., 2021).

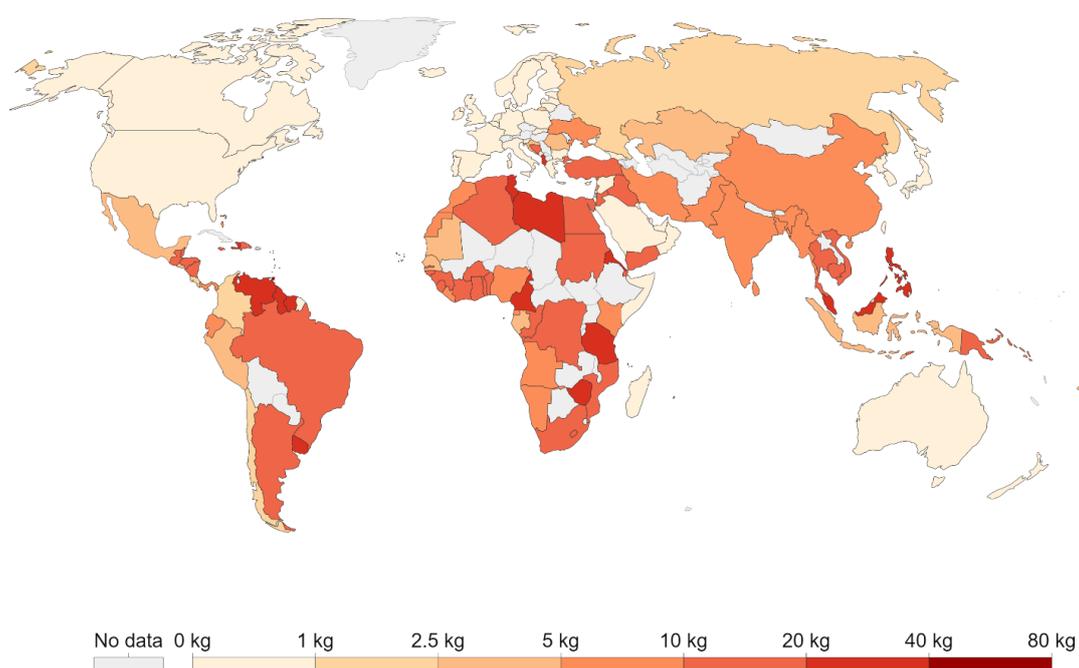


Figura 15. Plastica pro-capite emessa nei mari e negli oceani attraverso deflusso superficiale [Meyer et al., 2021, "More than 1000 rivers account for 80 % of global riverine plastic emissions into the ocean", Science Advance].

Come si vede, i quantitativi pro-capite maggiori sono relativi a paesi dell'Africa, dell'America del Sud e del Sud-Est asiatico. Una tale variabilità a livello globale di questo dato è dovuta, innanzitutto, alla densità demografica e alla distribuzione della popolazione sul territorio, che producono delle zone a più alto impatto nella produzione di rifiuti in plastica. Ma essa è legata anche a fattori antropici come l'uso del territorio, l'efficacia dei sistemi di smaltimento dei rifiuti solidi e degli impianti di depurazione delle acque. Questi elementi, insieme a fattori naturali come la pendenza del suolo, la presenza di grossi bacini idrografici in zone ad alta densità abitativa e l'influenza locale di agenti atmosferici (vento e precipitazioni), aumentano la probabilità di emissione della plastica nei mari e negli oceani, tramite deflusso superficiale.

In particolare, le piogge e il vento sono considerati come forze mobilizzanti i rifiuti che entrano a contatto con l'ambiente; l'uso del suolo e la pendenza del terreno ne determinano la possibilità di entrare nei corsi d'acqua, mentre la distanza dalla costa del luogo di produzione dei rifiuti influisce sulla possibilità di raggiungere gli oceani (Lourens J.J Meijer at al., 2021).

Figura 16 richiama la mappa precedente, specificando i valori di plastica pro-capite (kg) per alcuni Paesi: è evidente la differenza tra i paesi sud-americani, africani e asiatici, rispetto a Regno Unito, Stati Uniti e Giappone.

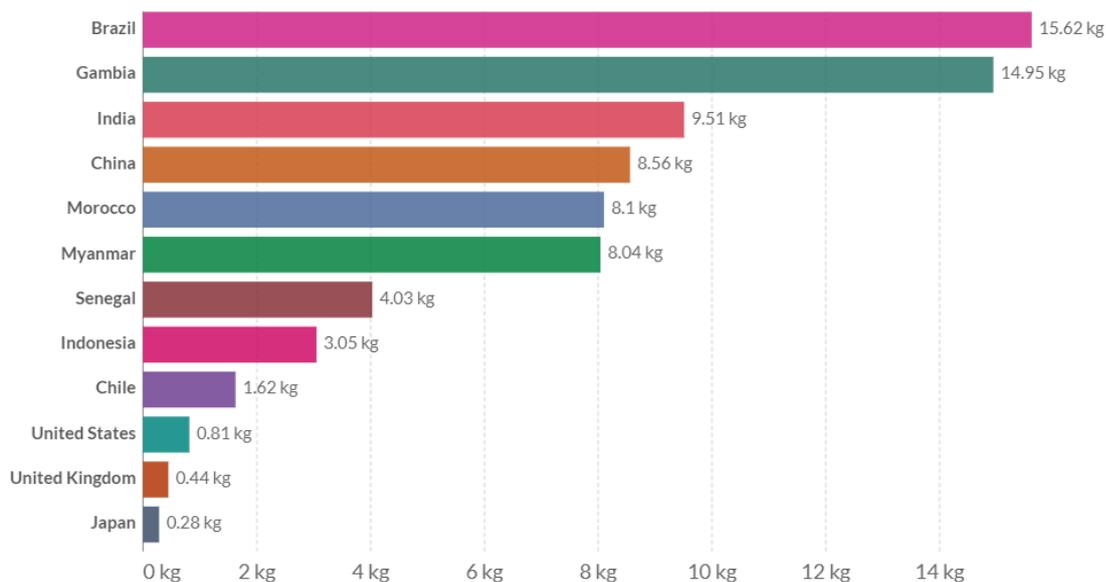


Figura 16. Produzione di plastica pro-capite emessa in mari e oceani attraverso deflusso superficiale [Meyer et al., 2021, "More than 1000 rivers account for 80 % of global riverine plastic emissions into the ocean" Science Advance].

4 Fibre tessili naturali ed estruse

La fibra tessile è un materiale filamentoso, caratterizzato da una struttura e da proprietà meccaniche e chimico-fisiche tali da consentirne la trasformazione in filato (Figura 17) e successivamente in tessuto.



Figura 17. Filato ottenuto dalla lavorazione di fibre tessili [fonte: AFIL, Associazione Fabbrica Intelligente Lombardia].

Infatti, la morfologia allungata delle fibre tessili e le loro caratteristiche di resistenza, elasticità e flessibilità si prestano alle lavorazioni industriali (quali sfioccamento, cardatura, pettinatura, filatura etc...), che sono comuni a tutte le tipologie di filato e che portano al prodotto tessile finito (capi di abbigliamento, tessuti per la casa...).

Le fibre tessili possono essere di origine naturale, se si ottengono da fibre vegetali (cotone, lino) o da fibre animali (lana e seta); oppure di origine chimica, se sono prodotte dalla lavorazione chimica e meccanica della cellulosa del legno (fibre rigenerate) o di materiali polimerici (fibre sintetiche).

In Figura 18 è illustrata una classificazione semplificata delle fibre tessili più comuni, in base alla loro composizione.

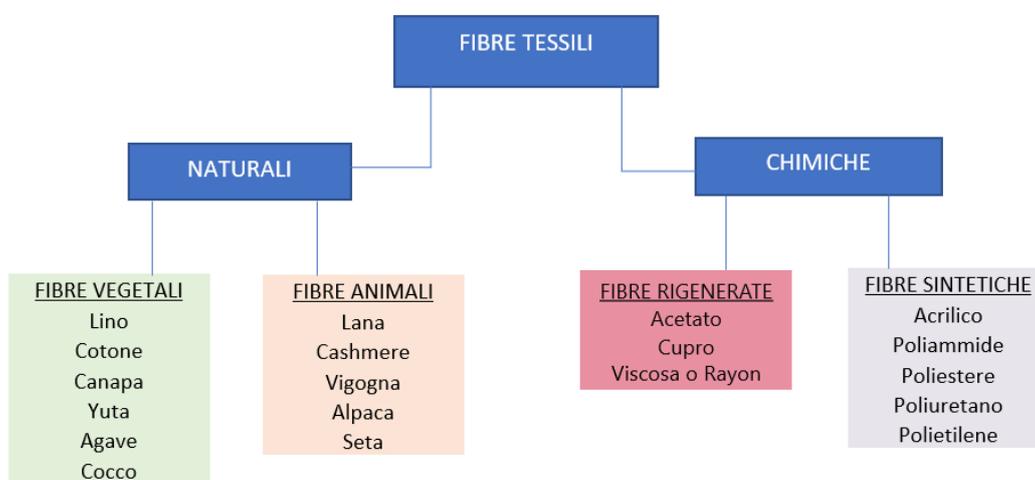


Figura 18. Classificazione delle fibre tessili in base alla loro origine [modificato da *Forensic Examination of fibers*, Robertson & Grieve, Taylor & Francis, 1999].

La differenza sostanziale è il tipo di lavorazione che la fibra subisce.

Le fibre naturali derivano da sostanze esistenti in natura che vengono lavorate solo meccanicamente, senza subire alterazioni della struttura e della composizione chimica originarie.

Le fibre chimiche, invece, sono prodotte attraverso processi industriali in cui il materiale subisce trasformazioni chimico-fisiche.

Pertanto, nel campo della produzione tessile si distingue tra fibre naturali (come lana, cotone), fibre rigenerate (come il rayon) e fibre sintetiche (come poliestere, nylon, pile). Le fibre rigenerate e le fibre sintetiche sono anche dette fibre estruse, poiché realizzate tramite estrusione (Thomas Stanton et al., 2019).

L'estrusione delle fibre sintetiche consiste nella fusione del polimero (inizialmente allo stato solido) se si tratta di polimeri termoplastici, oppure nello scioglimento tramite

solvente, se non sono materiali polimerici sensibili alle fonti di calore. Il polimero nello stato di liquido molto viscoso viene fatto passare attraverso una filiera, da cui esce allo stato gommoso, per poi solidificare: tale operazione è denominata filatura primaria, in contrapposizione alla lavorazione tessile tradizionale. Il risultato è un insieme di filamenti continui di un polimero allo stato semi-solido (*NF Nuove Fibre, 2000*).

In modo analogo avviene l'estrusione delle fibre artificiali rigenerate. Queste sono ottenute dalla lavorazione della cellulosa costituente le fibre vegetali di diverse piante, che viene disciolta per mezzo di solventi, e successivamente plasmata in filato.

Il processo dell'estrusione è la fase della lavorazione industriale che determina la principale caratteristica strutturale di tali fibre, rispetto a quelle naturali: le fibre sintetiche e artificiali hanno diametro pressoché costante, poiché l'orifizio della filiera in cui il liquido viscoso è forzato è generalmente di forma cilindrica. Tale caratteristica regola uno dei principali criteri di distinzione visiva nell'identificazione delle fibre tessili nei campioni ambientali, come spiegato al par. 6.3.4.

4.1 Fibre tessili nei campioni ambientali

Studi recenti (Dris et al., 2016, Cai et al., 2017, Zhao et al., 2016) sull'inquinamento da microplastiche confermano che le fibre tessili naturali sono una componente abbondante, all'interno della categoria "fibre" nei campioni ambientali. Tra questi studi Stanton et al., 2019 ha analizzato 223 campioni, raccolti nel bacino idrografico del fiume Trent nel Regno Unito, sia in acqua e che in atmosfera: il 93,8 % delle fibre complessivamente riscontrate sono risultate essere fibre naturali. In particolare, soltanto il 9,7% dei campioni non ne ha evidenziato la presenza; mentre l'82,8% non ha mostrato alcun contenuto di fibre tessili estruse. La maggior parte delle fibre osservate erano di colore nero/grigio o blu (*Thomas Stanton et al., 2019*).

Benché le indagini scientifiche pongano l'interesse principalmente sull'inquinamento da microplastica, anche le fibre naturali sono impattanti da un punto di vista ambientale, in quanto la lavorazione a livello industriale prevede l'aggiunta di sostanze artificiali pericolose, come pesticidi ed erbicidi (*Ladewig et al., 2015, Suran, 2018*). Le acque reflue da industria tessile, infatti, sono riconosciute come sorgente di inquinanti chimici, basti pensare ai coloranti.

La principale fonte di rilascio delle fibre tessili nell'ambiente marino sono gli scarichi idrici da civile abitazione. In seguito al lavaggio degli indumenti tali fibre finiscono nelle acque

reflue, ed essendo troppo piccole per essere rimosse dagli impianti di depurazione, si ritrovano negli effluenti trattati (*Marine Anthropogenic Litter, 2015*).

Come le microplastiche, anche le fibre tessili rilasciate nell'ambiente possono essere ingerite da animali e microorganismi (*Zhao et al., 2016*) e sono soggette all'accumulo di inquinanti sulla loro superficie. Questa capacità dipende dalla conformazione sottile e allungata tipica delle fibre, che conferisce loro un'elevata superficie specifica. Nel caso delle fibre naturali, meno persistenti perché più degradabili, l'accumulo di contaminanti sulla superficie ne produce una dispersione più rapida nell'ambiente.

4.1.1 Identificazione e classificazione

La presenza di fibre tessili naturali, nelle analisi di campioni ambientali, ostacola l'efficacia delle tecniche di quantificazione delle sole fibre di natura sintetica, che sono oggetto degli studi incentrati sulle microplastiche. In tali studi, l'identificazione visiva delle fibre sintetiche è largamente utilizzata e ritenuta accettabile, se accompagnata da analisi come la spettroscopia FTIR, che consentono di indagare la struttura chimica delle particelle (*Lusher et al., 2017*). Alcuni autori, infatti, non condividono l'uso della sola tecnica di visualizzazione, perché influenzata da errori di valutazione soggettiva da parte dell'esaminatore. Tuttavia, benché la tecnica FTIR sia ormai comprovata per classificare da un punto di vista chimico le microplastiche maggiori di 150 µm, la sua efficacia nell'analisi delle fibre tessili non è ancora stata confermata, soprattutto per le fibre di dimensioni piccolissime presenti nei campioni ambientali (*Harrison et al., 2012*). Ciò è dovuto al fatto che la superficie, spesso curva e porosa, delle fibre non consente di ottenere un'immagine chiara dello spettro FTIR.

La tecnica dell'identificazione visiva resta comunque il primo passo per l'attribuzione delle fibre tessili al macrogruppo di appartenenza (*Nayak et al., 2012*), in base all'origine (naturali o chimiche).

L'utilizzo di un semplice microscopio ottico permette di escludere le fibre che non sono sintetiche e, quindi, di restringere il campo sull'analisi dei campioni da destinare all'analisi delle fibre naturali.

Stanton et. al 2019 illustra i criteri di distinzione utilizzati nell'identificazione visiva delle fibre tessili naturali, suggeriti principalmente da Greaves and Saville in "Microscopy of textile fibres" (1995), e completati da informazioni derivanti da altri studi (Figura 19).

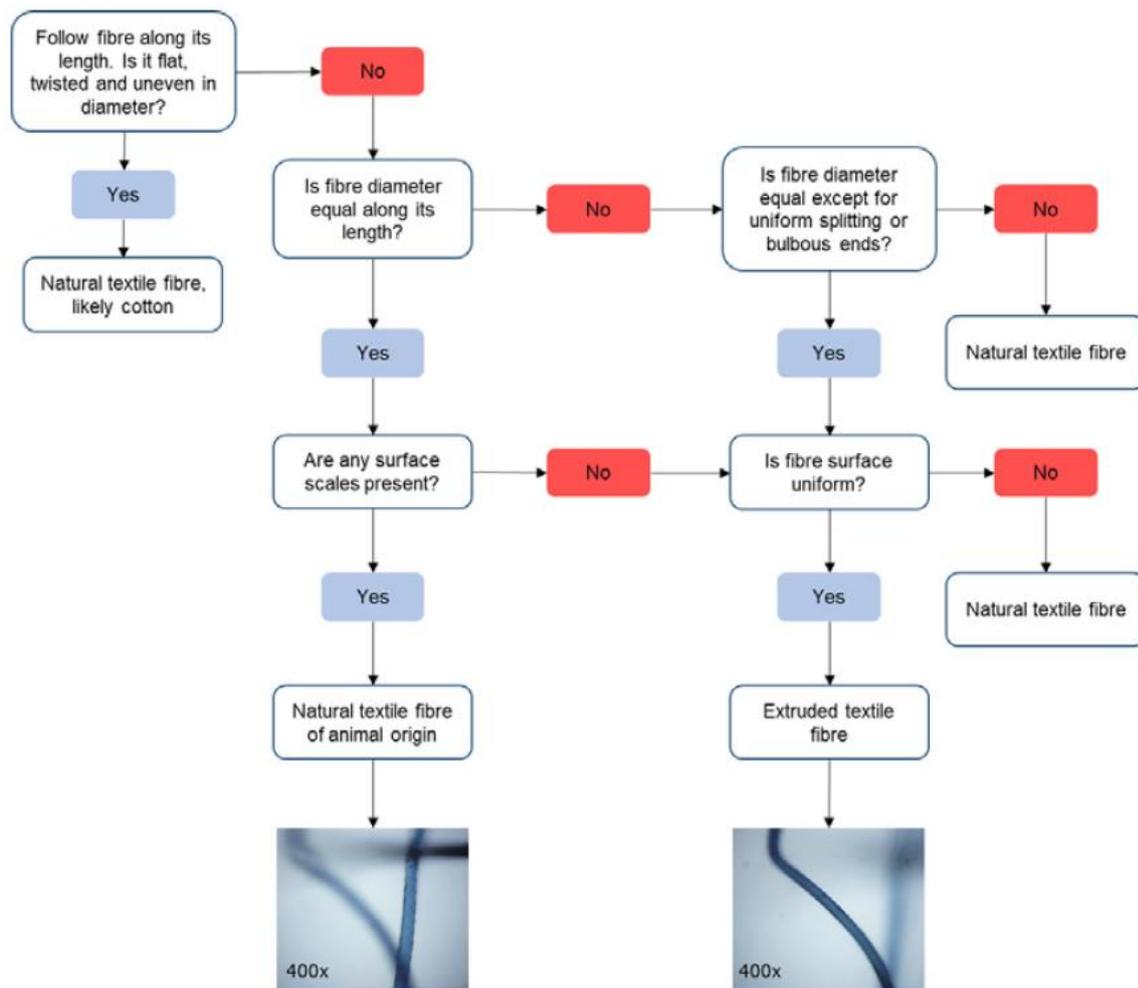


Figura 19. Flowchart utilizzato per caratterizzare le fibre tessili come naturali o estruse, con fotografie al microscopio ottico (ingrandimento 400x) per evidenziare le differenze visive tra una fibra naturale di lana (foto a sinistra) e una sintetica in poliestere (foto a destra) [Stanton et al., 2019].

Il cotone, ad esempio, è la fibra tessile più comune, che nella sua forma non commerciale si presenta piatto e attorcigliato, lungo tutta la sua lunghezza, e avente diametro irregolare. Se invece la fibra in esame ha un diametro regolare, ma sulla sua superficie sono osservabili delle protuberanze, si tratta di una fibra naturale ma di origine animale (Figura 19, immagine ingrandimento 400x a sinistra). Le fibre tessili naturali possono anche essere caratterizzate da diametro irregolare, ma non devono presentare spaccature uniformi o estremità più grosse rispetto al corpo: in tal caso, se la superficie della fibra è liscia si tratta di una fibra sintetica (Figura 19, immagine ingrandimento 400x destra), se non lo è si tratta di una fibra naturale.

5 Campionamento dei sedimenti sabbiosi

5.1 Scelta del sito

Come accennato nel paragrafo 1.1, la deposizione del marine litter è influenzata dal clima meteo-marino, in particolare dall'oscillazione del moto ondoso (alta e bassa marea). Di conseguenza, gli studi scientifici sono in grado di rilevare una variazione nella composizione del marine litter, ma non di definire criteri univoci per prevedere variazioni nel tasso di accumulo lungo la costa. Questa limitazione può essere parzialmente fronteggiata svolgendo le indagini in sito secondo intervalli di tempo specifici (settimanali, mensili, annuali), preferibilmente iniziando dopo avvenuta bonifica del sito in esame (*Ryan et al., 2009*).

Il sito oggetto dello studio viene scelto in base alla sua rilevanza ecologica, all'accessibilità e alla presenza di specifiche attività o fonti antropiche di inquinamento.

La natura del sito, la forma della spiaggia e le sorgenti dei detriti influenzano la modalità di accumulo del marine litter in ambiente marino (*Turra et al., 2014*).

5.2 Tecniche di campionamento

La matrice ambientale in esame determina la quantità, la dimensione e la forma delle particelle indagate; la procedura di campionamento della matrice è il primo step di uno studio, da cui dipende l'attendibilità delle successive fasi di trattamento sui campioni, i risultati ultimi dell'analisi e il modo in cui questi vengono espressi.

Ad oggi non esistono procedure standardizzate per il campionamento delle microplastiche e delle fibre nell'ambiente: la scelta di un metodo, piuttosto che di un altro, dipende unicamente dallo scopo dello studio e dalla semplicità operativa.

Inoltre, è importante che la procedura di campionamento sia facilmente riproducibile e accessibile sul piano economico, pur garantendo precisione, accuratezza e contaminazione minima durante l'esecuzione (*Eerkes-Medrano et al., 2015*).

I metodi più comunemente utilizzati per campionare i sedimenti sabbiosi nell'analisi di microplastiche sono:

- il campionamento *selettivo*, che consiste nell'estrazione di elementi visibili ad occhio nudo, che galleggiano sulla superficie del mare o depositatisi sulle spiagge. Pertanto, questo metodo è adeguato al campionamento di microplastiche più grandi di 1 mm, come i pellet (microplastiche primarie) e frammenti di microplastiche secondarie (*Hidalgo et al., 2012*);

- il campionamento *in blocco*, che prevede la raccolta di un campione d'acqua, suolo o sedimento in modo compiuto, ovvero senza ridurre il suo volume mediante l'utilizzo di filtri, maglie o reti. Il vantaggio è che tutte le microplastiche nel campione possono essere prelevate, a prescindere dalla loro dimensione o visibilità, evitando di andare perse o trascurate, come può accadere col campionamento selettivo o a volume ridotto. Inoltre, essendo il campione meno maneggiato, con questo metodo se ne riduce il tempo di esposizione all'ambiente circostante e, quindi, il rischio di una eventuale contaminazione esterna;
- il campionamento *a volume ridotto*, che consiste nella successiva riduzione del volume d'acqua o di sedimento campionato, affinché resti soltanto il materiale di interesse per l'analisi. È il metodo solitamente utilizzato nel campionamento di grandi aree o quantità d'acqua, poiché la maggior parte del campione viene scartata. Lo svantaggio, dunque, è la potenziale perdita del materiale di interesse in fase di riduzione, rischiando di sottostimare i risultati circa l'abbondanza e la distribuzione delle particelle ricercate (Crawford & Quinn, 2017). I sistemi di filtrazione utilizzati per la riduzione del volume del campione sono scelti in funzione della classe dimensionale del materiale da esaminare.

Poiché è stato stimato che le mini-microplastiche rappresentano il 35-90% di tutte le plastiche in ambiente marino, la tecnica del campionamento selettivo risulta inadeguata per questo tipo di studio. Questa permetterebbe di prelevare solo le particelle maggiori di 1 mm, escludendo quelle più piccole e quindi portando ad una sostanziale sottostima delle di microplastiche nel campione (Eriksen et al., 2013, Zhao et al., 2014, Song et al., 2014). Il campionamento selettivo è usato nel campionare sedimenti costieri, quando si intende attuare lo smistamento manuale e l'identificazione visiva delle particelle (Duis et al., 2016). Il campionamento in blocco è il metodo più favorevole alla raccolta di un campione rappresentativo, essendo le microplastiche, in particolare le microfibre, di forma irregolare e quindi ben assortite con i sedimenti e altri detriti (Boucher et al., 2016, Hidalgo et al., 2012). Lo svantaggio di questo metodo è che porta ad avere nel campione una grande quantità di materiale indesiderato.

Dunque, il campionamento a volume ridotto risulta essere la tecnica ottimale quando si vuole focalizzare l'analisi sulle microplastiche, senza campionare congiuntamente anche sostanze di altra forma, dimensione e natura, che non sono oggetto dello studio.

La raccolta di microplastiche sulle spiagge comprende il campionamento diretto con una pinza, la setacciatura e la raccolta di campioni di sedimenti. I campioni di sedimenti costieri possono essere prelevati lungo transetti di spiaggia paralleli o perpendicolari alla linea di costa, oppure raccolti in punti della spiaggia scelti casualmente. Il prelievo avviene di solito con spatole, pale o cucchiaini in acciaio inossidabile (*Marine Pollution Bulletin 2017*).

5.2.1 Area di campionamento

La distribuzione delle microplastiche nei sedimenti sabbiosi è fortemente irregolare e dipende, oltre che dalle loro dimensioni e proprietà, anche da fattori ambientali legati alla direzione dei venti e delle correnti marine.

Pertanto, la scelta dell'area di campionamento (linea di alta marea, aree intertidali, transetti) e della profondità di campionamento influisce sul risultato dell'analisi, poiché alcune zone della spiaggia possono contenere una quantità maggior di microplastiche (*Analytical Methods 2017*).

La definizione della profondità di campionamento consente una stima più accurata delle concentrazioni di microplastiche nei sedimenti (*Marine Pollution Bulletin 2017*). La maggior parte degli studi riporta la raccolta dei sedimenti entro 5 cm di profondità, come suggerito dalle "Linee Guida per il Monitoraggio del marine litter nei mari europei" del 2013, nell'ambito della Direttiva per la Strategia Marina (par. 1.3). Tuttavia, è sovente documentata una profondità di campionamento che può arrivare fino a 30 cm (*Claessens et al., 2011*).

Alcuni studi evidenziano l'utilizzo di un campionamento casuale dei sedimenti sulla spiaggia. Nella maggior parte delle indagini scientifiche, tuttavia, il campionamento viene eseguito lungo un transetto orizzontale (in corrispondenza della linea più recente di frangimento delle onde), oppure verticale (cioè partendo dalla riva e muovendosi verso la parte più interna della spiaggia).

Il vantaggio di campionare lungo un transetto permette di tenere conto della variazione spaziale dei detriti, che sono raccolti in un'area caratterizzata dalle stesse condizioni, in termini di granulometria dei sedimenti e topografia del profilo di costa.

La strategia scelta per il campionamento, in ogni caso, dipende dallo scopo ultimo dello studio che può essere di tipo (*Crawford & Quinn, 2017*):

- qualitativo, con l'obiettivo di raccogliere informazioni non numeriche sulla tipologia di microplastiche presenti nell'ambiente.

- quantitativo, con l'obiettivo di evidenziare dati numerici circa l'abbondanza e la distribuzione delle microplastiche nell'ambiente.

L'approccio utilizzato in questo lavoro di tesi è di tipo quantitativo.

La tecnica di campionamento adoperata è quella a *volume ridotto* (par. 7.2) e i risultati sono espressi come numero di microparticelle/kg di sedimento (par. 9), dove per microparticelle ci si riferisce all'insieme di microplastiche e di fibre tessili, incluse quelle di natura non sintetica.

5.3 Parametri ambientali e controllo di qualità

Il campionamento delle microplastiche in ambiente marino richiede la conoscenza delle condizioni meteorologiche caratteristiche del sito, di quelle presenti al momento del prelievo, ed eventualmente di quelle verificatesi nel periodo subito antecedente.

È importante conoscere lo stadio del ciclo delle maree nel giorno del campionamento e l'altezza di marea (diurna o semidiurna), che consiste nell'altezza dell'onda di marea, data dal dislivello tra onda di alta e bassa marea.

Inoltre, è utile annotare la direzione del vento poiché questa può influenzare la contaminazione da parte di chi esegue il campionamento, o delle persone vicine, per esempio a causa della dispersione delle fibre degli indumenti indossati, dovuta all'azione del vento. Occorre, quindi, campionare sottovento ed indossare guanti in nitrile e indumenti di cotone o camici da laboratorio. L'abbigliamento sintetico è da evitare, poiché potrebbe rilasciare microfibre in plastica: questo vale soprattutto per i tessuti in pile, composti da una fibra ricavata dal poliestere.

Inoltre, è necessario evitare l'utilizzo di contenitori e strumenti in plastica per il campionamento e raccogliere i sedimenti, mediante cucchiaini in acciaio, in bocce di vetro o vassoi di alluminio.

Analoghe accortezze devono essere prestate anche durante le analisi di laboratorio. È opportuno pulire le superfici di lavoro e gli utensili con alcool e acqua distillata, usare becher e strumenti in vetro e, se possibile, manipolare i campioni sotto una cappa sterile a flusso laminare, per impedirne la contaminazione dall'aria circostante.

Tutto questo serve ad evitare che nelle fasi di campionamento, separazione e identificazione delle microplastiche non vengano introdotte particelle estranee nel campione, in particolare microfibre tessili da abbigliamento (*Crawford & Quinn, 2017*).

6 Tecniche di analisi delle microplastiche nei campioni ambientali

6.1 Pretrattamenti sul campione

I campioni di sedimenti prelevati dalle spiagge, analogamente ai campioni d'acqua marina, contengono, oltre alle microplastiche, una percentuale variabile di materiale di altra natura che può interferire con l'analisi. Si tratta di particolato, materia organica libera o assorbita sulla superficie dei polimeri (per effetto del biofouling), sostanza inorganica o mineralogica. Questi materiali possono modificare la densità apparente dei polimeri e favorire la formazione di aggregati (*Eerkes et al., 2015, Morét-Ferguson et al., 2010*), ostacolando la separazione delle microplastiche dalla matrice e la successiva identificazione.

Pertanto, l'analisi dei campioni richiede l'applicazione di protocolli di pretrattamento volti a rimuovere tali impurità (*Fu Z et al., 2020, Corami F et al., 2020*). La scelta del tipo di trattamento dipende dalla matrice in esame, della modalità di campionamento e della tecnica analitica di identificazione.

In letteratura sono noti diversi iter procedurali, come quelli redatti dal NOAA nel 2015 (*National Oceanic and Atmospheric Administration*) e dal DWI nel 2019 (*Drinking Water Inspectorate*).

Le procedure di pretrattamento più comunemente utilizzate sono la filtrazione e la digestione.

6.1.1 Setacciatura

La setacciatura è utilizzata nelle indagini condotte sia su campioni di acqua che di sedimento.

Nel primo caso il setaccio consente il passaggio dell'acqua, ma trattiene le fibre e le microplastiche: quindi essa si configura come una tecnica di separazione dalla matrice originaria.

È evidente che la dimensione del setaccio deve essere scelta in funzione delle particelle che si vogliono separare e non deve essere superiore a 5 mm, al fine di non eccedere il range dimensionale caratteristico delle microplastiche (*Crawford & Quinn, 2017*).

Sui campioni di sedimento, invece, la setacciatura ha lo scopo di effettuare una classificazione granulometrica, ovvero di suddividere il campione iniziale in due o più sotto-campioni costituiti da grani di ugual dimensione. Questa operazione è eseguita mediante una setacciatura multilivello, che consiste nel sovrapporre l'uno sull'altro due o

più setacci, in ordine decrescente dall'alto verso il basso: ovvero l'apertura della maglia di ciascun setaccio è maggiore di quella del setaccio sottostante e minore di quella del setaccio soprastante.

Crawford & Quinn (2017) riporta le classi granulometriche di interesse nelle ricerche sulle microplastiche, in base alla tipologia di sedimento. In Tabella 3 sono elencate solo le classi tipiche per la separazione delle sabbie.

Tabella 3. Dimensione dei setacci utilizzati per la classificazione granulometrica nei campioni di sedimenti sabbiosi [modificato da Crawford & Quinn, 2017].

Sand type	Sieve dimension
Very coarse sand	2-1 mm
Coarse sand	1 mm – 500 µm
Medium sand	500 – 250 µm
Fine sand	250 – 125 µm
Very fine sand	125 – 62,5 µm

La setacciatura è necessaria per favorire la successiva fase di estrazione delle microplastiche dal sedimento, in quanto l'efficacia delle tecniche di estrazione dipende dalle caratteristiche fisiche (dimensione, forma e densità) sia del sedimento che delle particelle stesse.

Più fini sono i sedimenti, più piccole sono le microplastiche in essi contenute, più complessa è la loro separazione. Ciò si basa sull'ipotesi, sovente documentata in letteratura, che la dimensione dei grani influenzi l'accumulo e la distribuzione delle microplastiche all'interno dei sedimenti, come è stato dimostrato avvenire per sostanze quali carbonio organico totale (TOC), carboidrati, lignina e azoto totale (TN). Tale ipotesi spiegherebbe la presenza delle microplastiche negli organismi bentonici, e di conseguenza l'ingresso all'interno della catena alimentare (*Alomar et al., 2016*).

La setacciatura del fine è eseguita soprattutto nella ricerca di grandi microplastiche (*Hidalgo-Ruz V et al., 2012*); per le piccole microplastiche sono descritte in letteratura diverse tecniche, tra cui la separazione per densità. La setacciatura a secco, infatti, non è efficace nel separare la polvere, i conglomerati di materiale fine e il materiale che aderisce su particelle più grandi. La setacciatura ad umido, invece, utilizza l'acqua per trasportare il materiale attraverso il setaccio, realizzando una maggiore efficacia di separazione (*Enders et al., 2020*).

6.1.2 Digestione

La digestione serve a rimuovere il materiale organico adeso alle microplastiche, oppure presente come tale all'interno del campione.

È importante che l'agente chimico utilizzato allo scopo sia efficace nel degradare l'organico ed eventuali sostanze indesiderate; al tempo stesso non deve risultare aggressivo, a tal punto da alterare la struttura dei polimeri, degradandoli o denaturandoli. Questa fase di pretrattamento, quindi, non deve modificare in alcun modo la forma, il peso e il colore delle particelle indagate.

Gli agenti chimici maggiormente utilizzati sono:

- *acidi forti*, come l'acido nitrico (HNO_3) o l'acido cloridrico (HCl), che sono molto efficaci nella rimozione dell'organico, ma possono degradare alcuni polimeri (nylon, poliestere e PET) o alterarne la colorazione (cloruro di polivinile PVC), se usati in elevate concentrazioni e ad alte temperature (*Catarino et al., 2016, Karami et al., 2017*).
- *agenti alcalini*, come l'idrossido di sodio (NaOH) o di potassio (KOH), che oltre a presentare lo stesso inconveniente degli acidi forti, possono rilasciare residui non digeriti o oleosi (*Munno et al., 2018*);
- soluzioni di *perossido di idrogeno* (H_2O_2), che è il reagente più utilizzato in quanto comporta una degradazione minima dei polimeri in esame, se il trattamento non supera le 48 ore e non si verifica a temperature elevate (*Löder MGJ et al., 2017, Qiu Q et al., 2016*).

Spesso alla degradazione chimica con perossido di idrogeno è accostata quella enzimatica, che è meno aggressiva sui polimeri e più sicura per l'operatore. Questa soluzione, però, è più costosa dei metodi tradizionali e richiede condizioni operative di pH e temperatura specifiche, per raggiungere una rimozione ottimale dell'organico.

Inoltre, essa necessita di un lungo tempo d'incubazione, quindi tempi di esecuzione complessivi maggiori rispetto ad altre tecniche. Ciò porta a manipolazioni ulteriori del campione, con un aumento della probabilità di contaminazione (*Di Mauro et al., 2017, Lee et al., 2021*).

In questo lavoro di tesi, per la rimozione della sostanza organica sui campioni si è scelto di utilizzare una soluzione di perossido di idrogeno al 15%, con un tempo di contatto pari a 24 h e a temperatura ambiente (20 °C).

6.2 Tecniche di separazione delle microplastiche dalla matrice ambientale

Per quanto riguarda la separazione delle microplastiche dai sedimenti, questa può essere eseguita mediante filtrazione oppure flottazione per densità, dopo la fase di setacciatura, come suggerito dal NOAA e dalle linee guida operative previste dalla direttiva europea per la Strategia Marina (MSFD, Marine Strategy Framework Directive, 2008).

6.2.1 Flottazione per densità

La separazione per densità è una tecnica di separazione gravimetrica volta a separare le microplastiche da impurezze pesanti presenti nel campione (spesso di origine minerale) (Dris R et al., 2018). Pertanto, è molto usata per l'analisi di campioni di sedimenti o di fanghi di depurazione, ad elevato contenuto inorganico. Essa si basa sul fatto che la densità dei polimeri costituenti i materiali plastici varia in un ampio range di valori (Tabella 2).

La separazione per densità, generalmente eseguita sul campione dopo il processo digestivo, consiste nel mettere il campione in soluzione ipersalina con alogenuri di sodio e di zinco o formiato di potassio.

Nel caso di un campione di sedimenti, si verifica che le microplastiche caratterizzate da una densità inferiore a quella della soluzione tendono ad affiorare in superficie (flottazione), mentre quelle più pesanti, insieme ai sedimenti stessi, si depositano sul fondo. Ne consegue che non tutte le microparticelle riescono ad essere separate in modo efficace: i polimeri fluorurati, gli elastomeri e alcune gomme, essendo più densi, non riescono ad avere una spinta idrostatica sufficiente verso la superficie. I frammenti microplastici di dimensioni inferiori ai 100 μm , invece, essendo molto leggeri non riescono ad affiorare perché ostacolati dalle bolle formatesi durante il processo di flottazione.

Un altro svantaggio legato all'uso di questi sali per la separazione delle microparticelle è che, dopo la filtrazione della soluzione, sulla superficie del filtro possono restare adesi alcuni residui. Questi dopo l'essiccazione tendono a cristallizzare sul filtro, ostacolando le fasi di identificazione e caratterizzazione delle microplastiche.

La scelta del sale dipende dalla sua capacità separativa, ma anche dal costo e dalla reperibilità.

Uno studio effettuato sui campioni di sedimenti (*Analytical Methods, Quinn et al. 2016*) ha evidenziato che l'efficacia della separazione è tanto più alta, quanto maggiore è la densità finale della soluzione.

Occorre, tuttavia, considerare un valore di densità intermedio tra le componenti del campione da separare, poiché soluzioni a densità troppo elevata potrebbe portare in sospensione i sedimenti stessi, rendendo la separazione inefficace. Questo è vero in particolar modo per le frazioni di sedimento a granulometria fine (Crawford & Quinn, 2017).

In Figura 20 è raffigurata una tabella riassuntiva dei principali sali, suggeriti a tale scopo, dall'Istituto Superiore di Sanità nel report “Strategie di campionamento di microplastiche negli ambienti acquatici e metodi di pretrattamento” (febbraio 2021).

Tipo di sale	Densità della soluzione satura	Vantaggi applicativi	Svantaggi applicativi
NaCl	1,2 g/cm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Poco costoso • Facilmente reperibile • Non dannoso per l'ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Ridotta capacità separativa rispetto agli alogenuri di zinco e a NaI
ZnBr ₂ ZnCl ₂	1,7 g/cm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Maggiore capacità separativa rispetto agli altri Sali 	<ul style="list-style-type: none"> • Costosi • Dannosi per l'ambiente
NaI	1,7 g/cm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Capacità separativa paragonabile a quella di ZnBr₂ • Non dannoso per l'ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Reagisce con i filtri di cellulosa scurendoli e complicando l'identificazione visiva delle microplastiche
SPT	1,5 g/cm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Densità della soluzione più alta di quella con NaCl • Meno dannoso per l'ambiente rispetto agli alogenuri di zinco 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevato costo • Mai utilizzato per le acque interne • Pochi studi al riguardo
HCOOK	1,5 g/cm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Densità della soluzione più alta di quella con NaCl • Non dannoso per l'ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> • Pochi studi al riguardo

Figura 20. Tipologie di sali utilizzati per la flottazione delle microplastiche [Rapporti ISTISAN 21/02/2021].

Nel report sopracitato sono stati riportati gli esiti, in merito all'utilizzo delle soluzioni saline in Figura 20, su campioni artificiali contenenti le microplastiche più comunemente rinvenute nelle matrici ambientali (PE, PP, HDPE, PET, Nylon), considerando i range dimensionali 200-400 µm e 800-1000 µm. Il cloruro di sodio (NaCl) ha dimostrato un'efficacia di separazione del 90%, rispetto ad altri sali come il bromuro di zinco (ZnBr₂) e il cloruro di zinco (ZnCl₂) che hanno recuperato oltre il 95% delle microplastiche presenti nei campioni. Tale risultato è stato attribuito alla densità finale delle soluzioni sature che, come indicato nella precedente tabella, differisce da sale a sale.

Sebbene il bromuro di zinco e il cloruro di zinco siano più efficienti e adatti alla maggior parte dei polimeri, poiché permettono di ottenere soluzioni molto dense, essi sono reagenti più costosi e maggiormente impattanti dal punto di vista ambientale, rispetto al cloruro di sodio (*Analytical Methods, Quinn et al. 2016*).

Lo ioduro di sodio (NaI) è anch'esso più efficace del cloruro, ma lo svantaggio è che, essendo molto costoso, rende necessario ridurre al minimo il volume di soluzione per la separazione gravimetrica, attraverso una fase di elutriazione. L'elutriazione consiste nella separazione delle particelle più pesanti da quelle meno dense attraverso un flusso di gas o di acqua diretto verso l'alto, cioè in direzione opposta a quella di sedimentazione.

Infine, il politungstato di sodio (SPT) e il formiato di potassio (HCOOK) sono caratterizzati da una densità media ($1,5 \text{ g/cm}^3$): il primo è molto costoso, mentre il secondo è ad oggi poco sperimentato.

6.2.2 Filtrazione

La filtrazione, oltre ad essere una modalità di campionamento delle microplastiche nei sedimenti, è utilizzata come tecnica intermedia di purificazione del campione dai detriti naturali o da reagenti.

Essa consiste nella separazione fisica di particelle solide da una matrice liquida, tramite un mezzo (il filtro) attraverso cui può passare soltanto il liquido (filtrato): pertanto, la dimensione dei pori del filtro determina le dimensioni del materiale solito trattenuto.

La tipologia di filtro è scelta in funzione della praticità, della disponibilità e della tecnica analitica scelta per la successiva identificazione.

Le tecniche a microscopia infrarossa (MicroFTIR) e a microscopia Raman (MicroRaman) si servono di filtri in alluminio, silicio o policarbonato poiché questi sono in grado di trasmettere o riflettere la radiazione incidente, senza assorbirla alla lunghezza d'onda d'interesse, ovvero quella infrarossa. In particolare, i filtri in ossido di alluminio sono rigidi e sottili e si prestano alla microscopia Raman, oppure alla tecnica IR in trasmissione, ma non alle analisi in riflessione. I filtri in silicio, invece, sono rigidi e meno fragili dei precedenti, ma più costosi e meno adattabili ai sistemi di filtrazione standard.

I filtri in microfibra di vetro presentano assorbimenti d'onda nella regione dell'infrarosso; quindi, non sono adatti alle applicazioni spettroscopiche. Tali filtri, insieme ai filtri in acciaio inossidabile e in cellulosa, sono utilizzati esclusivamente per la fase di campionamento o per filtrare le soluzioni da una fase all'altra del trattamento.

Nelle analisi sui campioni di sedimenti, i filtri in vetro sono adoperati per filtrare il materiale flottato in seguito alla separazione densimetrica delle microplastiche in soluzione salina.

I filtri a membrana in policarbonato del tipo PCTE (PolyCarbonate Track-Etched) si prestano bene all'utilizzo del Nile Red, poiché la loro superficie idrofila è in grado di ridurre la ritenzione del colorante, diminuendo la fluorescenza di fondo durante l'analisi. Inoltre, essi diventano traslucidi se esposti ad etanolo e ciò rende possibile l'utilizzo della microscopia a campo chiaro oltre che di quella a fluorescenza (Erni-Cassola G et al., 2017).

6.3 Tecniche di identificazione e caratterizzazione delle microplastiche

In letteratura sono diverse le tecniche descritte per l'identificazione visiva e la caratterizzazione polimerica delle microplastiche contenute nei campioni ambientali. Esse si distinguono a seconda della proprietà delle microplastiche su cui basano l'analisi; pertanto, possono essere usate singolarmente oppure in combinazione.

In Figura 21 è illustrata una tabella riassuntiva delle tecniche più utilizzate, riportata nel report “*Strategie di campionamento di microplastiche negli ambienti acquatici e metodi di pretrattamento*” (febbraio 2021) dell'Istituto Superiore di Sanità.

Tecnica	Caratteristiche
Microscopica	
Ottica	<ul style="list-style-type: none"> • Permette la conta e la classificazione per forma delle microplastiche nel campione ma non la loro identificazione chimica • Metodo generalmente complesso e dispendioso nei tempi • Richiede un pretrattamento del campione spesso elaborato • L'analisi può essere facilitata con l'utilizzo di un colorante e di un microscopio a fluorescenza
Elettronica a scansione	<ul style="list-style-type: none"> • Permette di valutare le caratteristiche superficiali delle microplastiche nel campione • Tecnica efficace per la conta delle particelle più piccole (anche dell'ordine dei nanometri) • Utile se associata ad altre tecniche non distruttive • Spesso accoppiata alla spettroscopia a dispersione di energia
Cromatografica	
Pyr-GC/MS	<ul style="list-style-type: none"> • Permette di identificare chimicamente le particelle ma non di quantificarle o classificarle in base alla forma • Permette di identificare anche gli additivi e i contaminanti correlati • L'analisi è distruttiva non permette di riutilizzare il campione • Preparazione del campione minima
Spettroscopica	
Infrarossa	<ul style="list-style-type: none"> • Permette di identificare chimicamente le particelle e gli interferenti della matrice come le sostanze inorganiche • Quando associata alla microscopia permette di valutarne forma e numero • Permette di identificare particelle fino a 7 µm con il µ-FT-IR e 300 µm con lo FTIR classico • Richiede spesso un pretrattamento del campione elaborato
Raman	<ul style="list-style-type: none"> • Permette di identificare chimicamente le particelle e gli interferenti della matrice come le sostanze inorganiche • Quando associata alla microscopia permette di valutarne forma e numero • Permette di lavorare con particelle fino ad 1 µm tramite µ-Raman • Restituisce buoni risultati anche con una preparazione del campione minima

Figura 21. Classificazione delle tecniche di analisi delle microplastiche nei campioni ambientali [Rapporti ISTISAN 21/02/2021].

La scelta del metodo dipende sia dalla disponibilità della strumentazione necessaria, che dalla dimensione e dalla forma delle microplastiche in esame, soprattutto per quanto riguarda le piccole microplastiche (< 1mm - 1µm).

Le principali tecniche di analisi sono la microscopia, la cromatografia e la spettroscopia (Figura 21).

Le indagini scientifiche documentano l'utilizzo diffuso delle tecniche spettroscopiche associate alla microscopia, quale migliore procedura di analisi qualitativa e quantitativa delle microplastiche nell'ambiente.

L'identificazione visiva tramite analisi di immagine è il metodo più semplice ed accessibile poiché non richiede l'uso di apparecchiature analitiche complesse e costose, come il microscopio FTIR o Raman. Tuttavia, essa richiede più tempo, soprattutto quanto i campioni da esaminare sono numerosi, ed è fortemente influenzata da errori soggettivi di valutazione da parte dell'esaminatore.

6.3.1 Tecniche microscopiche

Le tecniche microscopiche (microscopia ottica e microscopia elettronica a scansione) permettono la quantificazione numerica delle particelle di microplastica in un campione, l'individuazione di forma e dimensioni, ma non ne consentono la classificazione polimerica come le tecniche spettroscopiche (ECHA, 2019). Pertanto, la microscopia è considerata una tecnica poco all'avanguardia poiché si basa sull'identificazione visiva, che spesso produce risultati equivocabili.

L'analisi visiva può essere eseguita con microscopi binoculari o mediante microscopia elettronica a scansione.

La *microscopia elettronica a scansione (SEM)* permette di ottenere immagini tridimensionali ad alta risoluzione mediante scansione di un fascio di elettroni. Gli effetti che si generano nel punto di impatto del fascio sono catturati da appositi rilevatori che producono un contrasto, generando l'immagine su cui è possibile osservare le caratteristiche fisiche della particella e le sue dimensioni, distinguendo se si tratta o meno di plastica.

Si tratta di una tecnica diffusa soprattutto quando occorre visualizzare strutture a forte ingrandimento. Abbinata alla spettroscopia a raggi X (SEM-EDS), che è in grado di creare immagini ad alta risoluzione delle particelle, la microscopia consente anche l'identificazione polimerica. Il vantaggio principale, in questo caso, è la possibilità di individuare particelle di microplastica molto piccole (fino ad 1 μm), a differenza delle tecniche FTIR e Raman, che hanno un limite strumentale pari a 10 μm .

6.3.2 Tecniche spettroscopiche

Le tecniche spettroscopiche sono le tecniche analitiche più impiegate per la caratterizzazione chimica delle particelle di microplastica nei campioni ambientali. Esse permettono anche la quantificazione e l'individuazione della forma delle particelle, qualora accoppiate alla microscopia FTIR o Raman.

La spettroscopia infrarossa e la spettroscopia Raman sono raccomandate dall'ECHA (Agenzia Europea delle sostanze chimiche) come tecniche di identificazione polimerica. Esse sfruttano la capacità di assorbire energia da parte dei gruppi di polimeri: di conseguenza, presentano delle limitazioni costituite dalla dimensione minima delle particelle indagate e dalla diffrazione fisica della luce.

Variazioni sulla superficie del polimero, dovute a fattori ambientali (incrostazioni microbiche, sporco o fratture superficiali) oppure all'aggiunta di additivi durante il ciclo di

lavorazione industriale dei polimeri stessi, possono ostacolare l'analisi tramite queste tecniche.

In particolare, la *spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR)* permette di identificare i gruppi chimici e i relativi legami all'interno di un composto, tramite esposizione a raggi infrarossi. La reazione alla radiazione IR da parte della superficie analizzata viene registrata su uno spettro di assorbimento che, messo a confronto con spettri noti, permette la caratterizzazione delle particelle.

Il limite strumentale di questa tecnica varia da 10 a 20 μm , di contro l'interpretazione dei dati è semplificata da software dedicati che riducono i tempi di analisi.

6.3.3 Tecniche cromatografiche

In questa tipologia di tecniche, la tecnica più diffusa è la gas-cromatografia in combinazione con spettrometria di massa e pirolisi (Pyr-GC/MS). Il risultato è la determinazione simultanea del tipo di polimero e degli additivi relativi, attraverso la combustione del campione e il rilevamento dei prodotti di degradazione termica, che sono indicatori caratteristici di ciascun gruppo polimerico.

Si tratta quindi di una tecnica distruttiva, a differenza delle tecniche spettroscopiche, che non permette di eseguire analisi multiple o in parallelo. Inoltre, a causa della combustione, non è possibile determinare il numero, la forma o il colore delle particelle di microplastica contenute nel campione.

6.3.4 Identificazione visiva

In letteratura sono definiti dei criteri di selezione per il riconoscimento delle microplastiche nei campioni ambientali tramite analisi visiva (*Crawford & Quinn, 2017*), al fine di prevenire errori di valutazione da parte di chi esegue l'identificazione e, quindi, falsare la quantificazione.

Tali criteri si basano su caratteristiche di forma, colore e apparenza, e sono di seguito descritti.

- Il colore deve essere definito e omogeneo: la maggior parte delle microplastiche e delle fibre trovate nei campioni ambientali sono blu (PE), color ambra (PP) o verde chiaro (PVC).

Se si tratta di microfibre di colore rosso, è necessaria l'analisi tramite microscopia a fluorescenza o ad elevato ingrandimento, per escludere la possibilità che si tratti di germogli di alghe (*Noren F., 2007*). Lo stesso vale su particelle trasparenti,

bianche o opache, che potrebbero essere di natura biologica e non sintetica, soprattutto fibre vegetali o antenne di microorganismi. Escludere dal conteggio tali particelle porterebbe ad una sottostima significativa del numero di microplastiche contenute nel campione.

- La particella indagata non deve visibilmente presentarsi con una struttura e morfologia tipiche di organismi cellulari o sostanze organiche.
- La forma deve essere classificabile secondo i criteri precedentemente descritti al par. 3.

Nel caso delle microfibre, il diametro deve essere costante lungo tutta l'estensione della particella, che deve apparire lineare il più possibile e con superficie omogenea. Se è osservabile un avvolgimento della fibra su stessa, è probabile si tratti di una fibra naturale come il cotone.

In questo lavoro di tesi la quantificazione delle microplastiche presenti nei campioni analizzati è avvenuta tramite identificazione su immagine, applicando due metodi: l'identificazione visiva su immagine tramite ingrandimento al computer e il conteggio automatico su Matlab, come descritto al paragrafo 9.

7 Il caso studio

Questo lavoro di tesi focalizza l'attenzione sulla presenza delle microplastiche e delle fibre tessili nei sedimenti sabbiosi, presso due località marittime lungo la costa della Calabria, con l'obiettivo di individuare una metodologia facilmente eseguibile ed affidabile per la loro quantificazione.

La Calabria fa parte della sotto-regione Mar Ionio- Mediterraneo Centrale (Figura 22), individuata dalla Direttiva per la Strategia Marina, ai fini del monitoraggio dei rifiuti in ambiente marino, soprattutto delle microplastiche (par. 1.3).



Figura 22. Suddivisione delle acque marine italiane in tre sub-regioni, ai fini dei piani di monitoraggio previsti dalla Direttiva per la Strategia Marina (2008/56/CE). Mappa modificata da Geoportale Nazionale (<http://www.pcn.minambiente.it/mattm/>), sulla base delle informazioni contenute in "Delineation of the MSFD Article 4 marine regions and subregions" (Version 1.0, 2017, Jensen & Periklis Panagiotidis [ICES], Johnny Reker [EEA]).

La scelta delle aree di indagine ha tenuto conto dei criteri stabiliti dalla norma per il monitoraggio della categoria "Rifiuti spiaggiati", nell'ambito del Descrittore 10.

Le spiagge scelte per il campionamento dei sedimenti sabbiosi rientrano nel comune di Villa San Giovanni, in provincia di Reggio Calabria (RC). Si tratta di spiagge situate "nei pressi di aree urbanizzate, foci fluviali, aree portuali o comunque indicative di inquinamento proveniente dal trasporto marittimo e dalla pesca" (Accordo Operativo Direttiva Quadro sulla Strategia Marina tra MATTM, ISPRA, ARPACAL, ARPAL, ARPAE, 28/01/2021).

Sito di Importanza Comunitaria

Il tratto di costa calabro fa parte di RETE NATURA 2000, una rete ecologica istituita su tutto il territorio UE dalla Direttiva "Habitat" 92/43/CEE, il cui obiettivo è garantire il mantenimento a lungo termine degli habitat naturali e delle specie di flora e fauna, che sono rari o minacciati a livello comunitario (<https://www.mite.gov.it/pagina/rete-natura-2000>). Si tratta, quindi, di un Sito di Interesse Comunitario (SIC IT9350172), comprendente la Zona parzialmente protetta (ZPS IT9350300) denominata "Costa Viola", che è gestita

dall'Ente Parco Nazionale dell'Aspromonte; e la Zona Speciale di Conservazione (ZSC) denominata "Fondali da Punta Pezzo a Capo dell'Armi", che interessa i fondali del versante calabrese sullo Stretto di Messina, da Villa San Giovanni estendendosi verso sud fino al comune di Motta San Giovanni (RC).

Sotto il profilo geomorfologico, i fondali sono caratterizzati da un brusco declivio batimetrico raggiungendo, già a pochi metri dalla battigia, importanti profondità: ciò è legato alla presenza del grande massiccio dell'Aspromonte, che degrada dolcemente verso il mare dando origine ad ampi spazi collinari a ridosso della costa.

Dal punto di vista litologico, le spiagge sono principalmente sabbiose ma possono presentare in alcuni casi una minima composizione in ghiaia. La maggior parte dei corsi d'acqua ha carattere di fiumara: molti sono stati oggetto di interventi di arginatura o cementificazione dei loro alvei.

Gli habitat naturali tipici della zona sono importanti soprattutto per la presenza delle Praterie di Posidonia e del Coralligeno, di numerose specie protette e di specie particolari, in relazione alle peculiari condizioni ambientali dello Stretto di Messina (www.arpacal.it). Tra quelli individuati dalla Direttiva "Habitat" figura l'habitat 1110, ovvero "banchi di sabbia a debole copertura permanente di acqua marina", che è costituito da banchi di sabbia permanentemente sommersi da acque, il cui livello supera raramente i 20 m. Si tratta di barene sabbiose sommerse, spesso attorniate da acque più profonde, che possono comprendere fanghi o ghiaie e che rappresentano il prolungamento sottomarino di coste sabbiose, oppure possono essere ancorate a substrati rocciosi distanti dalla costa. Sono presenti banchi di sabbia privi di vegetazione, o con vegetazione sparsa o ben rappresentata in relazione alla natura dei sedimenti e alla velocità delle correnti marine.

Si tratta di un habitat molto eterogeneo e diffuso nel Mediterraneo, che si differenzia in relazione alla granulometria dei sedimenti e alla presenza o meno delle piante marine fanerogame (*"Misure di conservazione dei siti di importanza comunitaria della provincia di Reggio Calabria, PARTE TERZA"*, 2016).

Dal punto di vista meteorologico, la zona è interessata da un clima di tipo termomediterraneo secco, con precipitazioni medie annue medie di 660 mm e temperatura media di 19 °C: il periodo di deficit delle piogge si protrae per un lungo periodo a partire da maggio fino a novembre.

Impatto antropico

La zona costiera in esame è molto vulnerabile sotto l'aspetto delle pressioni antropiche, a causa della presenza di: infrastrutture viarie (ferrovia, viadotti, gallerie), che hanno comportato lo scarico in mare di importanti quantitativi di materiale di risulta; diffusa cementificazione dei corsi d'acqua; intensa urbanizzazione; traffico marittimo (con conseguente rischio di incidenti navali di petroliere e sversamento in mare di idrocarburi); costruzioni marittime per la difesa costiera dall'erosione; pesca illegale, anche subacquea. Inoltre, i fondali tra Villa San Giovanni, Catona e Gallico sono punto di approdo di cavi e condotte sottomarine, provenienti dalla Sicilia, per il trasporto di gas ed energia elettrica (www.arpacal.it).

Nella figura seguente sono indicati i fattori di influenza antropica riferiti esclusivamente all'habitat dei banchi di sabbia precedentemente descritti.

Codice	Habitat	Fattori di pressione	Minacce
1110	Banchi di sabbia a debole copertura permanente di acqua marina	<ul style="list-style-type: none"> → Opere a mare → Attività agricole e zootecniche adeguatamente regolamentate → Scarichi urbani o industriali non adeguatamente depurati → Manutenzione delle aree portuali (dragaggi) → Traffico marittimo → Rilascio di rifiuti → tipologie di pesca che rastrellano il fondale come: pesca a strascico, con draga, con sciabica ragno o con rastrello 	<ul style="list-style-type: none"> → Attività agricole e zootecniche non adeguatamente regolamentate → Infrastrutture/opere che modificano le dinamiche dei deflussi idrici. → Scarichi urbani o industriali non adeguatamente depurati. → Fenomeni locali di eutrofizzazione → Manutenzione delle aree portuali (dragaggi) → Traffico marittimo → Rilascio di rifiuti → tipologie di pesca che rastrellano il fondale come: pesca a strascico, con draga, con sciabica ragno o con rastrello

Figura 23. Rassegna dei principali fattori di pressione e minacce, ritenuti potenziali in quanto dedotti dalle caratteristiche ambientali per come descritte nel PDG della Provincia di Reggio Calabria [modificato da "Misure di conservazione dei siti di importanza comunitaria della provincia di Reggio Calabria, PARTE TERZA", 2016].

L'indagine sperimentale alla base di questo lavoro di tesi si è svolta nelle seguenti fasi:

- campionamento in sito dei sedimenti sabbiosi
- purificazione dei campioni dal contenuto di sostanza organica
- separazione delle microplastiche dai sedimenti
- identificazione visiva e quantificazione tramite analisi di immagine.

7.1 I siti in esame: posizione, morfologia e impatto antropico

I campioni di sedimenti sabbiosi sono stati prelevati presso le spiagge di Pezzo e Cannitello, due frazioni del comune di Villa San Giovanni. Si tratta di due siti estremamente diversi per posizione geografica all'interno dello Stretto di Messina (Figura 24), morfologia della linea di costa e affollamento nei diversi periodi dell'anno.

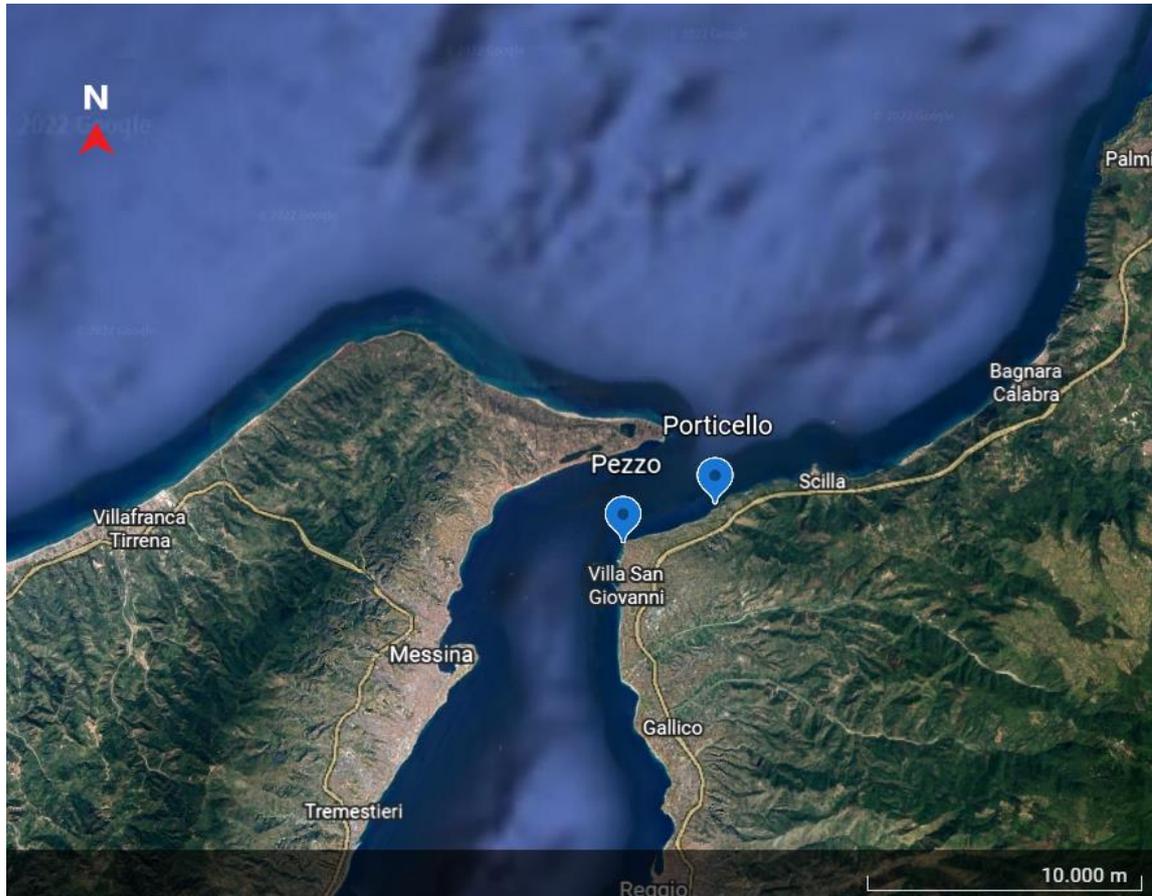


Figura 24. Inquadramento geografico dei siti in esame lungo la costa di Villa San Giovanni (RC) [Fonte: Google Earth].

Entrambi i siti sono caratterizzati da sabbia grossolana in riva al mare (*coarse sand*) e più fine verso l'interno della spiaggia (*fine sand*), come si vede dalle foto in Figura 25 e Figura 26.

Tuttavia, la composizione granulometrica in prossimità della battigia e della zona intertidale varia sensibilmente, a causa del trasporto solido associato all'oscillazione dell'altezza di marea e al verificarsi di eventi meteorologici significativi.



Figura 25. Spiaggia di Porticello, situata a Nord-Ovest del comune di Villa San Giovanni (RC).



Figura 26. Spiaggia di Pezzo, in prossimità del centro abitato e del porto di Villa San Giovanni (RC).

Come si vede in Figura 24, la frazione di Pezzo si trova in un punto interno allo Stretto di Messina, mentre Porticello si affaccia sullo spicchio di mare aperto a Nord-Ovest della città.

Questo fa sì che il clima meteo-marino vari sensibilmente tra le due località in esame: il sito di Porticello è spesso soggetto a un forte vento e ad una repentina variazione delle correnti.

Al contrario, il regime del moto ondoso che caratterizza la spiaggia di Pezzo è più stabile e, benché sia anche questa una zona interessata da forti correnti marine, la vicinanza alla Sicilia e la presenza del centro abitato subito a monte la rendono una zona meno esposta al vento.

Tali peculiarità meteo-marine giustificano la presenza di due costruzioni marittime differenti, volte a contrastare l'erosione costiera che interessa tutto il litorale interno allo Stretto.

A Porticello è presente un pennello (Figura 27) disposto ortogonalmente alla linea di costa, in quanto la direzione prevalente di arrivo del moto ondoso è trasversale, con un'inclinazione di circa 45° rispetto alla riva.

A Pezzo è presente una costruzione a barriera parallela alla costa (Figura 28), poiché qui le onde giungono in direzione perpendicolare, causando l'asportazione dei sedimenti e quindi l'erosione del tratto di spiaggia verso monte.

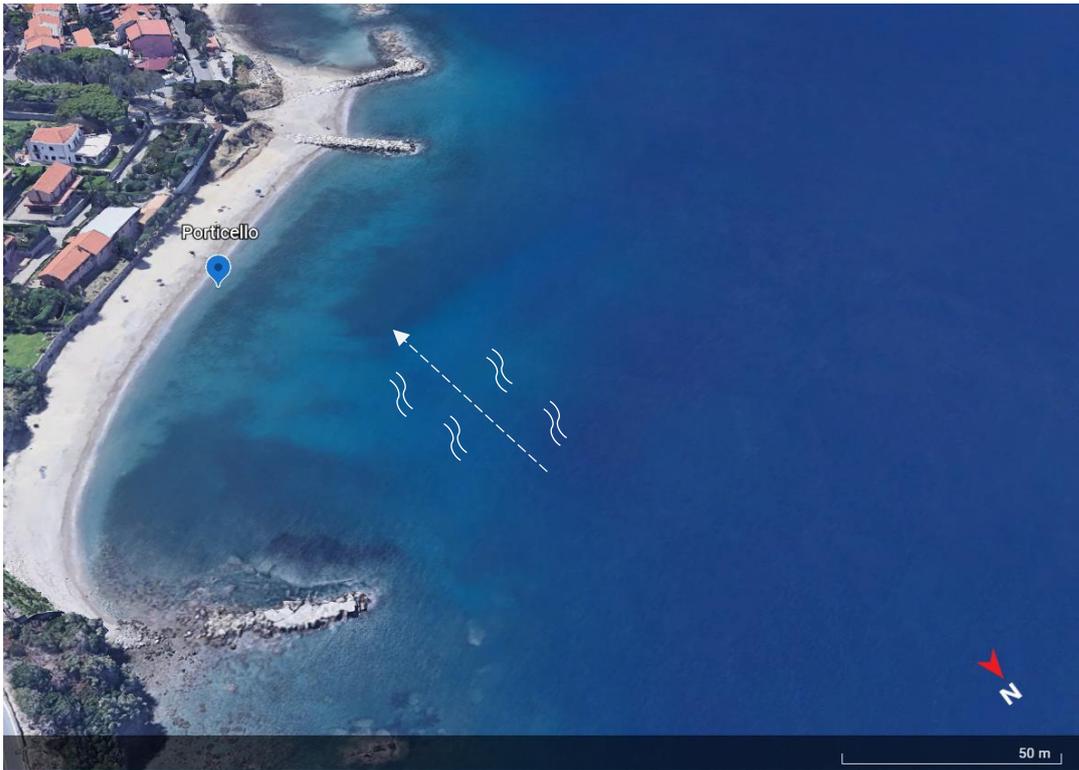


Figura 27. Linea di costa e costruzioni marittime presso la spiaggia di Porticello ($38^{\circ}14'33''\text{N}$, $15^{\circ}40'25''\text{E}$) [Fonte: Google Earth]. La freccia indica la direzione principale di incidenza del moto ondoso rispetto alla linea di costa.

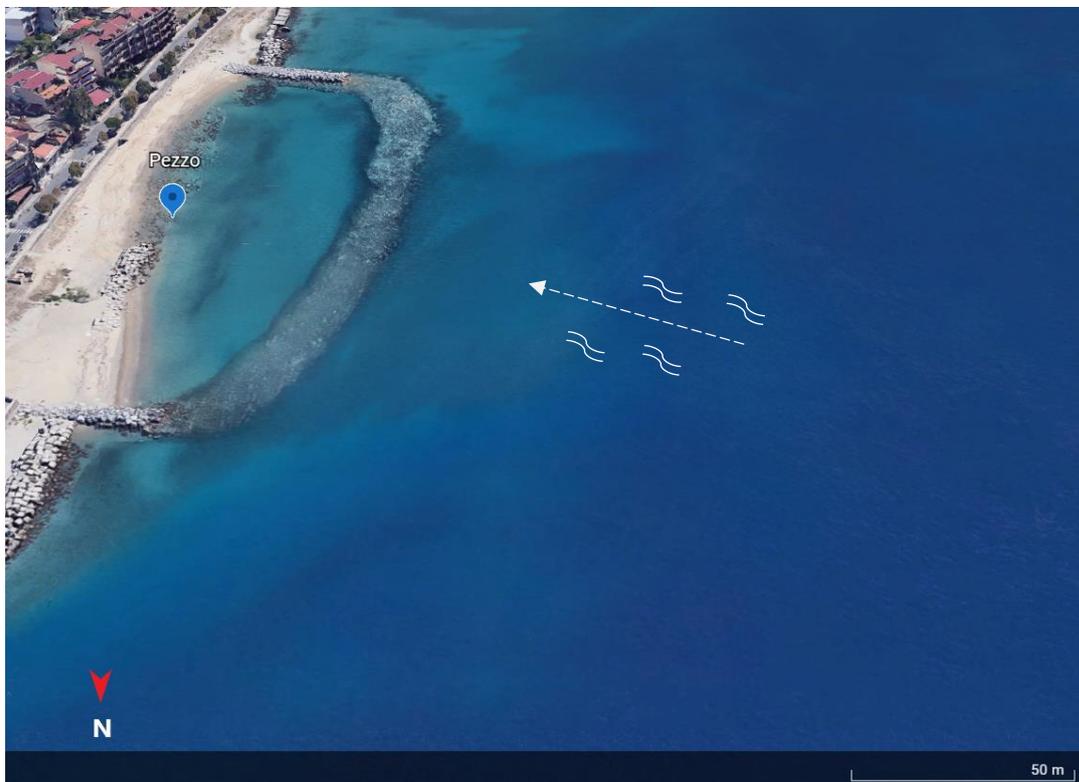


Figura 28. Linea di costa e costruzioni marittime presso la spiaggia di Pezzo ($38^{\circ}13'46''\text{N}$, $15^{\circ}38'07''\text{E}$) [Fonte: Google Earth]. La freccia indica la direzione di incidenza del moto ondoso rispetto alla linea di costa.

Da un punto di vista morfologico, Porticello è caratterizzato da un profilo di costa pressoché rettilineo, mentre la spiaggia di Pezzo presenta una leggera configurazione a conca.

La spiaggia di Porticello è lunga 240 m in direzione Nord-Est e larga 24 m in direzione Sud-Ovest; secondo lo stesso riferimento geografico, Pezzo è lunga 218 m, ma ha una larghezza variabile.

In corrispondenza dell'area di campionamento la spiaggia è larga circa 15 m.

I siti sono stati scelti in funzione della loro localizzazione, delle caratteristiche delle spiagge dal punto di vista morfologico e marino e dell'uso del territorio, al fine di considerare nell'analisi l'influenza dell'impatto antropico.

La spiaggia di Pezzo dista 700 m dal Porto di Villa San Giovanni: il tratto di mare è interessato da un intenso traffico di imbarcazioni mercantili e di trasporto passeggeri. Queste, come detto in precedenza, favoriscono l'accumulo del marine litter lungo la costa attraverso il rilascio, volontario o accidentale, di rifiuti in mare. La vicinanza alle imbarcazioni e la presenza del lungomare di Cannitello, luogo di passaggio sia pedonale che veicolare, rende Pezzo un luogo poco frequentato durante i mesi estivi a livello balneare.

Al contrario, Porticello è una spiaggia estremamente affollata nei mesi di luglio e agosto: la zona è ricca di residenze e abitazioni vicinissime al mare, che si popolano soltanto nei mesi estivi. Benché sia più periferica rispetto a Pezzo, è facilmente raggiungibile in 10 minuti di macchina dal centro città.

7.2 Campionamento in sito

Per entrambi i siti in esame i campionamenti sono stati fatti prima e dopo l'estate, precisamente il 12/06/2021 e il 25/09/2021, adottando la stessa procedura e gli stessi criteri nella scelta dei punti di prelievo.

Per lo schema di campionamento si è preso come riferimento il documento “Linee Guida per il Monitoraggio del marine litter nei mari europei” (*Commissione Europea, 2013*), che costituisce il primo passo verso la standardizzazione del campionamento delle microplastiche nelle sabbie (*Hanke et al., 2013*). Si suggerisce la raccolta di almeno 5 campioni (ciascuno di 250 g), distanti almeno 5 metri l'uno dall'altro e raccogliendo i sedimenti ad una profondità minima di 5 cm.

Il documento distingue tra piccole microplastiche (1 mm-20 µm) e grandi microplastiche (5 mm-1 mm). Le prime sono campionabili prelevando i sedimenti con un cucchiaino di

metallo, le seconde si possono ottenere campionando diversi chilogrammi di sedimenti, da ridurre direttamente in sito mediante un setaccio da 1 mm. Le Linee Guida europee suggeriscono, inoltre, anche la frequenza (1-2 volte al mese) e i tempi (stagionali) per il campionamento di sedimenti sulle spiagge, soprattutto quando si intende eseguire indagini annuali e condotte su più siti contemporaneamente.

In questo lavoro di tesi i campioni sono stati prelevati tutti con la stessa modalità, senza distinguere tra grandi e piccole microplastiche. Tuttavia, si è scelto di seguire uno schema preciso di campionamento, come descritto in seguito.

In totale sono stati raccolti 16 campioni, 8 a Porticello e 8 a Pezzo (rispettivamente 4 a giugno e 4 settembre), coprendo un'area di campionamento complessivamente pari a 240 m² per Porticello e 180 m² per Pezzo. Il peso netto medio di ciascun campione al momento del prelievo è di circa 225 g, quindi sono stati raccolti 1,8 kg per spiaggia (900 g a giugno e 900 g a settembre).

Il prelievo dei campioni è avvenuto lungo ognuna delle quattro linee rosse rappresentate in Figura 29 e in Figura 30, idealmente tracciate a distanza nota dalla linea di costa.

I sedimenti sono stati raccolti utilizzando un cucchiaio in metallo e riposti all'interno di barattoli in vetro di uguale volume e dimensioni, chiusi con tappo di alluminio.

Per ciascuna linea rossa, il prelievo è avvenuto in 4 punti casuali: in ciascun punto si sono effettuate due ripetizioni, la prima volta campionando in superficie e la seconda ad una profondità variabile di 10-15 cm.



Figura 29. Schema di campionamento per il sito di Porticello.



Figura 30. Schema di campionamento per il sito di Pezzo.

I barattoli contenenti la sabbia sono stati conservati alla temperatura di circa 15° C, fino al trasporto in laboratorio.

Nell'esecuzione del campionamento sono stati indossati guanti in nitrile e indumenti in cotone per evitare la contaminazione a causa del vento: per lo stesso motivo, la sequenza

di campionamento si è svolta muovendosi, lungo le linee di riferimento, nella direzione opposta a quella da cui soffiava il vento.

La tecnica di campionamento adoperata è quella del campionamento *a volume ridotto*: i campioni di sabbia sono stati sottoposti a separazione granulometrica per mezzo di setacciatura a secco, durante la fase preliminare delle analisi di laboratorio.

7.3 Analisi di laboratorio

Come evidenziato nel par. 5.3, durante le analisi in laboratorio sono state prese tutte le misure di controllo necessarie al fine di evitare la contaminazione dei campioni da parte dell'operatore e dell'ambiente circostante.

Si è provveduto ad indossare un camice da laboratorio e guanti in nitrile nella manipolazione dei campioni; si è evitato l'utilizzo di qualsiasi oggetto in plastica.

Le superfici di lavoro, i contenitori in vetro (*becher*) e in alluminio, gli strumenti (setacci in acciaio, apparato di filtrazione in vetro, vetrini di Petri) e gli utensili (pinze e cucchiari in acciaio) sono stati puliti con acqua distillata e successivamente disinfettati con etanolo.

Si è cercato di ridurre al minimo lo spostamento dei campioni che, durante i tempi di attesa tra due fasi successive del trattamento, sono stati coperti con foglio di alluminio (anche questi opportunamente puliti prima dell'uso).

In Figura 31 sono schematizzate le fasi sperimentali in cui si è svolto questo lavoro di tesi. Per ciascuna fase, sono state adottate le tecniche più ampiamente descritte e documentate dalle indagini scientifiche sulle microplastiche nei sedimenti sabbiosi.

Gli step di lavoro sono descritti singolarmente e nel dettaglio nei paragrafi successivi.

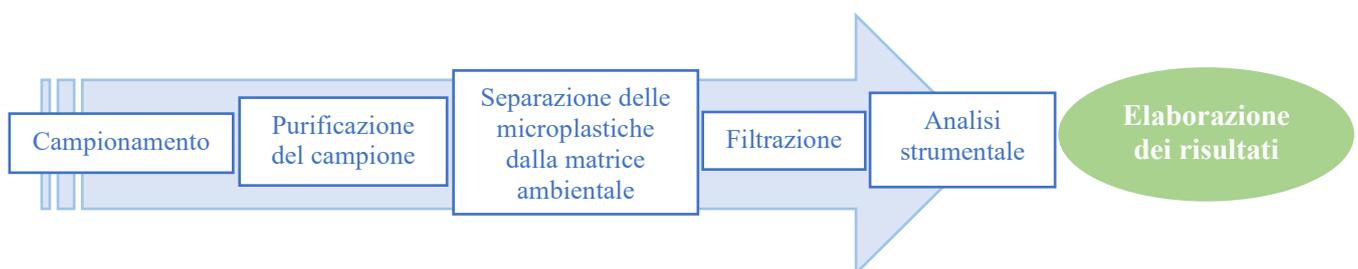


Figura 31. Fasi sperimentali nell'analisi delle microplastiche nei campioni ambientali.

7.3.1 Classificazione granulometrica

Il primo step di lavoro in laboratorio è stata la classificazione granulometrica dei campioni di sabbia prelevati in sito. Essa consiste nel separare tra loro elementi di dimensioni assortite (grani o particelle), mediante il passaggio di tali elementi attraverso superfici a fori calibrati, i setacci (Figura 32).



Figura 32. Setacci in acciaio inossidabile.

Ai fini dell'analisi i setacci sono disposti su una setacciatrice meccanica (Figura 33), incastrati uno sopra l'altro, con apertura dei fori decrescente dall'alto verso il basso: il passaggio attraverso ciascun setaccio è possibile solo per i grani di sabbia con dimensione inferiore rispetto a quella dei fori del setaccio (*mesh*). L'ultimo setaccio è privo di aperture in quanto funge da fondo di raccolta del materiale.



Figura 33. Setacciatrice meccanica utilizzata per la classificazione granulometrica dei campioni in laboratorio.

L'avvio dello strumento avviene dopo aver chiuso la colonna di setacci con un tappo ad incastro, opportunamente fissato ai sostegni laterali.

Il passaggio del materiale attraverso i fori è favorito dalle vibrazioni dello strumento: la potenza della vibrazione deve essere impostata in funzione del peso del materiale da separare.

La frequenza e il numero di giri devono essere tali da permettere che tutto il materiale, all'interno di ogni setaccio, entri in contatto con la superficie vagliante così da favorire il passaggio dei grani di dimensione inferiore verso il setaccio sottostante, aumentando così l'efficacia della separazione.

Per ognuno dei siti in esame si è scelto di accorpare i campioni prelevati lungo le linee A e B, C e D (Figura 29 e Figura 30), ottenendo 4 campioni per spiaggia, due per il mese di giugno e due per il mese di settembre. I campioni risultanti da tale accorpamento saranno d'ora in poi indicati con le diciture AB e CD (Tabella 4), fatta eccezione per il campione C prelevato sulla spiaggia di Pezzo a giugno.

Questo, infatti, non è stato unito al campione D fatto durante lo stesso prelievo, in quanto il campione D (245 g) è stato utilizzato come campione di prova per validare la metodologia di lavoro, da applicare a tutti i campioni.

Ai fini dell'elaborazione dei risultati, la scelta di unire i campioni permette di evidenziare l'influenza delle correnti marine e del vento nella distribuzione delle microplastiche e delle fibre. In tal modo si pone l'attenzione su due zone della spiaggia: quella della battigia (*foreshore* o zona intertidale, definita dalle linee di alta e bassa marea) e quella retrostante (*backshore*), illustrate in Figura 34.

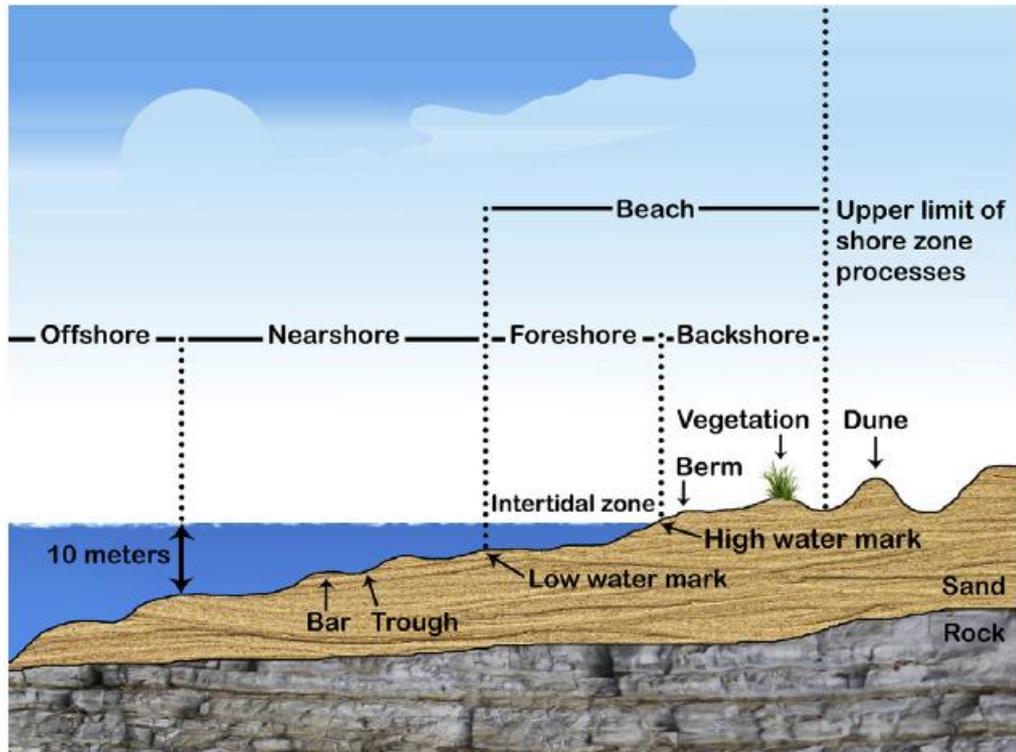


Figura 34. Profilo di spiaggia longitudinale: zonazione caratteristica [Crawford & Quinn, 2017].

Le microplastiche inizialmente si depositano nella zona intertidale trasportate dal mare, poi vengono trasportate dall'azione dell'alta marea e del vento verso l'interno della spiaggia, dove è sovente documentata una concentrazione maggiore di microplastiche negli strati più profondi di sedimento (Turra et al., 2014, Hidalgo-Ruz et al., 2013).

Altre indagini, come Peter V. et al., 2021, non evidenziano gli stessi risultati e giustificano tale discordanza col fatto che la distribuzione delle microplastiche lungo la spiaggia varia a seconda delle zone campionate e della morfologia del sito in esame.

Prima della setacciatura ciascun campione è stato essiccato in forno alla temperatura costante di 40°C, fino al raggiungimento del peso secco (Tabella 4), al fine eliminare ogni residuo di umidità.

In letteratura i valori di temperatura massima suggeriti sono 60 °C (Munno et al., 2018), per non incorrere nella degradazione delle microplastiche, in particolare delle microsferiche (microbeads), oppure un valore ancora più cautelativo di 50 °C (Koelmans et al., 2019).

Tabella 4. Peso secco dei campioni prelevati in sito.

PORTICELLO			
GIUGNO		SETTEMBRE	
AB foreshore	CD backshore	AB foreshore	CD backshore
410,7 g	481,6 g	376,5 g	365,6 g
PEZZO			
GIUGNO		SETTEMBRE	
AB foreshore	C backshore	AB foreshore	CD backshore
449,8 g	246,7 g	417,6 g	371,8 g

I setacci impiegati per la classificazione granulometrica hanno dimensione di 1, 0.5, 0.25 mm.

Da ciascun campione setacciato sono stati ottenuti tre sottocampioni (Figura 35).

Dunque, sono 24 i campioni in totale (12 per il sito di Porticello e 12 per il sito di Pezzo), che sono stati destinati alle fasi successive del trattamento.



Figura 35. Esempio di sottocampioni (a), (b) e (c), ottenuti dalla setacciatura del campione iniziale.

I sottocampioni *a* e *b* indicano rispettivamente il materiale trattenuto ai setacci 1 mm e 0.5 mm; il sottocampione *c* è composto dai sedimenti trattenuti al setaccio 0.25 mm e da quelli passanti a tale setaccio, cioè il materiale depositatosi sul fondo. I campioni ottenuti dalla classificazione granulometrica sono riportati in Tabella 5 e Tabella 6.

Il peso totale di ciascun campione tiene conto delle perdite di materiale durante la setacciatura, che sono dovute al maneggiamento dei campioni e comunque contenute (<0,4% del peso iniziale).

Tabella 5. Peso secco dei 12 campioni ottenuti dalla setacciatura per la spiaggia di Porticello.

PORTICELLO GIUGNO						
Campioni	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	409			478,3		
Classi granulometriche (mm)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)
>1	116	28,36	50	43,7	9,14	43,7
1-0.5	161,7	39,54	50	249,4	52,14	50
0.5-0.25, <0.25	131,3	32,10	50	185,2	38,72	50
PORTICELLO SETTEMBRE						
Campioni	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	373,1			363,2		
Classi granulometriche (mm)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)
>1	49,1	13,16	49,1	31,3	8,62	31,3
1-0.5	182	48,78	50	173,3	47,71	50
0.5-0.25, <0.25	142	38,06	50	158,6	43,67	50

Tabella 6. Peso secco dei 12 campioni ottenuti dalla setacciatura per la spiaggia di Pezzo.

PEZZO GIUGNO						
Campioni	AB foreshore			C backshore		
Peso totale (g)	449,11			246,1		
Classi granulometriche (mm)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)
>1	45,78	10,19	45,78	11,9	4,84	11,9
1-0.5	229,83	51,17	50	85,36	34,69	50
0.5-0.25, <0.25	173,5	38,63	50	148,84	60,48	50
PEZZO SETTEMBRE						
Campioni	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	414,23			369,61		
Classi granulometriche (mm)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)	Peso (g)	Peso (%)	Sottocampioni a,b,c (g)
>1	11,9	11,9	50	17,56	4,75	17,56
1-0.5	50	50	50	131	35,44	50
0.5-0.25, <0.25	50	50	50	221,05	59,81	50

Validazione metodologia

La separazione granulometrica in classi permette di confrontare i risultati ottenuti in riferimento all'assortimento dimensionale della matrice campionata, in quanto molte indagini scientifiche supportano l'ipotesi che l'accumulo delle microplastiche nei sedimenti aumenta al diminuire della granulometria, come spiegato nel par. 6.1.1.

Lo stesso approccio è stato seguito in uno studio (*Alomar et al., 2016*) che ha analizzato i sedimenti di due spiagge, allo scopo di evidenziare se la quantità di microplastiche variesse in funzione della granulometria, oltre che dei fattori antropici e meteo-marini sui siti in esame.

Pertanto, si è scelto un campione di prova (spiaggia di Pezzo, mese di giugno, linea C: peso 245 g), che è stato setacciato per conoscere la distribuzione dimensionale dei grani di sabbia.

In Figura 36 è riportata la curva granulometrica cumulata del campione C. In ascissa è indicata la dimensione della maglia dei setacci utilizzati (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.063 mm), mentre in ordinata la percentuale cumulata di materiale passante a ciascun setaccio.

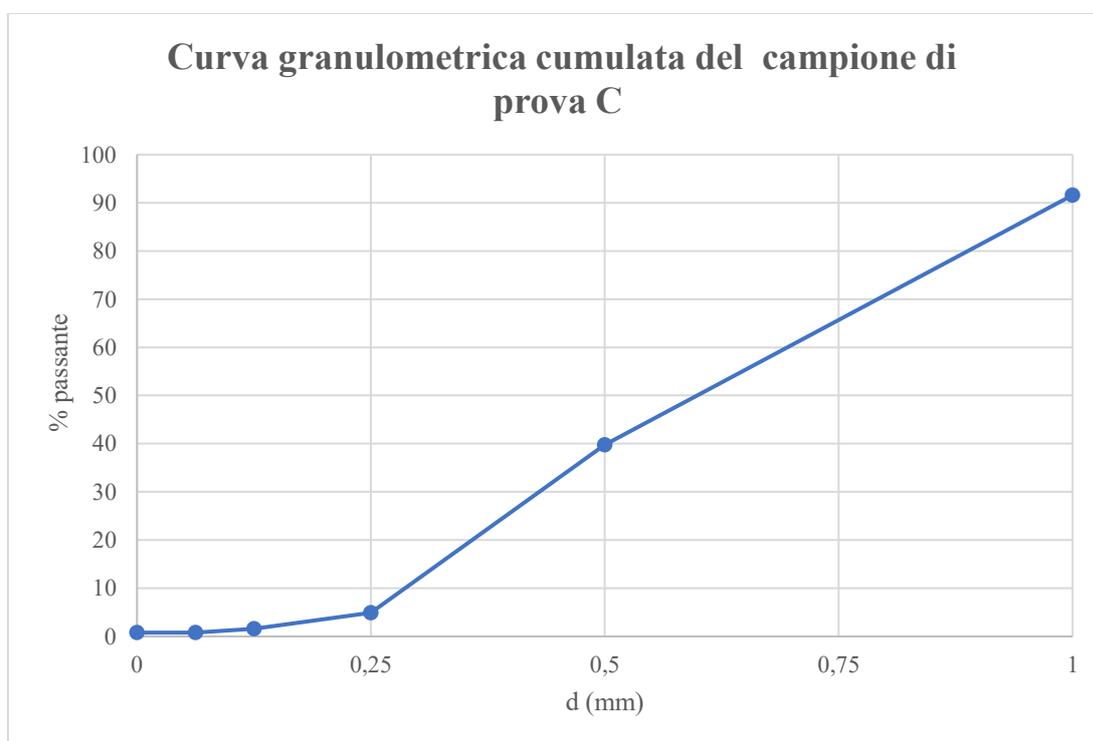


Figura 36. Distribuzione granulometrica caratteristica del campione di prova.

I setacci scelti sono quelli suggeriti da Crawford & Quinn per le sabbie (Tabella 3) ed utilizzati anche da Alomar et al., 2016. I dati relativi alla classificazione granulometrica del campione prova sono riportati in Tabella 7.

Come si vede in Figura 36, la pendenza della retta aumenta significativamente per $d > 0.25$ mm, poiché il 92% del materiale passa attraverso i fori del setaccio più grande (1mm).

La maggior parte dei sedimenti, infatti, vengono trattenuti ai setacci 0.5 (51,8 %) e 0.25 mm (34,85%), che sono risultate essere le classi granulometriche più abbondanti del campione; le classi più fini (0.125, 0.063 mm) a confronto contano poco materiale (11.9 g totali, incluso il setaccio di fondo).

La tabella seguente riporta la massa di sabbia trattenuta su ogni setaccio, sia in peso che in valore percentuale riferito al peso iniziale del campione C; nell'ultima colonna sono indicati i valori di materiale passante cumulato, cioè riferito alla distribuzione dei sedimenti nei singoli setacci.

Tabella 7. Dati relativi alla setacciatura del campione prova.

CAMPIONE PROVA	Pezzo, linea C, giugno		
Peso iniziale (g)	245		
d (mm)	trattenuto (g)	trattenuto (%)	passante cumulato (%)
1	20,3	8,41	91,59
0,5	125	51,80	39,78
0,25	84,1	34,85	4,93
0,125	8	3,32	1,62
0,063	2	0,83	0,79
fondo	1,9	0,79	0,79

Pertanto, si è scelto di accorpare nel sottocampione *c* le frazioni di sedimenti corrispondenti ai range dimensionali $0,5 \text{ mm} > d \geq 0,25 \text{ mm}$ (massa di sedimenti trattenuta al setaccio 0.25 mm) e $d < 0,25 \text{ mm}$ (massa di sedimenti passante al setaccio 0.25 mm). I campioni così ottenuti sono riportati in Tabella 5 e Tabella 6.

L'accorpamento delle frazioni granulometriche più fini permette, inoltre, di ridurre l'errore al microscopio ottico in fase di identificazione visiva delle microplastiche e delle fibre, in quanto lo strumento utilizzato ha un limite strumentale pari 0,1 mm (paragrafo 9.3).

Per ciascuna delle classi granulometriche separate è stato preso un campione massimo di 50 g, nei casi in cui la separazione restituisse una frazione più abbondante di materiale, scartando la quantità in eccesso. Negli altri casi si è conservato il sottocampione così come ottenuto dalla separazione.

I campioni di massa superiore a 50 g, prima di essere ridotti, sono stati rivoltati con un cucchiaio in acciaio per far sì che il campione prelevato fosse rappresentativo del lotto di estrazione, minimizzando l'errore da raggruppamento del materiale che genera delle parti di lotto inaccessibili.

La procedura di separazione granulometrica descritta è stata applicata a tutti i campioni di Tabella 4.

Dopo la setacciatura, ogni sottocampione è stato sottoposto alle fasi di trattamento descritte in seguito.

7.3.2 Rimozione della sostanza organica

Al fine di rimuovere il contenuto di sostanza organica, il campione è stato messo in soluzione con il perossido di idrogeno (H_2O_2) al 15%, successivamente miscelato (Figura 37) tramite agitatore magnetico per 15 min e lasciato reagire per la durata di 24 h (Figura 38).



Figura 37. Miscelazione, tramite agitatore magnetico, dei sedimenti sabbiosi in soluzione con il perossido di idrogeno (15%).

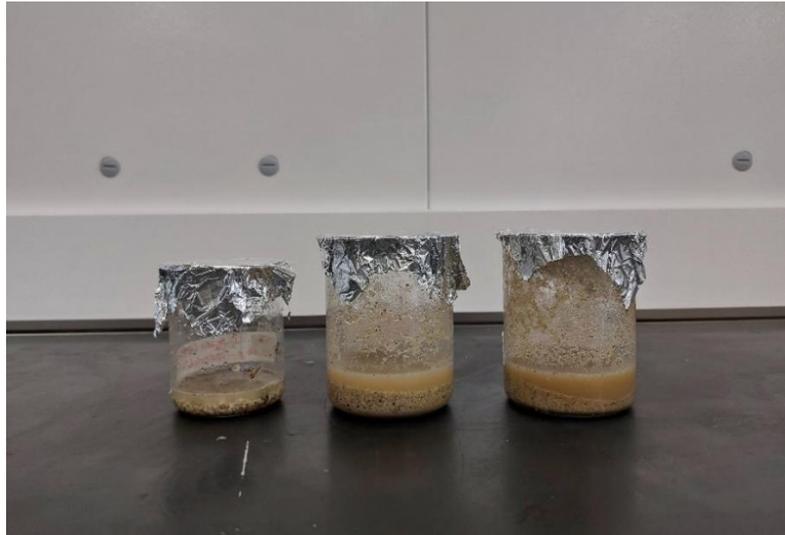


Figura 38. Tre sottocampioni (a), (b) e (c) sotto cappa, in fase di reazione con il perossido di idrogeno (15%).

La miscelazione è necessaria affinché la soluzione entri in contatto con tutta la massa di sedimenti, favorendo la degradazione. I campioni sono stati coperti con un foglio di alluminio, precedentemente pulito e disinfettato, per evitare la contaminazione esterna e per limitare l'evaporazione del perossido a contatto con l'ambiente circostante.

Si è scelto di mantenere un rapporto in volume tra sedimenti e soluzione di 1:1, poiché una quantità maggiore di perossido potrebbe causare una diminuzione della fluorescenza delle microplastiche sotto luce UV, influenzando i risultati della fase di identificazione visiva.

In questa fase di lavoro sono stati indossati degli occhiali protettivi. Il maneggiamento dei campioni in soluzione e del perossido è avvenuto sotto una cappa a flusso laminare, che permette all'operatore di lavorare in sicurezza e di evitare contaminazioni esterne.

La degradazione della sostanza organica può essere eseguita sul campione iniziale prima della separazione densimetrica a mezzo di soluzione salina, oppure dopo tale separazione, direttamente sul filtro essiccato. Quest'ultima soluzione è quella più comunemente adottata in letteratura per l'analisi di microplastiche in campioni di sedimenti (Balestra V., Bellopede R., 2021, Nuelle et al., 2014). Tuttavia, altri studi eseguono la digestione sul campione (Zhang et al., 2019, Peter V. et al., 2021, Matsuguma et al., 2017).

La scelta di una o dell'altra soluzione, come anche la concentrazione di H_2O_2 (che può variare dal 15% al 30%, fino al 35%), dipende sia dal tipo di matrice ambientale in esame, che dal suo contenuto di materiale organico. È stato dimostrato che l'uso del perossido di idrogeno al 30%, per quanto efficace nella rimozione, può rivelarsi troppo aggressivo sulla superficie dei polimeri, tale da comprometterne l'identificazione, o addirittura dissolvere il campione. Ciò vale soprattutto per le fibre (Nuelle et al., 2014, Claessens et al., 2011).

7.3.3 Separazione densimetrica

Lo step successivo alla degradazione della sostanza organica è l'estrazione delle microplastiche dal campione, per mezzo della separazione gravimetrica. Questa consiste nel mettere il campione in un recipiente a contatto con un mezzo liquido di densità intermedia: le componenti del campione caratterizzate da densità superiore a quella del liquido si depositano sul fondo, i materiali più leggeri galleggiano in superficie.

In letteratura, la separazione densimetrica in soluzione salina è il metodo più affidabile e utilizzato per la separazione delle microplastiche dai sedimenti, o dalle sabbie, in quanto la densità del liquido può essere calibrata in funzione delle plastiche che si desidera far flottare (*Crawford & Quinn, 2017*). Queste vengono estratte prelevando il materiale flottato (*supernatante*) dalla superficie del liquido.

Figura 39 mostra un esempio del supernatante raccolto in superficie, dopo l'avvenuta separazione delle microparticelle dai sedimenti, che sono decantati sul fondo del becher.



Figura 39. Separazione gravimetrica di un campione di sedimenti sabbiosi per mezzo di soluzione salina con NaCl.

Si è scelto di adoperare una soluzione satura di cloruro di sodio (NaCl) con densità pari a 1.202 g/cm^3 (200 g NaCl/0.6 l), il cui uso è raccomandato nel report “*Marine Litter: Technical Recommendations for the Implementation of MSFD Requirements*” (*Joint Research Group, 2011*), e documentato nel 65% degli studi sulla presenza di microplastiche nei campioni di sedimenti (*Hidalgo- Ruz V et al., 2012*).

La soluzione con NaCl ha il vantaggio di essere economica e sostenibile da un punto di vista ambientale, a differenza di altri sali con densità maggiore, come il bromuro di zinco o il cloruro di zinco ($ZnBr_2$ e $ZnCl_2$, 1.7 g/cm^3), che sono dannosi per l'ambiente e pericolosi da maneggiare per l'operatore.

Dopo la reazione col perossido, ciascun campione è stato filtrato con un setaccio a $30 \mu\text{m}$ per trattenere la massa di sedimenti e rimuovere la soluzione di H_2O_2 residua. La massa umida trattenuta dal setaccio è stata sciacquata con acqua distillata per eliminare ogni residuo di ossidante, e trasferita all'interno di un becher in vetro con un cucchiaino in acciaio. La soluzione salina, preparata al momento, è stata versata nel becher, in parte direttamente, e in piccola parte rimuovendo i residui di sabbia dal setaccio, così da portarli in soluzione con il resto del campione. Questo si è fatto al fine di limitare le perdite di materiale fine che, nel passaggio da una soluzione all'altra, può restare adesso alla superficie del setaccio. È importante sottolineare che la scelta di effettuare il *cut-off* del campione, sui sedimenti di dimensione inferiori a $30 \mu\text{m}$, non costituisce una limitazione per la successiva fase di identificazione delle microplastiche e delle fibre, in quanto le tecniche di analisi utilizzate presentano un limite strumentale maggiore e precisamente pari a $100 \mu\text{m}$.

Anche in questa fase si è proceduto a miscelare il campione in soluzione, ponendolo su agitatore magnetico per 15 min e lasciandolo sedimentare per 24 h (come suggerito da Balestra V. & Bellopede R., 2021), coperto da un foglio di alluminio.

Il tempo di miscelazione può variare da pochi secondi a 2 ore (CEN ISO/TR 21960:2020), mentre il tempo di decantazione da 2 min a 6 ore (Hidalgo-Ruz V et al., 2012).

La scelta del tempo di miscelazione dipende sia dalla massa del campione, sia dal numero di ripetizioni della procedura, che influisce sull'efficacia di separazione.

In questo studio si è effettuata la separazione una sola volta su ciascun campione: il materiale flottato è stato successivamente filtrato, mentre la sabbia che ha sedimentato sul fondo del becher, in quanto di densità pari a 1.7 g/cm^3 , è stata scartata.

Efficacia della separazione

L'efficacia dell'estrazione delle microplastiche con soluzione salina dipende da più fattori.

- La densità del sale: il cloruro di sodio consente l'estrazione delle tipologie di microplastica più abbondanti in ambiente marino come polietilene, polistirolo espanso e polipropilene; tuttavia, la sua densità (1.2 g/cm^3) esclude dalla separazione plastiche pesanti, come PET (polietilene tereftalato, $1.3-1.5 \text{ g/cm}^3$),

PVC (polivinilcloruro, 1.15-1.7 g/cm³), PC (policarbonato, 1.15-1.52 g/cm³) e PTFE (politetrafluoroetilene, 2.10-2.20 g/cm³) (Crawford & Quinn, 2017).

Dunque, solo alcuni dei materiali plastici elencati in Tabella 2 è possibile estrarre con NaCl e sono indicati in Tabella 8.

Tabella 8. Microplastiche separabili dal campione tramite soluzione salina con NaCl (1.2 g/cm³) [Crawford & Quinn, *Microplastic pollutants*, 2017].

PLASTICA	Abbreviazione	Densità (g/cm³)
Polystyrene (expanded foam)	EPS	0.01–0.05
Polystyrene (extruded foam)	XPS	0.03–0.05
Polychloroprene (neoprene) (foamed)	CR	0.11–0.56
Polypropylene (impact modified)	PP	0.88–0.91
Polypropylene (homopolymer)	PP	0.90–0.91
Polypropylene (copolymer)	PP	0.90–0.91
Low-density polyethylene	LDPE	0.92–0.94
Linear low-density polyethylene	LLDPE	0.92–0.95
High-density polyethylene	HDPE	0.94–0.97
Polypropylene (10–20% glass fibre)	PP	0.97–1.05
Polystyrene (high heat)	PS	1.04–1.05
Acrylonitrile butadiene styrene (high impact)	ABS	1.00–1.10
Acrylonitrile butadiene styrene (high heat)	ABS	1.00–1.15
Nylon 6,6 (impact modified)	PA	1.05–1.10
Acrylonitrile butadiene styrene	ABS	1.03–1.21
Nylon 6	PA	1.12–1.14
Nylon 6,6	PA	1.13–1.15
Poly(methyl methacrylate) (impact modified)	PMA	1.10–1.20
Polycarbonate (high heat)	PC	1.15–1.20
Acrylonitrile butadiene styrene (flame retardant)	ABS	1.15–1.20
Poly(methyl methacrylate)	PMA	1.17–1.20

- Numero di ripetizioni: in letteratura è spesso documentata l'esecuzione della separazione gravimetrica sul materiale pesante decantato. Questo viene fatto al fine

di non sottostimare i risultati sull'effettiva quantità di microplastiche presenti nel campione, a causa di particelle leggere non flottate con la prima separazione, poiché adese alla superficie di grani più pesanti o perché non adeguatamente entrate in sospensione in fase di miscelazione, e quindi sedimentate.

Thompson et al., 2004 afferma che l'efficacia della soluzione con NaCl, sull'estrazione di microplastiche di polietilene, passa dal 61% della prima separazione all'83% della seconda, raggiungendo il 93% con la terza ripetizione. Invece, il recupero delle microfibre da campioni di sedimenti è un'operazione molto più complessa, la cui riuscita varia in un ampio range (0-98%) (Nuelle et al., 2014).

- Granulometria e forma dei sedimenti: l'efficacia complessiva dell'estrazione può raggiungere l'80-100% rispetto a tutte le microplastiche presenti nel campione. Tuttavia, la percentuale si dimezza (40%) per le mini-microplastiche, in particolare nell'intervallo 40-309 μm (*Marine Anthropogenic Litter, 2015*), rispetto a tecniche di separazione gravimetrica più avanzate come l'apparecchiatura MPSS (Munich Plastic Sediment Separator), che realizza il 96 % del recupero anche sulle particelle più piccole (Imhof et al., 2012). Altri autori suggeriscono di migliorare il recupero sulle microplastiche inferiori a 500 μm ripetendo più volte la separazione (Claessens et al, 2013, Nuelle et al., 2014).

Standardizzazione della procedura

Per ottimizzare e rendere confrontabili i risultati dell'analisi su tutti i campioni, la procedura di separazione densimetrica è stata eseguita realizzando le medesime condizioni operative sui sottocampioni di uguale massa e granulometria (Tabella 5 e Tabella 6).

Per massimizzare l'efficacia delle fasi di miscelazione e di sedimentazione, da cui dipende il tasso di recupero delle microplastiche, per tali campioni:

- sono stati utilizzati becher di uguale volume e dimensioni, così da ottenere una distribuzione spaziale analoga della massa di sedimenti all'interno del recipiente sia in fase di miscelazione che di sedimentazione;
- si è mantenuto lo stesso rapporto in volume tra il campione e la soluzione salina.

7.3.4 Filtrazione

In letteratura la separazione delle microplastiche dall'acqua viene generalmente effettuata utilizzando un imbuto, un mezzo filtrante e un sistema a vuoto (*Hildago-Ruz V et al., 2012, Thompson RC et al., 2004*). L'efficacia dell'operazione dipende da due fattori:

- il grado di purezza del campione nei confronti del particolato non oggetto dell'analisi (polvere, detriti), che può intasare la superficie del filtro, ostacolando l'identificazione delle microplastiche;
- la porosità del filtro, che può variare da 1 a 2 μm e da cui dipende la dimensione del particolato trattenuto.

In questo studio, per l'estrazione delle microplastiche dalla soluzione salina, si è utilizzata l'unità di filtrazione a vuoto illustrata in Figura 40. Si tratta di un apparato interamente in vetro, che si compone di una beuta di raccolta del liquido filtrato, sulla quale è incastrato un portafiltro per il posizionamento del mezzo filtrante: una volta poggiato il filtro, si inserisce al di sopra l'imbuto, che è bloccato al portafiltro tramite una pinza.



Figura 40. Apparato di filtrazione a vuoto utilizzato in laboratorio per la filtrazione del supernatante.

Il portafiltro presenta una coda forata per il collegamento ad un sistema in pressione (solitamente una pompa ad acqua), che serve a creare la condizione di sottovuoto all'interno della beuta. In tal modo il campione liquido, versato nell'imbuto superiore, passa attraverso il filtro che trattiene le particelle solide, mentre la matrice liquida si raccoglie nella beuta inferiore, grazie al raccordo portafiltro che si connette al vuoto.

Per ciascun campione il materiale flottato, a seguito della separazione densimetrica, è stato prelevato dalla superficie del liquido per mezzo di una pipetta da laboratorio in vetro, e

trasferito su filtro Whatman in microfibra di vetro (porosità 1.2 μm , diametro 47 mm), come suggerito da Balestra e Bellopede 2021.

La pipetta, costituita da un tubo in vetro graduato e di forma cilindrica, permette di trasferire un volume di liquido noto da un recipiente all'altro. Le estremità del cilindro sono una punta forata, attraverso cui passa il liquido prelevato, e un becco cui viene applicata la propipetta, ovvero un bulbo in gomma che permette di aspirare il liquido e di rilasciarlo sul filtro (rispettivamente mettendo in depressione e in pressione il volume all'interno del tubo).

In questo studio, per la filtrazione si è utilizzata una pipetta da 10 ml con sensibilità 0.1 ml, come quella illustrata in Figura 41.

Anche in questo caso, la procedura di filtrazione è stata standardizzata prelevando lo stesso volume di liquido su campioni di uguale massa e granulometria, al fine di rapportare i risultati dell'analisi a parità di supernatante filtrato.

Dopo la filtrazione, ciascun filtro è stato disposto su un dischetto di Petri in vetro (Figura 42), coperto con un foglio di alluminio ed essiccato in forno a 40° C per la durata di 24 h.

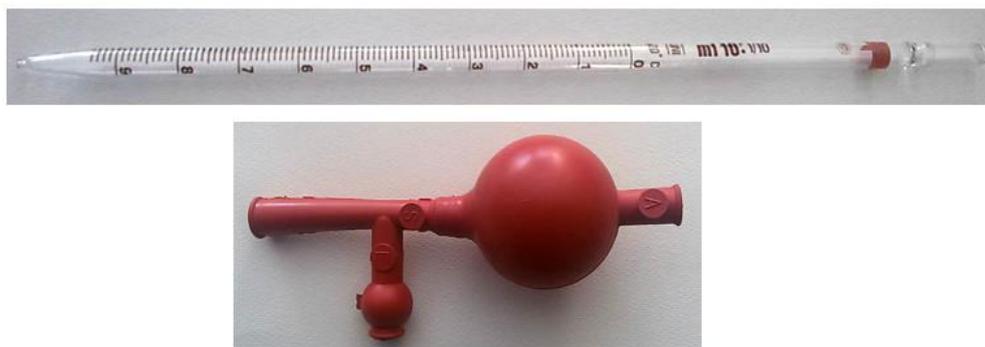


Figura 41. Pipetta in vetro da laboratorio e propipetta in gomma.

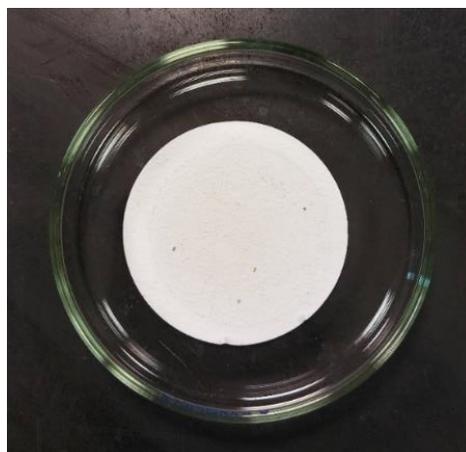


Figura 42. Filtro su vetrino di Petri.

8 Identificazione delle microplastiche e delle fibre tramite fluorescenza

In questo lavoro di tesi, il metodo utilizzato per la quantificazione delle microplastiche e delle fibre tessili si basa sulla loro caratteristica di fluorescenza, quando esposte a luce ultravioletta.

La maggior parte delle materie plastiche è in grado di assorbire luce UV (300-400 nm) ed emettere luce viola (400-450 nm) oppure blu (450-480 nm). Tale proprietà non dipende dalla composizione polimerica della plastica, ma dall'aggiunta di agenti sbiancanti fluorescenti in fase di lavorazione industriale (*Qiu et al., 2015*).

L'utilizzo di tali agenti (FWA, *Fluorescent Whitening agents*) serve a limitare l'ingiallimento nel tempo delle plastiche e a migliorarne l'aspetto visivo: infatti, si ha soprattutto nella lavorazione di plastiche riciclate, che sono giallastre e opache. Il risultato è l'aumento di luminosità sotto un fascio di luce UV, che rende possibile l'utilizzo di un microscopio a fluorescenza per l'identificazione delle microplastiche contenute nei campioni ambientali.

L'analisi in fluorescenza, tuttavia, presenta dei limiti che possono tradursi in una sottostima o sovrastima delle microplastiche nel campione in esame. Questo è dovuto sia al fatto che non tutte le plastiche sono addizionate con FWA, sia al fatto che essi sono usati anche nella produzione di carta e di fibre artificiali. Questo genera ambiguità negli studi incentrati sull'analisi delle microplastiche nei campioni ambientali, portando ad errori di identificazione e quantificazione.

Essendo il microscopio a fluorescenza uno strumento molto costoso e non disponibile in tutti i laboratori, l'analisi delle microplastiche in fluorescenza può avvenire anche utilizzando una semplice torcia UV, come suggerito da Ehlers et al., 2020.

8.1 Acquisizione delle foto sui filtri sotto fascio di luce UV

L'identificazione visiva delle microplastiche e delle fibre contenute nei campioni in esame è avvenuta tramite analisi di immagine. I filtri, essiccati dopo la separazione densimetrica, sono stati irradiati in ambiente buio con una torcia UV Alonfire SV 10 (365 nm, 5W) (Figura 43) e fotografati tramite smartphone. Lo smartphone utilizzato è un Samsung Galaxy A52s 5g: fotocamera principale Sony IMX682 Exmor RS da 64 MP, risoluzione 9238x6928, apertura focale $f/ 1.8$. Durante tutta la procedura di acquisizione delle foto sono stati indossati occhiali protettivi da raggi UV (Figura 43).

Per riprodurre le medesime condizioni di scatto su ciascun filtro si sono utilizzati due supporti: uno per la torcia, posizionata con un'inclinazione di 45° rispetto alla superficie del filtro; uno per lo smartphone, disposto ad altezza nota e in direzione orizzontale, quindi con l'obiettivo della fotocamera parallelo al piano di appoggio del filtro.

Le impostazioni di scatto selezionate per ciascuna foto sono le seguenti:

- zoom 1x
- livello di luminosità -4.0
- timer 2 secondi
- formato 1:1



Figura 43. Torcia a luce UV ed occhiali protettivi utilizzati durante l'acquisizione delle foto sui filtri.

Le foto scattate sui 24 filtri (Allegato I, pag. 99), ottenuti dal trattamento dei campioni in laboratorio, sono state analizzate in due modi, al fine di identificare e quantificare le microplastiche e le fibre tessili:

1. visivamente tramite ingrandimento al PC;
2. in modo automatico tramite programma di calcolo.

Come spiegato al paragrafo 4.1, le indagini sulle microplastiche nei campioni ambientali confermano la compresenza di fibre tessili artificiali e fibre tessili naturali.

Spesso la popolazione di fibre caratteristica del campione è costituita da una componente preponderante di fibre naturali, benché l'inquinamento da fibre sintetiche sia oramai notoriamente cospicuo in tutte le matrici ambientali (Stanton *et al.*, 2019).

Poiché anche le fibre tessili non sintetiche sono fluorescenti se esposte a luce UV, i risultati ottenuti con l'analisi visiva vengono espressi come numero n di microparticelle (Mp) per unità di peso secco del campione (nMp/kg), riferito all'insieme di tutte le categorie di

microplastiche (frammenti, sfere, film, etc.), incluse le microfibre, più le fibre di origine naturale o artificiale non sintetica.

In Figura 44 sono illustrati due esempi di foto su filtro sotto luce UV.

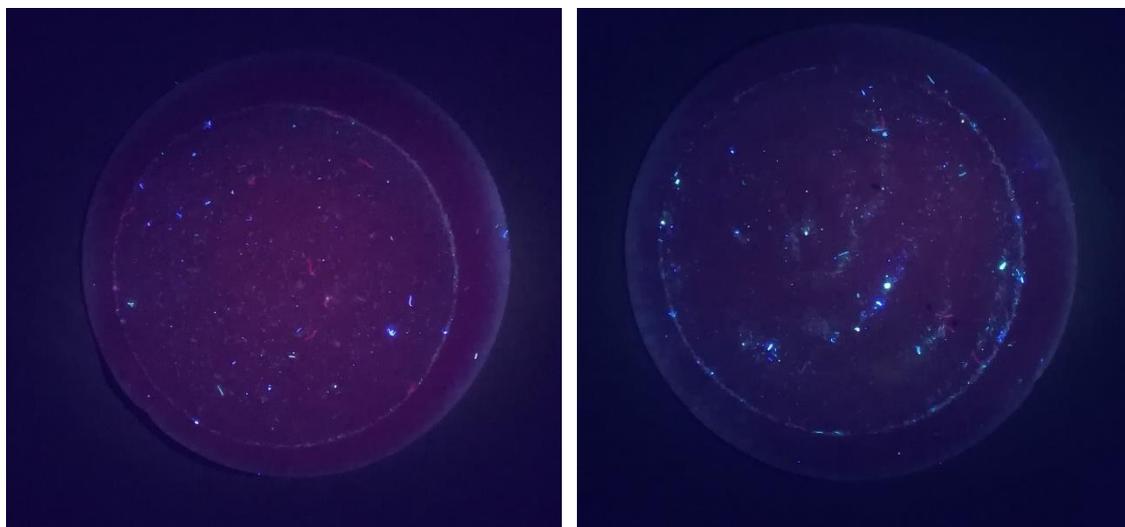


Figura 44. Filtri fotografati sotto torcia a luce UV.

9 Analisi di immagine e risultati

9.1 Conteggio visivo tramite ingrandimento su immagine

Il primo metodo, applicato per la quantificazione visiva delle microplastiche e delle fibre tessili contenute nei campioni, è la visualizzazione e l'ingrandimento di immagine su ciascuna foto al computer. I criteri seguiti nell'identificazione sono quelli descritti al par. 6.3.4. I risultati per i siti di Porticello e Pezzo sono riportati rispettivamente in Tabella 9 e Tabella 10.

La riga in verde indica, per i campioni iniziali (zona foreshore AB, zona backshore CD), la concentrazione totale di microplastiche e fibre (nMp/kg). Questa è stata calcolata come media ponderata tra le quantità di microparticelle presenti in ciascuno dei tre sottocampioni (riga in grigio), in riferimento al peso percentuale di ogni sottocampione rispetto al campione iniziale.

Tabella 9. Numero di microplastiche e di fibre tessili identificate per il sito di Porticello.

PORTICELLO GIUGNO						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	409			478,3		
N° particelle totale (nMp)	332			348		
Concentrazione totale (nMp/kg)	812			729		
CLASSI GRANULOMETRICHE (MM)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Peso (g)	116	161,7	131,3	43,7	249,4	185,2
Peso (%)	28,36	39,54	32,10	9,14	52,14	38,72
Concentrazione (nMp/kg)	940	780	740	778	1040	300
PORTICELLO SETTEMBRE						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	373,1			363,2		
N° particelle totale (nMp)	289			482		
Concentrazione totale (nMp/kg)	775			1327		
CLASSI GRANULOMETRICHE (MM)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Peso (g)	49,1	182	142	31,3	173,3	158,6
Peso (%)	13,16	48,78	38,06	8,62	47,71	43,67
Concentrazione (nMp/kg)	631	780	820	4153	1300	800

Tabella 10. Numero di microplastiche e di fibre tessili identificate per il sito di Pezzo.

PEZZO GIUGNO						
CAMPIONI	AB foreshore			C backshore		
Peso totale (g)	449,11			246,1		
N° particelle totale (nMp)	447			348		
Concentrazione totale (nMp/kg)	995			1086		
CLASSI GRANULOMETRICHE (MM)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Peso (g)	45,78	229,83	173,5	11,9	85,36	148,84
Peso (%)	10,19	51,17	38,63	4,84	34,69	60,48
Concentrazione (nMp/kg)	2337	740	980	2016	760	1200
PEZZO SETTEMBRE						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Peso totale (g)	414,23			369,61		
N° particelle totale (nMp)	289			482		
Concentrazione totale (nMp/kg)	606			1116		
CLASSI GRANULOMETRICHE (MM)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Peso (g)	137,14	215,88	61,21	17,56	131	221,05
Peso (%)	33,11	52,12	14,78	4,75	35,44	59,81
Concentrazione (nMp/kg)	480	660	700	1195	1640	800

9.2 Conteggio automatico su Matlab

Il conteggio visivo su immagine, oltre ad essere una tecnica molto soggetta ad errori di valutazione da parte dell'esaminatore, richiede molto tempo e quindi risulta poco pratica quando i filtri da esaminare sono numerosi. Lo stesso vale per l'analisi dei filtri tramite microscopia ottica.

Pertanto, allo scopo di automatizzare il processo di quantificazione, si è svolta l'identificazione delle microplastiche e delle fibre su Matlab, che ha determinato il numero di microparticelle su ogni foto in base al numero delle fluorescenze.

Matlab è una piattaforma di programmazione e calcolo numerico, utilizzata in ambito scientifico per lo sviluppo di algoritmi, la creazione di modelli matematici e l'analisi di dati. Quest'ultima, in particolare, si basa su una gran varietà di strumenti che semplificano l'importazione, la visualizzazione e l'elaborazione dei dati in esame (www.mathworks.com).

Il codice di calcolo (*script*) utilizzato in questo lavoro di tesi è stato elaborato dal Professore Alberto Cina (Politecnico di Torino), per il calcolo della superficie occupata su ciascuna foto dalle fluorescenze; il Dott. Peter Costanzo (Politecnico di Torino) ha poi implementato lo script, per ottenere la funzione del conteggio automatico delle fluorescenze rilevate.

9.2.1 Calcolo della superficie occupata da microplastiche e fibre e loro quantificazione

Il programma analizza i pixel di ciascuna foto in base alla soglia di colore RGB (Red, Green, Blue) e alla soglia di grigi. Entrambe sono preimpostate dall'utente e modificabili, ed assumono valori compresi nell'intervallo 0-255. In base al valore assegnato a ciascuna soglia dall'utente, il programma individua le superfici fluorescenti sulle foto classificandole come microplastiche: in particolare, quando un pixel ha un colore il cui valore di soglia corrispondente ricade nel range impostato dall'utente, il pixel viene restituito come bianco e contato; se il colore è al di fuori del range, viene restituito come pixel nero ed escluso dal conteggio.

Questa funzione di calcolo, quindi, sfrutta la fluorescenza di microplastiche e fibre, che sotto luce UV risultano principalmente di colore blu e verde. È necessario effettuare delle prove con diversi valori di RGB, al fine di trovare quelle che descrivono il contenuto reale di microplastiche e fibre del campione.

Matlab alla fine del calcolo produce uno script con i risultati del conteggio ed elabora una foto in bianco e nero, dove i pixel in bianco sono le microparticelle identificate e contate. Dal momento che il programma effettua l'analisi sia rispetto alla scala di colori RGB che rispetto alla scala dei grigi, lo script di output, fornito alla fine del calcolo, esprime la superficie fluorescente individuata sia come percentuale di RGB, che come percentuale di grigi.

In Figura 45 è illustrato un esempio delle tre immagini prodotte dal programma a fine calcolo.

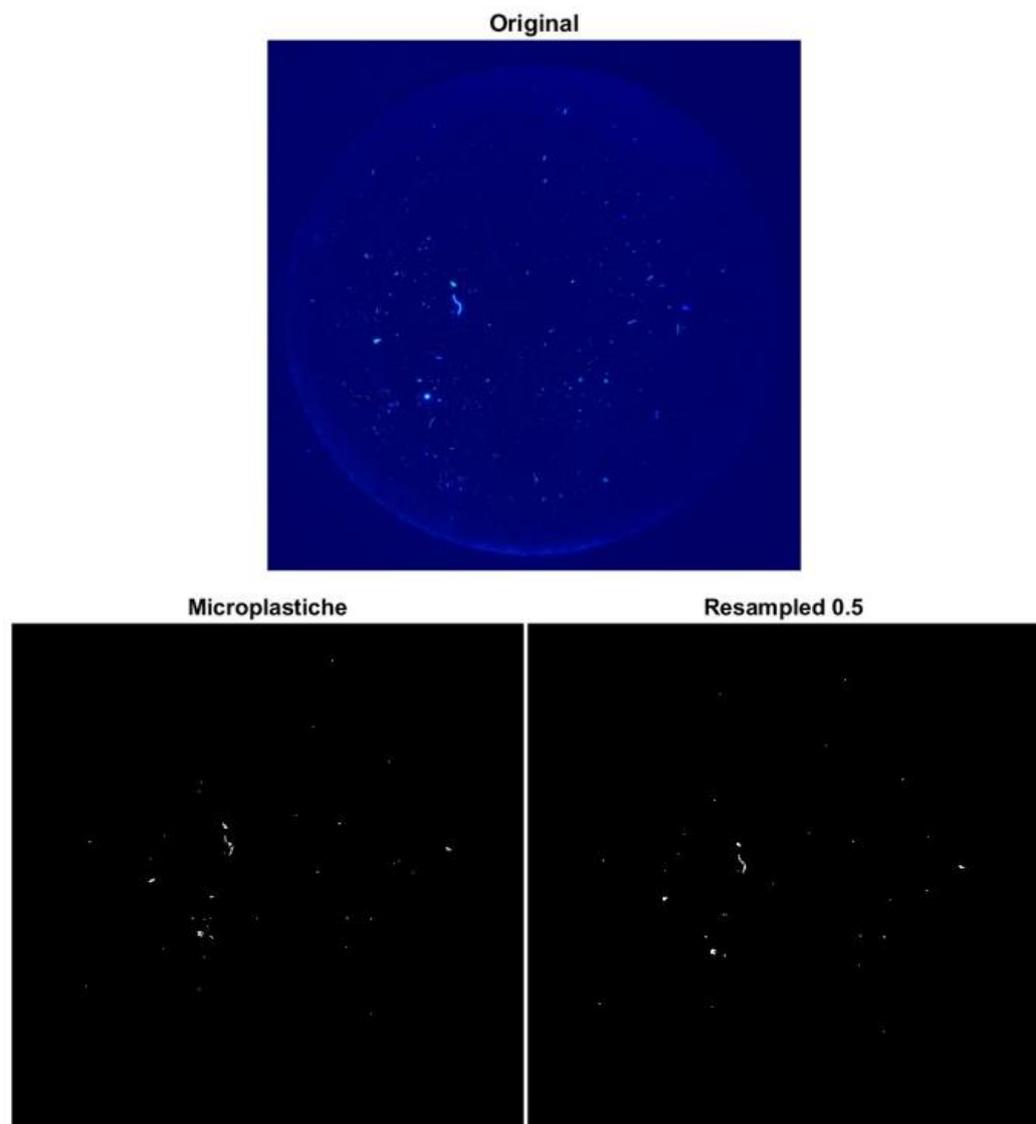


Figura 45. Analisi di immagine dei filtri su Matlab.

La foto "Original" è quella inserita dall'utente, ovvero ciascuna delle foto scattate sui filtri sotto luce UV; la seconda foto, "Microplastiche", mostra come pixel bianchi le aree

fluorescenti individuate; la terza foto, “Resampled 0.5”, mostra il risultato dalla funzione di *smoothing*, implementata dal Dott. Costanzo per la conta automatica.

Questa funzione identifica i pixel bianchi adiacenti come un unico elemento fluorescente, inserendolo nel conteggio. Siccome le microplastiche e le fibre spesso non presentano un grado di fluorescenza omogeneo su tutta la superficie, a livello di immagine questo crea un’area caratterizzata da un livello di colore e luminosità più bassi rispetto alle soglie impostate. Tale area viene interpretata dal programma come una discontinuità nella scala dei colori e non viene conteggiata.

Il risultato è il conteggio di due elementi fluorescenti distinti, con conseguente sovrastima delle microplastiche e delle fibre effettivamente contenute nel campione.

La funzione di *smoothing* permette di ridurre l’errore di calcolo, poiché fa sì che il programma includa nella conta anche pixel che non ricadono nell’intervallo RGB fissato, ma che sono adiacenti a pixel che ne fanno parte. Lo *smoothing* varia tra 0 e 1, dove 1 significa assenza di *smoothing*.

In Figura 45 le immagini “Microplastiche” e “Resampled” visualizzano rispettivamente l’output del programma con e senza il fattore di *smoothing*. Anche questo, come i valori RGB, deve essere assegnato dall’utente.

È importante sottolineare che l’identificazione delle fluorescenze con questo metodo non è possibile per microparticelle e fibre di dimensioni inferiori a 0,1 mm.

Le foto scattate sono state processate su Matlab a più tentativi, modificando di volta in volta i valori della scala RGB e dei grigi al fine di trovare quelli più appropriati, ovvero quelli che restituissero valori di microparticelle confrontabili con i risultati ottenuti dalla conta visiva.

Quando il numero di microparticelle restituito dal programma è maggiore di quello ottenuto, per lo stesso filtro dalla conta visiva, significa che occorre alzare i valori di soglia per far sì che il programma non consideri anche fluorescenze minori che non sono microplastiche o fibre, quali organico o particelle di sale cristallizzato sulla superficie del filtro.

Al contrario, quando Matlab restituisce un valore inferiore a quello dell’analisi visiva significa che le soglie impostate non permettono al programma di ‘leggere’ correttamente l’immagine: bisogna quindi abbassare i valori dei colori, o di uno solo di essi, per includere le particelle meno fluorescenti e luminose.

Le tabelle seguenti riportano le soglie utilizzate e il relativo fattore di *smoothing* S_F .

Tabella 11. Valori impostati su Matlab per l'analisi di immagine dei filtri relativi alla spiaggia di Porticello.

PORTICELLO				
R	G	B	GRIGI	S_F
240	250	250	200	0.5
210	210	240	200	0.7
210	210	240	200	0.5
210	210	230	200	0.5
200	200	200	200	0.5
200	200	200	200	0.3
160	210	240	200	0.5

Tabella 12. Valori impostati su Matlab per l'analisi di immagine dei filtri relativi alla spiaggia di Pezzo.

PEZZO				
R	G	B	GRIGI	S_F
240	250	250	200	0.5
210	210	240	200	0.7
210	210	240	200	0.5
210	210	230	200	0.5
200	200	200	200	0.3
200	200	200	200	0.3
200	220	240	200	0.5
160	210	240	200	0.5
160	210	240	200	0.3
180	230	250	200	0.5

Dall'analisi visiva delle foto tramite ingrandimento al computer, emerge che la maggior parte delle fluorescenze sono blu o verdi, con percentuali minori di rosso, giallo e bianco opaco.

I colori tipici delle microplastiche sotto l'effetto della luce UV sono il blu e il verde. Tuttavia, dall'analisi al microscopio ottico di un gruppo di filtri opportunamente scelto, è stato osservato che anche eventuali residui organici e mineralogici hanno colorazione tendente al verde e al giallo-marrone: in questo caso, però, il livello di luminosità e definizione dei contorni è visibilmente minore rispetto alle microplastiche e alle fibre. Pertanto, si è innalzata la soglia di colore del verde e del rosso (sopra valori "bassi" come 180-190), di modo che il programma escludesse dal conteggio tali sostanze.

Invece, essendo le particelle blu identificate da un colore molto acceso, talora con un livello di saturazione quasi bianco, i valori utilizzati per il blu, in tutte le combinazioni di Tabella 11 e Tabella 12, sono compresi nell'intervallo 200-250. Questo è dovuto anche al fatto che, essendo il filtro bianco, la sua superficie sotto luce UV diventa blu scuro-violacea: alzando la soglia del blu si aumenta il contrasto tra lo sfondo dell'immagine e la particella blu fluorescente.

Le tabelle seguenti mostrano i risultati ottenuti su Matlab per i siti in esame, utilizzando le soglie sopraindicate rispettivamente per ciascuna località.

Per facilitare il confronto tra i dati di output del programma e i risultati ottenuti dall'analisi visiva, e quindi evidenziare la validità o meno delle soglie applicate, la riga in verde evidenzia il numero di microplastiche e fibre tessili contate visivamente su ciascun filtro (ovvero i filtri relativi ai sottocampioni *a,b,c* riportati in Tabella 5 e Tabella 6).

Per la spiaggia di Pezzo è stato necessario utilizzare più combinazioni di soglie, poiché si è osservato che i valori ottenuti dalla conta automatica erano molto disomogenei sulla maggior parte dei filtri, rispetto ai valori ottenuti sui medesimi filtri dalla conta visiva.

Tabella 13. Numero di microplastiche e fibre tessili contate tramite Matlab per la spiaggia di Porticello, nel mese di giugno.

PORTICELLO (Giugno)	AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Soglie e fattore di smoothing R G B grigio (S_F)	Numero di microplastiche e di fibre tessili (nMP)					
240 250 250 200 (0.5)	26	9	31	26	54	12
210 210 240 200 (0.7)	37	18	43	42	68	18
210 210 240 200 (0.5)	28	14	35	30	54	15
210 210 230 200 (0.5)	32	15	28	32	53	19
200 200 200 200 (0.5)	41	18	49	46	72	36
200 200 200 200 (0.3)	30	12	28	29	48	21
160 210 240 200 (0.5)	36	20	40	49	65	16
nMP da conteggio visivo	47	39	37	34	52	15

Tabella 14. Numero di microplastiche e fibre tessili contate tramite Matlab per la spiaggia di Porticello, nel mese di settembre.

PORTICELLO (Settembre)					AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)					>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Soglie e fattore di smoothing R G B grigio (S _F)					Numero di microplastiche e di fibre tessili (nMP)					
240	250	250	200	(0.5)	16	17	29	142	48	36
210	210	240	200	(0.7)	27	28	48	201	89	61
210	210	240	200	(0.5)	23	21	35	171	57	46
210	210	230	200	(0.5)	22	22	34	175	66	51
200	200	200	200	(0.5)	34	31	65	220	100	36
200	200	200	200	(0.3)	27	25	48	150	44	41
160	210	240	200	(0.5)	23	21	35	204	95	53
nMP da conteggio visivo					31	39	41	130	65	40

Tabella 15. Numero di microplastiche e fibre tessili contate tramite Matlab per la spiaggia di Pezzo, nel mese di giugno.

PEZZO (Giugno)					AB foreshore			C backshore		
Classi granulometriche (mm)					>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Soglie e fattore di smoothing R G B grigio (S _F)					Numero di microplastiche e di fibre tessili (nMP)					
240	250	250	200	(0.5)	52	27	21	23	32	18
210	210	240	200	(0.7)	87	50	31	41	41	31
210	210	240	200	(0.5)	61	36	18	26	32	23
210	210	230	200	(0.5)	64	45	28	36	41	23
200	200	200	200	(0.5)	146	94	49	47	69	47
200	200	200	200	(0.3)	91	56	32	37	55	33
200	220	240	200	0.5)	61	36	19	26	32	23
160	210	240	200	(0.5)	61	36	18	26	32	23
160	210	240	200	(0.3)	35	19	16	20	27	16
180	230	250	200	(0.5)	52	27	21	23	32	18
nMP da conteggio visivo					107	37	49	24	38	60

Tabella 16. Numero di microplastiche e fibre tessili contate tramite Matlab per la spiaggia di Pezzo, nel mese di settembre.

PEZZO (Settembre)	AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Soglie e fattore di smoothing R G B grigio (S_F)	Numero di microplastiche e di fibre tessili (nMP)					
240_250_250_200 (0.5)	12	24	30	13	23	11
210_210_240_200 (0.7)	24	37	60	38	54	34
210_210_240_200 (0.5)	17	30	44	29	41	23
210_210_230_200 (0.5)	21	29	60	27	59	31
200_200_200_200 (0.5)	39	45	70	111	176	96
200_200_200_200 (0.3)	31	40	38	70	113	71
200_220_240_200 (0.5)	17	30	44	29	41	23
160_210_240_200 (0.5)	17	30	44	29	41	23
160_210_240_200 (0.3)	7	19	31	19	22	12
180_230_250_200 (0.5)	12	24	29	13	23	11
nMP da conteggio visivo	24	33	35	21	82	40

9.3 Analisi tramite microscopia ottica

Allo scopo di validare i risultati ottenuti dal conteggio visivo e da quello automatico, si è scelto di osservare al microscopio un terzo dei filtri in esame, ovvero 8 filtri su 24 (Tabella 17-Tabella 18).

Si è utilizzato un microscopio ottico Leitz ORTHOLUX II POL-MK, dotato di fotocamera DeltaPix Invenio 12EIII da 12 Mpx (zoom 2.5x). La torcia a luce ultravioletta è stata fissata lateralmente allo strumento, su un piedistallo appositamente costruito che la mantiene inclinata di 45° rispetto alla superficie del filtro (Figura 46), di modo da riprodurre le medesime condizioni di irradiazione del fascio UV con cui sono state scattate le foto sui filtri. Anche in questo caso l'analisi è stata eseguita in una stanza buia e sono stati indossati occhiali protettivi dai raggi UV.



Figura 46. Microscopio ottico utilizzato in laboratorio.

L'identificazione e il conteggio delle fluorescenze su ciascun filtro è avvenuto suddividendone idealmente la superficie filtrante in 56 rettangoli, come mostrato in Figura 47: la linea rossa indica il bordo del filtro, la linea gialla delimita l'area filtrante che è oggetto dell'analisi.

Muovendo nel piano il supporto su cui è posizionato il filtro sotto osservazione, è stato possibile analizzare dettagliatamente la superficie filtrante lungo ogni riga e ogni colonna di rettangoli, come definito da Balestra V. e Bellopede R., 2021. Per facilitare l'operazione, ciascun filtro è stato tagliato in due metà uguali: ciascuna di queste è stata fissata su un vetrino ed osservata singolarmente.

Al fine di ridurre l'errore di valutazione e ottenere risultati attendibili, per l'analisi al microscopio sono stati scelti filtri "efficaci", ovvero filtri per i quali le fasi di trattamento sui relativi campioni abbiano prodotto un'immagine di superficie nitida e non sovraffollata di materiale (microplastiche, fibre, residui organici, impurità). L'unica eccezione, in tal senso, è costituita dal filtro AB (frazione granulometrica 1mm) per la spiaggia di Pezzo (mese di giugno), per il quale la quantificazione è stata difficile anche al microscopio: sulla superficie del filtro si sono osservate molte particelle di organico e sale cristallizzato.

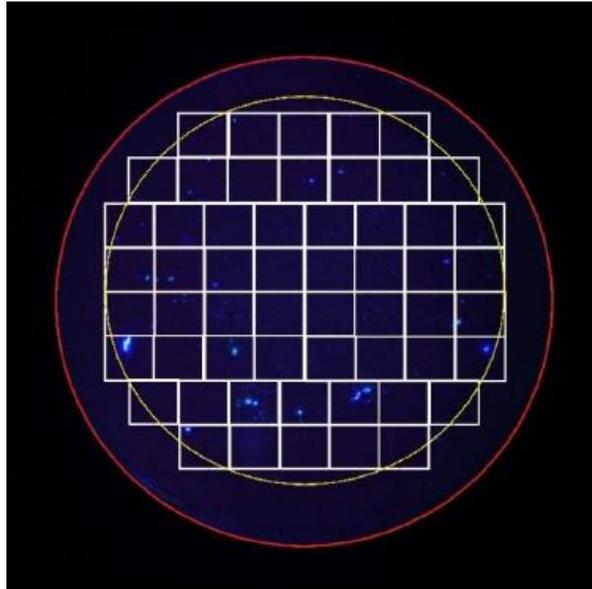


Figura 47. Metodo di suddivisione dell'area del filtro, suggerito da Balestra e Bellopede (2021), per l'identificazione visiva al microscopio delle microplastiche e fibre.

Seppure l'analisi al microscopio, come tramite ingrandimento d'immagine, sia soggetta ad errori di valutazione da parte dell'esaminatore, essa fornisce una risoluzione tale da poter osservare la forma, il colore e le dimensioni esatte di microplastiche e fibre tessili.

Anche in questo caso, i criteri adottati per l'identificazione visiva sono quelli descritti nel par. 6.3.4: sono state contate tutte le particelle fluorescenti coerenti con tali criteri e di dimensione non inferiore a 0.1 mm. Dunque, sono state escluse dal conteggio tutte le fluorescenze di natura organica e mineralogica presenti sul filtro, che invece risultano conteggiate dal programma in quanto questo non permette di indagare la composizione chimica di una particella.

Analogamente a quanto emerso dall'ingrandimento delle foto al computer, l'analisi al microscopio ha confermato che le fluorescenze osservate sui filtri sono principalmente di colore blu e verde. Questo ha suggerito l'impostazione su Matlab di valori superiori a 200 per le soglie *Blue* (B) e *Green* (G).

Per quanto riguarda la forma, invece, la maggior parte delle microplastiche identificate sono risultate essere fibre e frammenti.

La distinzione tra fibre sintetiche e fibre naturali è stata fatta in base ai criteri definiti in Figura 19.

I risultati dell'analisi al microscopio sono riportati in Tabella 17 per il sito di Pezzo e in Tabella 18 per il sito di Porticello.

Tabella 17. Risultati dell'analisi al microscopio su alcuni campioni della spiaggia di Pezzo.

Sito/mese	Pezzo-Giugno				
Campioni	AB foreshore			C backshore	
Granulometria (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5
Peso totale frazioni granulometriche (g)	45,78	229,83	173,5	11,9	85,36
Peso campione analizzato (g)	45,78	50	50	11,9	50
nMP totale (microplastiche + fibre tessili)	28	47	68	48	49
nMPs (microplastiche)	15	29	32	33	26
nMPs (%)	53,6	61,7	47,1	68,8	53,1

Tabella 18. Risultati dell'analisi al microscopio su alcuni campioni della spiaggia di Porticello.

Sito/mese	Porticello-Settembre		
Campioni	AB foreshore		
Granulometria (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Peso totale frazioni granulometriche (g)	49,1	182	142
Peso campione analizzato (g)	49,1	50	50
nMP totale (microplastiche + fibre tessili)	40	57	34
nMPs (microplastiche)	28	37	15
nMPs (%)	70,0	64,9	44,1

Quasi tutti i filtri esaminati al microscopio hanno mostrato un contenuto maggiore di fibre sintetiche, ed in generale microplastiche, rispetto a quello di fibre naturali, in contrapposizione a quanto risulta da molte indagini scientifiche che attestano una prevalenza delle seconde nei campioni ambientali, come precedentemente spiegato al par. 4.1.

Tale risultato è, tuttavia, coerente con quanto riportato da uno studio svolto sulle coste della Calabria nel 2019 (“Descrittore 10- Rifiuti marini. Il monitoraggio dei rifiuti spiaggiati in Calabria”, ARPACAL), in merito alla presenza di rifiuti spiaggiati presso sei località: tre lungo il litorale tirrenico e tre lungo il litorale ionico. Anche in questo caso i siti scelti per il campionamento sono caratterizzati da un impatto antropico differente, come suggerito dalla Direttiva MSFD 2008 (Accordo Operativo Direttiva Quadro sulla Strategia Marina, 28/01/2021): 2 aree portuali, 2 aree urbane, 1 zona fluviale e 1 area remota.

Si tratta di spiagge sabbiose e ghiaiose che sono state designate nel POA (Piano Operativo delle Attività), previsto dalla Direttiva, quali stazioni di monitoraggio per i rifiuti sulle spiagge.

Lo scopo dell’indagine è la quantificazione e la classificazione di macrorifiuti (> 2,5 cm) spiaggiati di varia natura (plastica, carta e cartone, vetro e ceramica, metallo, tessuti, legno, gomma, rifiuti medico-sanitari): il metodo di campionamento è la raccolta manuale tramite ispezione visiva.

I grafici a torta illustrati in Figura 48 mostrano la distribuzione dei rifiuti trovati nelle varie categorie, dal 2015 al 2018, per il litorale tirrenico.

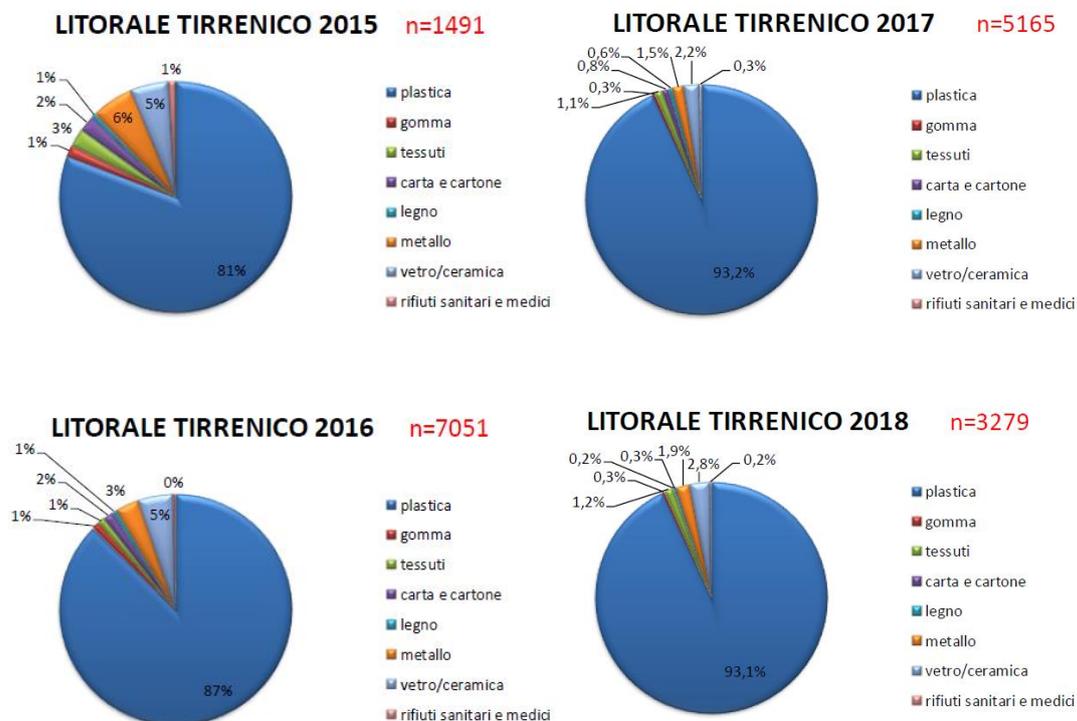


Figura 48. Caratterizzazione dei rifiuti spiaggiati raccolti nelle stazioni di monitoraggio lungo il litorale tirrenico in Calabria [Descrittore 10- Rifiuti marini. Il monitoraggio dei rifiuti spiaggiati in Calabria, ARPACAL].

È evidente che i rifiuti in plastica costituiscono più dell'80% dei rifiuti complessivamente quantificati per tutti gli anni in esame.

Questo giustifica il risultato ottenuto dall'analisi microscopica, considerando che le microplastiche identificate e quantificate nei campioni sono microplastiche secondarie, ovvero generate dalla frammentazione di oggetti in plastica più grandi.

Le foto seguenti illustrano alcuni esempi di microfibre sintetiche e microfibre naturali osservate al microscopio ottico.



Figura 49. Fibra tessile sintetica, dalla forma piatta con diametro regolare e superficie uniforme.

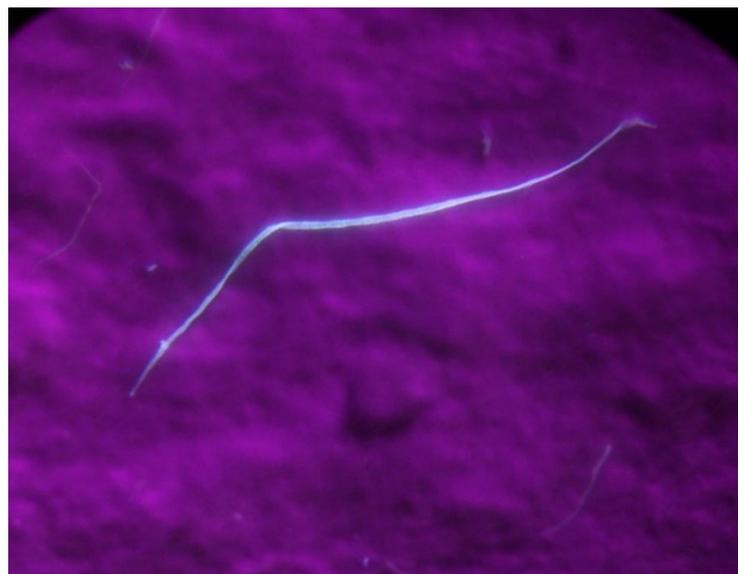


Figura 50. Fibra tessile naturale, verosimilmente in cotone, avente forma piatta e affusolata, con diametro irregolare.

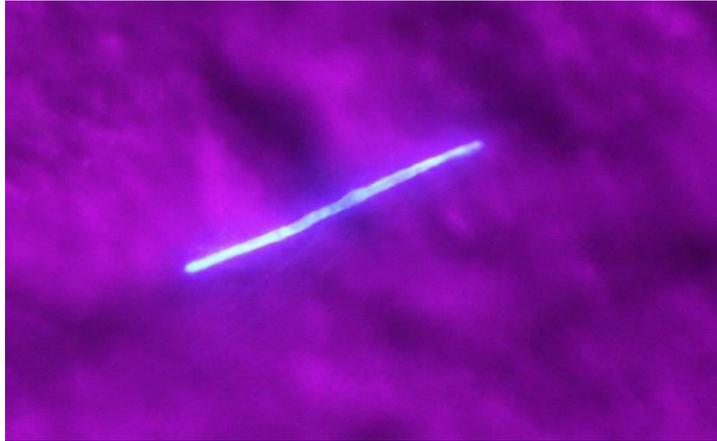


Figura 51. Fibra tessile di origine animale, con diametro regolare e superficie dal colore non uniforme.



Figura 52. Una fibra tessile naturale (in alto) e una fibra sintetica (in basso), che è caratterizzata da diametro regolare, superficie uniforme ed estremità tondeggianti.

10 Discussione

10.1 Distribuzione del marine litter

I dati disponibili in letteratura circa la distribuzione delle microplastiche sulle spiagge derivano da approcci basati sulla misura delle quantità o dei flussi di litter, considerando varie categorie di detriti e campionando secondo transetti di lunghezza e larghezza variabili, in direzione parallela o perpendicolare alla linea di costa. Pertanto, le procedure utilizzate non permettono di risalire alla provenienza dei detriti, ovvero di conoscerne l'origine da fonti terrestri senza mai essere entrate in mare, oppure se arrivano dal mare per galleggiamento in superficie, o per trasporto sul fondo.

Inoltre, essendo il tasso di accumulo dei detriti fortemente influenzato dal clima meteorologico e dalla variazione delle correnti, non è possibile stimare un quadro di distribuzione globale che risponda a criteri ben precisi (*Bergmann et al., 2015*). Vetro e plastiche pesanti sembrerebbero accumularsi principalmente su spiagge rocciose (*Moore et al., 2001*), mentre il microlitter, essendo più leggero, lungo coste che non sono interessate da vento forte, che ne favorirebbe altrimenti la diffusione off-shore (*Costa et al., 2011*).

Le indagini scientifiche sono in accordo nel confermare che la concentrazione di microlitter aumenta muovendosi dalla riva verso l'interno della spiaggia.

La velocità di accumulo è determinata principalmente dalla dimensione degli oggetti, specie per materiali come il polistirolo espanso, che è poco denso e tende a disperdersi facilmente.

Anche la stagionalità influisce: in autunno e in inverno il tasso di accumulo di detriti antropogenici è maggiore che nel resto dell'anno. Per quanto riguarda la distribuzione spaziale, invece, emerge una tendenza degli oggetti a depositarsi maggiormente a ridosso di dune o di insenature, ovvero in zone della spiaggia che ne ostacolano il trasporto in mare, favorendo la frammentazione con conseguente formazione di microplastiche.

Analogamente la battigia, dove avviene il frangimento delle onde, costituisce un'area preferenziale di accumulo del microlitter proveniente dal mare. Il campionamento di sedimenti in questa zona potrebbe determinare una sovrastima delle microplastiche in fase di elaborazione dei dati (*Merlino et al., 2020, CNR*). Questo perché, trattandosi di una zona interessata dal continuo trasporto di materiale da parte del moto ondoso, la distribuzione di rifiuti e detriti è fortemente variabile a seconda del clima e delle stagioni. L'accumulo è di tipo dinamico, e non statico come per la zona più interna della spiaggia.

10.2 Analisi dei risultati

I risultati ottenuti sono stati analizzati alla luce dei seguenti aspetti:

- 1) l'ipotesi che l'accumulo di microparticelle aumenti all'aumentare della distanza dalla riva;
- 2) l'influenza delle caratteristiche morfologiche, meteo-marine e antropiche di un sito nella quantità e nella distribuzione spaziale delle particelle sulla spiaggia;
- 3) l'ipotesi che la granulometria dei sedimenti influenzi l'abbondanza di microplastiche, in particolare che queste tendano ad accumularsi nelle frazioni più fini.

10.2.1 Conteggio visivo tramite ingrandimento su immagine

In Tabella 19 e in Tabella 20 sono riportati i risultati ottenuti della conta visiva tramite ingrandimento al computer, espressi come somma delle microplastiche e delle fibre contate per area (foreshore, backshore) su ciascuna spiaggia.

I risultati sono coerenti con l'ipotesi che l'accumulo è maggiore verso il retro della spiaggia: ad eccezione della spiaggia di Porticello nel mese di giugno, quando si verifica che il numero di microplastiche e fibre è maggiore in prossimità della riva.

Ciò si spiega col fatto che ogni campione è rappresentativo del momento in cui viene prelevato: in particolare, il campionamento del 12 giugno 2021 è avvenuto al secondo tentativo, dopo aver osservato nei giorni precedenti un consistente accumulo di detriti lungo la riva. Infatti, in entrambi i siti la linea di frangimento delle onde si trovava avanzata verso monte di circa 2-3 metri dalla linea di bassa marea. Pertanto, è plausibile pensare che, nel mese di giugno, la quantità di microparticelle trovate per la zona AB (foreshore) sia superiore a quello della retrostante zona CD (backshore), a causa del mare mosso nei giorni precedenti il prelievo. Questo risultato conferma l'ipotesi secondo cui l'accumulo di microplastiche, in corrispondenza della linea di alta marea, dipenda dalla forza del moto ondoso (*Hinata et al., 2017*), e supporta le osservazioni di alcuni studi che hanno effettuato il campionamento lungo tale linea presupponendo questo pattern (*Lee et al., 2015, Moreira et al. 2016*).

Ciononostante, molte indagini sui sedimenti marini non evidenziano la ripetizione di alcuno schema nella distribuzione delle microplastiche, giustificando che questa dipenda fortemente dalle caratteristiche morfologiche del sito e da fattori ambientali locali.

Di conseguenza, effettuare il campionamento soltanto nella zona di alta marea non produce risultati attendibili su tutte le spiagge, poiché così facendo non si tiene conto del tipo di spiaggia e delle sue caratteristiche fisiche (Peter V. et al., 2021).

Per la spiaggia di Pezzo, invece, l'accumulo maggiore si è registrato nella zona restrostante della spiaggia (backshore) anche a giugno: questo è da attribuirsi probabilmente all'incidenza del moto ondoso (Figura 28) e alla conformazione della spiaggia, come spiegato in seguito.

Tabella 19. Numero di microplastiche e fibre per area di campionamento per il sito di Porticello.

PORTICELLO GIUGNO		
Campioni	AB foreshore	CD backshore
Peso (g)	409	478,3
N° particelle totale(nMP)	332	348
Concentrazione (nMP/kg)	812	729
Media (nMP/kg)	771	
PORTICELLO SETTEMBRE		
Campioni	AB foreshore	CD backshore
Peso (g)	373,1	363,2
N° particelle totale(nMP)	289	482
Concentrazione (nMP/kg)	775	1327
Media (nMP/kg)	1051	

Tabella 20. Numero di microplastiche e fibre per area di campionamento per il sito di Pezzo.

PEZZO GIUGNO		
Campioni	AB foreshore	C backshore
Peso totale (g)	449,11	246,1
N° particelle totale(nMP)	447	348
Concentrazione (nMP/kg)	995	1086
Media (nMP/kg)	1041	
PEZZO SETTEMBRE		
Campioni	AB foreshore	CD backshore
Peso totale (g)	414,23	369,61
N° particelle totale(nMP)	289	482
Concentrazione (nMP/kg)	606	1116
Media (nMP/kg)	861	

Confrontando il numero complessivo di particelle ottenuto su ciascuna spiaggia per lo stesso mese, espresso come valore medio (nMP/kg) tra le zone foreshore e backshore, i risultati non sono concordi.

A giugno la quantità di microplastiche e fibre è maggiore sulla spiaggia di Pezzo, a settembre sulla spiaggia di Porticello. Anche questo risultato può considerarsi accettabile e da attribuire sia allo stato del moto ondoso nei giorni precedenti il campionamento di giugno, sia alle caratteristiche morfologiche delle due spiagge. Come spiegato nel par. 7.1, la direzione di arrivo dell'onda sulla spiaggia è diversa per i due siti.

A Porticello la direzione incidente è trasversale rispetto alla linea di costa, il che produce un movimento delle microplastiche e delle fibre parallelo alla costa ed in corrispondenza della linea di frangimento, come descritto da Crawford & Quinn, 2017 (Figura 53).

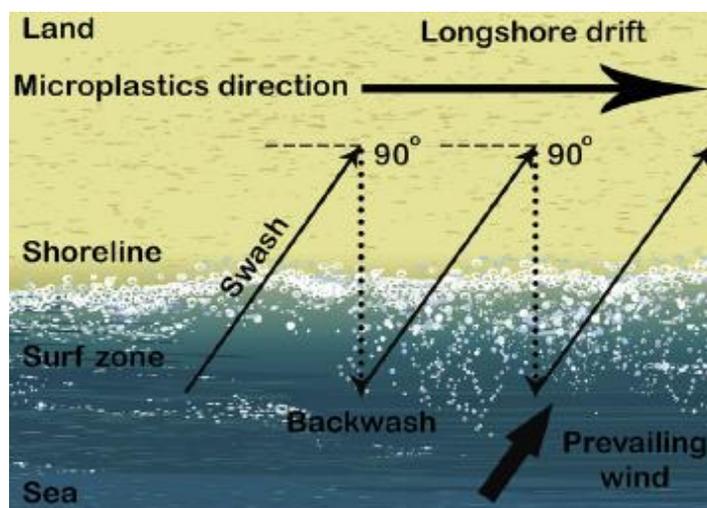


Figura 53. Meccanismo di trasporto longitudinale delle microplastiche nella zona della battigia (foreshore): la movimentazione avviene secondo la direzione di arrivo (swash) e di ritiro (backwash) dell'onda.

Per il sito di Pezzo, invece, il moto ondoso giunge in direzione perpendicolare alla riva (Figura 28), il che favorisce un accumulo del microlitter lungo la sezione minore della spiaggia, che è meno estesa in larghezza rispetto a quella di Porticello: questo può spiegare un accumulo maggiore per m².

Infatti, nel mese di giugno, a parità di distanza dalla riva, i campioni della spiaggia di Pezzo hanno un contenuto di microplastiche e fibre superiore rispetto a quelli di Porticello.

Facendo lo stesso confronto nel mese di settembre, emerge il contrario: questo può essere spiegato con l'impatto antropico dovuto alla balneazione, che è molto significativo per la spiaggia di Porticello e quasi irrilevante per quella di Pezzo, data la sua vicinanza al porto di Villa San Giovanni.

Il medesimo risultato è stato ottenuto da Peter V. et al., 2021, nell'analisi di due località (una ad alto impatto antropico, una a basso impatto antropico), in quanto la contaminazione da microplastica in un sito è legata alla sua densità abitativa e all'uso del territorio.

Infine, l'ipotesi che la frazione più fine di sedimento sia associata ad una quantità di microplastiche e fibre maggiore risulta verificata soltanto in due casi: 'AB foreshore' per il sito di Porticello a settembre (Tabella 21) e 'AB foreshore' per il sito di Pezzo a settembre (Tabella 22): per entrambi si registra un incremento medio del numero di microparticelle presenti nel sottocampione *c* del 5% sul sottocampione *b* (1-0.5 mm), e del 37% su *a* (>1mm).

Tabella 21. Concentrazione di microplastiche e fibre per frazione granulometrica per il sito di Porticello.

PORTICELLO GIUGNO						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Concentrazione (nMP/kg)	940	780	740	778	1040	300
PORTICELLO SETTEMBRE						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Concentrazione (nMP/kg)	631	780	820	4153	1300	800

Tabella 22. Concentrazione di microplastiche e fibre per frazione granulometrica per il sito di Pezzo.

PEZZO GIUGNO						
CAMPIONI	AB foreshore			C backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Concentrazione (nMP/kg)	2337	740	980	2016	760	1200
PEZZO SETTEMBRE						
CAMPIONI	AB foreshore			CD backshore		
Classi granulometriche (mm)	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25	>1	1-0.5	0.5-0.25, <0.25
Concentrazione (nMP/kg)	480	660	700	1195	1640	800

Per tutti gli altri campioni risulta confermato quanto affermato da Alomar et al., 2016, che non riconosce alcuna correlazione tra l'abbondanza di microparticelle e la dimensione dei sedimenti. Al contrario, Peter V. et al. 2021 ha evidenziato una diminuzione significativa

delle microplastiche nei sedimenti di dimensioni $\geq 500 \mu\text{m}$, rispetto a quelle contenute nella frazione fine $< 63 \mu\text{m}$.

Occorre, però, tenere conto di alcune considerazioni: alcuni filtri (la cui concentrazione è evidenziata in rosso in Tabella 21 e in Tabella 22) sono affetti da un margine di errore elevato, poiché all'analisi visiva la superficie appare molto affollata di materiale, probabilmente per la presenza di residui organici o mineralogici, che non sono stati efficacemente rimossi in fase di ossidazione con il perossido di idrogeno. Questo rende difficoltosi l'identificazione e il conteggio da parte dell'esaminatore, con conseguente sovrastima delle microplastiche e delle fibre effettivamente contenute nel campione.

Il campione AB (1mm, foreshore, Pezzo, giugno), ad esempio, corrisponde ad un filtro critico: dunque, escludendo la classe granulometrica maggiore, l'ipotesi di accumulo sulla frazione fine risulta verificata anche in questo caso.

Inoltre, bisogna considerare anche l'eventuale sovrapposizione di più particelle in una stessa area del filtro, che produce un risultato sottostimato.

Per evidenziare più chiaramente la distribuzione delle microplastiche e delle fibre identificate, in relazione alla granulometria dei sedimenti, i dati delle tabelle precedenti sono stati raffigurati mediante istogramma in Figura 54 e Figura 55.

Il valore di concentrazione, in ordinata, è espresso come numero di microparticelle/grammo (nMP/g).

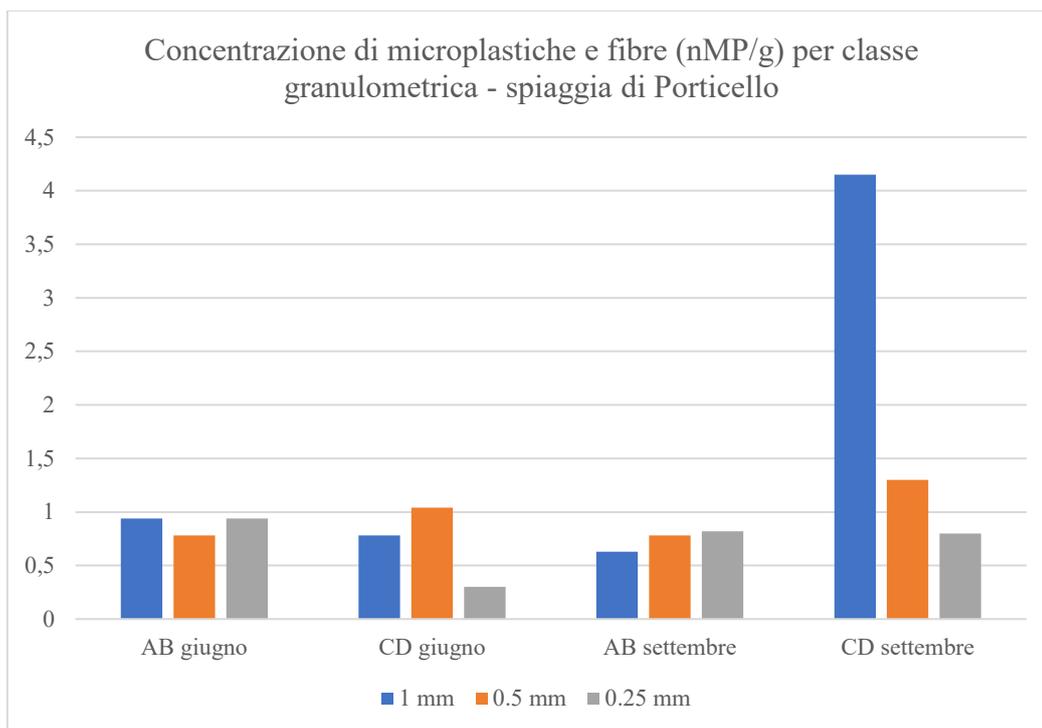


Figura 54. Distribuzione delle microparticelle per classe granulometrica sui campioni di Porticello.

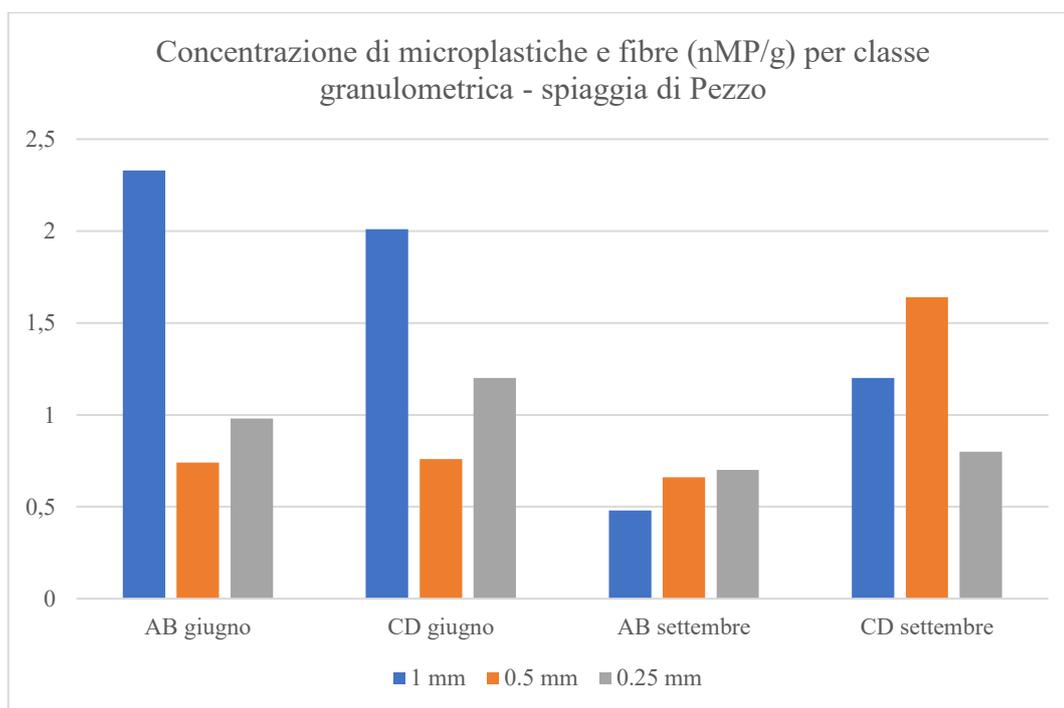


Figura 55. Distribuzione delle microparticelle per classe granulometrica sui campioni di Pezzo.

10.2.2 Conteggio automatico su Matlab

I risultati del conteggio automatico eseguito su Matlab (Tabella 13- Tabella 16) sono stati valutati applicando due metodi. Entrambi i metodi determinano l'errore percentuale ε del valore di Matlab N_a rispetto al valore ottenuto dalla conta visiva N_v , assunto come valore di riferimento, secondo la formula:

$$\varepsilon = \frac{\Delta}{N_v} \quad \text{dove } \Delta = N_v - N_a$$

Si è scelto di considerare accettabile un intervallo di errore pari a $\pm 25\%$, che tenga conto di più fattori:

- la soggettività dell'esaminatore nell'identificazione visiva;
- le perdite di materiale durante le analisi di laboratorio, dovute alla manipolazione dei campioni;
- la contaminazione accidentale dei campioni;
- la presenza di residui organici e mineralogici, che intasano i filtri;
- la separazione non efficace delle microparticelle dai sedimenti, per mezzo della soluzione salina.

Il METODO I consiste nel calcolare l'errore su ogni filtro per ciascuna combinazione di soglie utilizzata, al fine di individuare quale combinazione minimizza l'errore sul maggior numero di filtri.

Il METODO II, invece, valuta l'errore rispetto al valore medio dato, su ciascun filtro, dall'insieme di valori ottenuti dalle combinazioni numeriche.

In Tabella 23 e in Tabella 24 sono riportati i risultati: il numero di microplastiche e fibre tessili contate è riferito alla massa reale di ciascun campione. Valori di errore negativi indicano una sovrastima da parte del programma rispetto alla conta visiva, valori positivi una sottostima.

Tabella 23. METODO I.

PORTICELLO												
Classi granulometriche (mm)	AB Giugno			CD Giugno			AB Settembre			CD Settembre		
	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
210 210 240 200 (0.5)	28	14	35	30	54	15	171	57	46	23	21	35
CONTA VISIVA	47	39	37	34	52	15	130	65	40	28	39	41
ERRORE ε (%)	40,43	64,10	5,41	11,76	-3,85	0,00	-31,54	12,31	-15,00	17,85	46,15	14,63
PEZZO												
Classi granulometriche (mm)	AB Giugno			C Giugno			AB Settembre			CD Settembre		
	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
210 210 240 200 (0.5)	61	36	18	26	32	23	17	30	44	29	41	23
CONTA VISIVA	107	37	49	24	38	60	24	33	35	21	82	40
ERRORE ε (%)	42,99	2,70	63,27	-8,33	15,79	61,67	29,17	9,09	-25,71	-38,10	50,00	42,50

Per l'applicazione del METODO II, sono stati utilizzati i valori di media ottenuti dalle combinazioni di Tabella 11 per il sito di Porticello e di Tabella 12 per il sito di Pezzo: ovvero si è calcolata la media, per ogni filtro, dei valori di microplastiche e fibre calcolati dal programma, in funzione delle soglie di colore impostate.

Tabella 24. METODO II.

PORTICELLO	AB Giugno			CD Giugno			AB Settembre			CD Settembre		
Classi granulometriche (mm)	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
MEDIA	32,86	15,14	36,29	36,29	59,57	19,57	180,43	71,29	46,29	24,57	23,57	42,00
CONTA VISIVA	47	39	37	34	52	15	130	65	40	31	39	41
ERRORE ϵ	30,09	61,17	1,93	-6,72	-14,56	-30,48	-38,79	-9,67	-15,71	20,74	39,56	-2,44
PEZZO	AB Giugno			C Giugno			AB Settembre			CD Settembre		
classi granulometriche (mm)	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25	1	0.5	0.25
MEDIA	71	42,6	25,3	30,5	39,3	25,5	19,7	30,8	45	37,8	59,3	33,5
CONTA VISIVA	107	37	49	24	38	60	24	33	35	21	82	40
ERRORE ϵ	33,64	-15,14	48,37	-27,08	-3,42	57,50	17,92	6,67	-28,57	-80,00	27,68	16,25

Osservando i dati ottenuti emerge che il conteggio automatico ha fornito risultati disomogenei.

Il METODO I evidenzia un risultato accettabile solo per la spiaggia di Porticello: la combinazione di soglie 210 210 240 200 (fattore di smoothing $S_F = 0.5$) è quella che ha fornito valori ottimali, riducendo l'errore sul 67% dei filtri (8 filtri su 12, evidenziati in verde in Tabella 23).

Anche con il METODO II si ottiene un risultato analogo per Porticello (7 filtri su 12, evidenziati in verde in Tabella 24).

Per la spiaggia di Pezzo, invece, entrambi i metodi evidenziano un margine di errore elevato sulla maggior parte dei filtri (evidenziati in rosso): 8 filtri su 12 (METODO I), 7 su 12 (METODO II).

Ciò è in parte dovuto alla qualità delle foto scattate: alcune foto sono sovraesposte in termini di luminosità, poiché la superficie del filtro è affollata a causa della mancata degradazione di particelle organiche o minerali, oppure a causa della cristallizzazione di residui di sale, derivanti dalla separazione densimetrica.

In secondo luogo, i risultati per la spiaggia di Pezzo possono attribuirsi ad errori effettuati durante la procedura di campionamento, oppure di pretrattamento del campione in soluzione col perossido.

Si è utilizzata una concentrazione di H_2O_2 al 15% per evitare la degradazione delle microplastiche con concentrazioni superiori, come documentano alcuni studi in letteratura. Tuttavia, quando i sedimenti hanno un elevato contenuto di materia organica, è opportuno effettuare la degradazione con concentrazioni di perossido superiori (30-35%). Inoltre, resta da considerare l'errore soggettivo di valutazione commesso da parte dell'esaminatore in fase di analisi visiva.

In Figura 56 è evidente la differenza tra un filtro "sporco" (foto a sinistra) ed uno "efficace", sulla cui superficie sono distinguibili le fluorescenze e non vi sono affollamenti di materiale (foto a destra).

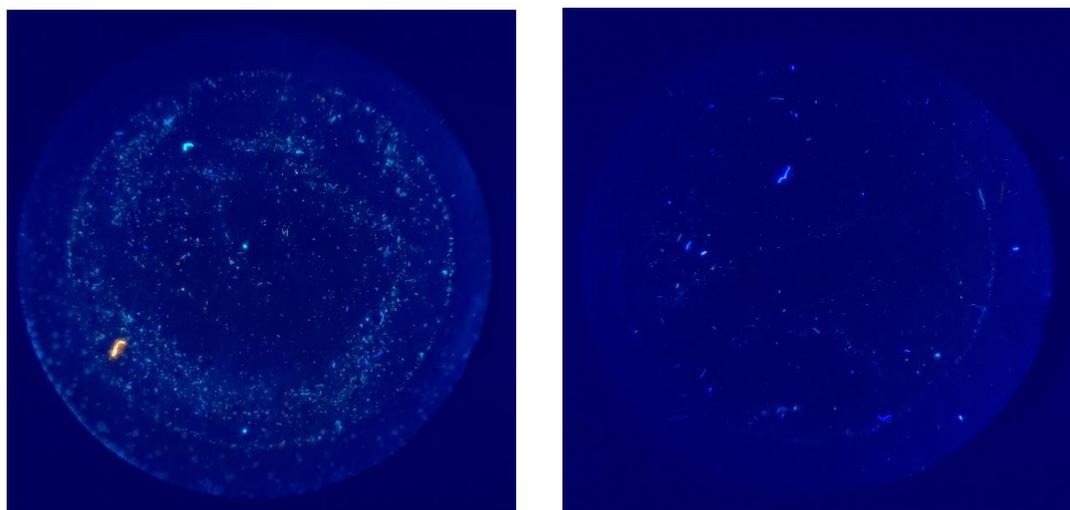


Figura 56. Confronto tra due filtri fotografati sotto luce UV.

11 Conclusioni

La plastica è il principale componente del *marine litter*, insieme a fibre tessili di varia natura, che giungono in ambiente marino da sorgenti antropiche quali scarichi industriali o da impianti di depurazione delle acque reflue, gestione scorretta dei rifiuti solidi urbani, rilascio di rifiuti in mare da parte delle imbarcazioni e attività turistiche lungo la costa.

Lo scopo di questo lavoro di tesi è l'identificazione e la quantificazione della presenza di microplastiche e fibre tessili nei campioni di sedimenti sabbiosi, in due località marittime diverse per morfologia della spiaggia, posizione geografica e influenza antropica.

I campioni di sabbia prelevati in sito sono stati analizzati in laboratorio, secondo le procedure più comunemente descritte in letteratura. I risultati, quindi, sono espressi in termini di concentrazione di microparticelle per unità di peso secco della matrice ambientale (nMP/kg).

L'analisi tramite ingrandimento su immagine conferma la presenza ubiquitaria di microplastiche e fibre tessili in ambiente marino: la distribuzione spaziale sulle spiagge non risponde a schemi univoci per i siti in esame, ma dipende dalle caratteristiche specifiche del sito e dall'azione del moto ondoso.

Per la spiaggia di Porticello, la concentrazione di microplastiche e fibre è di 771 nMP/kg nel mese di giugno, 1051 nMP/kg nel mese di settembre.

Per la spiaggia di Pezzo, invece, essa è pari a 1041 nMP/kg a giugno, 861 nMP/kg a settembre.

Questo conferma due ipotesi: la prima è quella secondo cui la spiaggia ad impatto antropico maggiore (Porticello) risulta più inquinata nei mesi successivi alla stagione estiva, a causa della contaminazione dovuta alla balneazione nei mesi di luglio e agosto. La seconda è legata alla direzione del moto ondoso e alla morfologia della spiaggia.

A Pezzo la direzione ortogonale delle onde rispetto alla linea di costa genera la movimentazione dei detriti verso monte (Figura 28). Ciò, combinato alla minore estensione in larghezza del sito, produce un accumulo di particelle maggiore in zona backshore (Tabella 20) nel mese di giugno, in conseguenza del ciclo di alta marea conclusosi qualche giorno prima del campionamento.

A Porticello, invece, la presenza del pennello (Figura 27) genera un trasporto come quello indicato in Figura 53. A giugno, infatti, il numero di microparticelle e fibre tessili riscontrato è maggiore in zona foreshore (Tabella 19), poiché il movimento delle

microplastiche avviene parallelamente alla battigia, in corrispondenza della linea di alta marea, a causa dell'incidenza trasversale delle onde.

Non è stata, invece, confermata l'ipotesi secondo cui le frazioni granulometriche più fini siano caratterizzate da una quantità maggiore di microplastiche: i risultati delle indagini scientifiche in merito evidenziano dati discordanti (Alomar et al., 2016; Peter V. et al. 2021).

Per quanto riguarda le tecniche di identificazione: l'identificazione visiva su immagine è un metodo semplice e accessibile, ma dispendioso in termini di tempo e fortemente influenzato dalla valutazione soggettiva dell'esaminatore, che può produrre errori di sovrastima o sottostima dell'effettivo numero di microparticelle ricercate.

Al fine di automatizzare il conteggio, l'identificazione delle microplastiche e delle fibre è stata effettuata anche tramite analisi di immagine su Matlab, i cui risultati sono stati valutati ponendo una soglia di errore massima del 25%, rispetto ai risultati della conta visiva.

I valori ottenuti con il programma sono accettabili solo per la spiaggia di Porticello. Per la spiaggia di Pezzo, l'errore su più della metà dei filtri è maggiore della soglia imposta.

È evidente che l'efficacia di questo metodo è subordinata alla qualità delle foto scattate sui filtri e a quella dei filtri stessi: occorre che il campione sia opportunamente purificato dal contenuto di sostanza organica ed ulteriori detriti, di modo da ottenere un'immagine della superficie filtrante chiara e nitida. La soluzione di perossido (H_2O_2) al 15% non si è rivelata ottimale per i filtri della spiaggia di Pezzo: la scelta dell'agente ossidante dovrebbe essere subordinata al grado di impurità della matrice campionata, per mezzo di analisi di caratterizzazione dei sedimenti.

Inoltre, l'efficacia della fase di filtrazione nel prelevare il materiale leggero, flottato in seguito alla separazione densimetrica con soluzione salina, è molto delicata e soggetta all'esperienza dell'operatore.

Per quanto riguarda la componente di fibre nei campioni analizzati, l'identificazione e la quantificazione su Matlab non consentono di caratterizzarne la composizione (naturale o sintetica). Dall'analisi al microscopio su un terzo dei filtri è emersa la prevalenza di fibre sintetiche su tutti i campioni, contrariamente a molti studi sulle microplastiche nei campioni ambientali, che riscontrano una maggiore concentrazione di fibre animali o vegetali.

Una conoscenza più approfondita del problema di contaminazione da microplastica e fibre richiede la standardizzazione delle procedure operative. Ad oggi, i risultati delle indagini scientifiche sono tra loro contrastanti, poiché non esistono procedure standardizzate per il campionamento e l'analisi delle microplastiche o delle fibre nei sedimenti sabbiosi. L'unità

di misura in cui sono espressi i risultati dipende dall'obiettivo di ciascuna indagine. Il litro è in genere riferito all'acqua o ai sedimenti, mentre il chilogrammo può riferirsi al peso secco o umido del tipo di suolo campionato.

Questa difformità rende ostica la comparazione anche tra risultati di studi sulla stessa matrice ambientale (*CEN ISO TR 21960:2020*).

Inoltre, nonostante l'inquinamento da microplastica sia un tema di interesse crescente per la comunità scientifica, gli studi sui campioni di sedimenti non sono ancora così numerosi e approfonditi, come quelli che analizzano il contenuto di microplastiche in mari, oceani o acque superficiali.

Bibliografia

- Accordo Operativo ex art. 15 della legge 241/90 e ss.mm.ii. di attuazione del d.lgs. n. 190/2010 di recepimento della Direttiva 2008/56/CE (Direttiva Quadro sulla Strategia Marina). <http://www.arpacal.it/index.php/temi-ambientali?id=705>
- Allsopp, Walters, Santillo, Johnston, 2006. Plastic Debris in the World's Oceans. Greenpeace. Netherlands.
- Alomar C, Estarellas F, Deudero S., 2016. Microplastics in the Mediterranean Sea: deposition in coastal shallow sediments, spatial variation and preferential grain size. *Marine Environmental Research*.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.01.005>
- Andrady, A. L., 2011. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62,1596–1605.
- Andrady, A. L., 2015. Persistence of plastic litter in the oceans. *Marine anthropogenic litter 2015*, pp. 57–72, Springer.
- Andrady, A., Pegram, J., Searle, N., 1996. Wavelength sensitivity of enhanced photodegradable, 62 (9), 1457–1463.
- Arthur, C., Baker, J. & Bamford, H. 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Micro-plastic Marine Debris, September 9–11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30.
- Balestra, V., Bellopede, R., 2021. Microplastic pollution in show cave sediments: First evidence and detection technique. *Environmental Pollution* 292, Elsevier.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749121018431?via%3Dihub>
- Barnes, Galgani, Thompson, Barlaz, 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments, 364 (1526), 1985–1998.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Bergmann, Kutow, Klages, 2015. *Marine Anthropogenic Litter*. Springer.
- Besseling E, Foekema EM, Van Franeker JA, Leopold MF, Kuhn S, Rebolledo EB, Hese E, Mielke L, IJzer J, Kamminga P, Koelmans AA., 2015. Microplastic in a macro filter feeder: humpback whale *Megaptera novaeangliae*. *Marine Pollution Bulletin*, Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.007>
- Boucher C, Morin M, Bendell LI, 2016. The influence of cosmetic microbeads on the sorptive behaviour of cadmium and lead within intertidal sediments: a laboratory study. *Regional Studies in Marine Science*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352485515300025>
- Cai, L., Wang, J., Peng, J., Tan, Z., Zhan, Z., Tan, X., Chen, Q., 2017. Characteristic of microplastics in the atmospheric fallout from Dongguan city, China: preliminary research and first evidence. *Environ. Science and Pollution Research*, 24 (32), 24928–24935.
<https://link.springer.com/article/10.1007/S11356-017-0116-X>

- Catarino AI, Thompson R, Sanderson W, Henry TB, 2016. Development and optimization of a standard method for extraction of microplastics in mussels by enzyme digestion of soft tissues. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
<https://doi.org/10.1002/etc.3608>
- Cauwenberghe LV, Claessens M, Vandegehuchte MB, Janssen CR, 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution*.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>
- CEN ISO TR 21960:2020. Plastics, environmental aspects: state of knowledge and methodologies.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:tr:21960:ed-1:v1:en>
- Chunfang Zhang, Hanghai Zhou, Yaozong Cui, Chunsheng Wang, Yanhong Li, Dongdong Zhang, 2019. Microplastics in offshore sediment in the Yellow Sea and East China Sea, China. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.102>
- Claessens M, Meester SD, Landuyt LV, Clerck KD, Janssen CR., 2011. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>
- Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B., & Janssen, C. R., 2013. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.009>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* 2016, 62, 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Cooper, D. A., Corcoran, P. L., 2010. Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of kauai, hawaii. *Marine Pollution Bulletin* 60 (5), 650–654.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.026>
- Corami F, Rosso B, Roman M, Picone M, Gambaro A, Barbante C., 2020. Evidence of small microplastics (<100 µm) ingestion by Pacific oysters (*Crassostrea gigas*): A novel method of extraction, purification, and analysis using Micro-FTIR. *Marine Pollution Bulletin* 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111606>
- Costa, M. F., Silva-Cavalcanti, J. S., Barbosa, C. C., Portugal, J. L., & Barletta, M., 2011. Plastics buried in the inter-tidal plain of a tropical estuarine ecosystem. *Journal of Coastal Research*.
- Crawford, C.B., Quinn, B., 2017. *Microplastic Pollutants*. Elsevier.
- Descrittore 10. Rifiuti marini, il monitoraggio dei rifiuti spiaggiati in Calabria. (ArpaCal, Ispra, Regione Calabria, MATTM, SNPA),
- Di Mauro R, Kupchik JM, Benfield MC., 2017. Abundant Plankton-Sized Microplastic Particles in Shelf Waters of the Northern Gulf of Mexico. *Environmental Pollution*, Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.030>

- Drinking Water Inspectorate, 2019. Sink to River – River to Tap. A review of potential risks from nanoplastic and microplastic. London: DWI.
- Dris R, Imhof HK, Löder M, Gasperi J, Laforsch C, Tassin B., 2018. Microplastic contamination in freshwater systems: methodological challenges, occurrence and source. In: Zeng E. (Ed.). Microplastic contamination in aquatic environment. An emerging matter of environmental urgency. Guangzhou: Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813747-5.00003-5>
- Dris, R., Gasperi, J., Saad, M., Mirande, C., Tassin, B., 2016. Synthetic fibers in atmospheric fallout: a source of MPs in the environment. *Marine Pollution Bulletin*, 104, 290–293.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.006>
- Duis K, Coors A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. Environmental Sciences Europe.
- E. Hendrickson, E. Minor, K. Schreiner, 2018. Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior as determined via Microscopy, Pyro-GC/MS, and FTIR.
- ECHA 2019: Proposal for a restriction: intentionally added microplastics (Annex XV restriction report: Version 1.2). Helsinki: European Chemical Agency (ECHA).
- Eerkes-Medrano D, Thompson RC, Aldridge DC., 2015. Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Research*.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.012>
- Ehlers, S. M., Maxein, J., Koop, J.H.E., 2020. Low-cost microplastic visualization in feeding experiments using an ultraviolet light-emitting flashlight. *Ecological Research* 35. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12080>
- Enders, K., Tagg, A.S., Labrenz, M., 2020. Evaluation of Electrostatic Separation of Microplastics From Mineral-Rich Environmental Samples. *Frontiers in Environmental Science*. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.00112>
- Eriksen M, Mason S, Wilson S, Box C, Zellers A, Edwards W, Farley H, Amato S., 2013. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>
- Eriksen, M., Lebreton, L. C., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., et al., 2014. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea.
- Erni-Cassola G, Gibson MI, Thompson RC, Christie-Oleza J. Lost, but found with Nile red; a novel method to detect and quantify small microplastics (20 µm–1 mm) in environmental samples. *Environmental Science and Technology* 2017.
- EU 2008. Direttiva 56/2008/CEE: Marine Strategy Framework Directive.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=LEGISSUM:l28164>

- EU 2010. Commission decision of 1 September 2010 on criteria and methodological standards on good environmental status of marine waters (2010/477/EU).
- Faure F, Saini C, Potter G, Galgani F, Alencastro LF, Haggmann P., 2015. An evaluation of surface micro- and mesoplastic pollution in pelagic ecosystems of the Western Mediterranean Sea. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4453-3>
- Fu Z, Guanglong C, Wang W, Wang J. Microplastic pollution research methodologies, abundance, characteristics and risk assessments for aquatic biota in China. *Environmental Pollution* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115098>
- Galgani, F., Hanke, G., Werner, S., Oosterbaan, L., Nilsson, P., Fleet, D., et al., 2013. Monitoring guidance for marine litter in European Seas, JRC Scientific and Policy Reports, Report EUR 26113 EN. [10.2788/99475](https://doi.org/10.2788/99475)
- Galgani, Leaute, Moguedet, Souplet, Verin, Carpentier, Goraguer, Latrouite, Andral, Cadiou, Mahe, Poulard, Nerisson, 2000. Litter on the sea floor along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(99\)00234-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(99)00234-9)
- Gall, S.C., Thompson, R.C., 2015. The impact of debris on marine life. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.041>
- Gallagher A, Rees A, Rowe R, Stevens J, Wright P., 2016. Microplastics in the Solent estuarine, *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.002>
- Harrison, J., Ojeda, J., Romero-González, M., 2012. The applicability of reflectance micro- in marine sediments. *Science of Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.078>.
- Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M., 2012. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science and Technology*, p.3061 (3060-3075). <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es2031505>
- Hidalgo-Ruz, V., Thiel, M., 2013. Distribution and abundance of small plastic debris on beaches in the SE Pacific (Chile): a study supported by a citizen science project. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.02.015>
- Hinata, H., Mori, K., Ohno, K., Miyao, Y., Kataoka, T., 2017. An estimation of the average residence times and onshore-offshore diffusivities of beached microplastics based on the population decay of tagged meso- and macrolitter. *Mar. Pollut. Bull.* <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.012>
- Imhof, H.K., Schmid, J., Niessner, R., Ivleva, N.P., Laforsch, C., 2012. A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments. *Limnology and Oceanography: Methods* 10(7), American Society of Limnology and Oceanography. <https://aslopubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.4319/lom.2012.10.524>

- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., R. Narayan, K. Lavender Law, 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1260352>
- Joanne S. Hanvey, Phoebe J. Lewis, Jennifer L. Lavers, Nicholas D. Crosbie, Karla Pozo, Bradley O. Clarke, 2017. Analytical Methods journal: A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. <https://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/analytical-methods/>
- JRC (Joint Research Centre), 2011. MSFD GES technical subgroup on marine litter, and technical recommendations for the implementation of MSFD requirements. Luxembourg. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC67300>
- Karami A, Golieskardi A, Choo CK, Romano N, Ho YB, Salamatinia B., 2017. A high-performance protocol for the extraction of microplastics in fish. Science of the Total Environment. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969716324111>
- Klein, S., Worch, E., Knepper, T.P., 2015. Occurrence and spatial distribution of microplastics in river shore sediments of the rhine-main area in Germany. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00492>
- Koelmans B, Mohamed Nor NH, Hermsen E, Kooi, Mintenig S, De France J., 2019. Microplastics in freshwaters and drinking water: Critical review and assessment of data quality. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.054>
- Ladewig, S., Bao, S., Chow, A., 2015. Natural fibers: a missing link to chemical pollution dispersion in aquatic environments. Environ. Sci. Technol. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04754>
- Lee J, Chae KJ., 2021. A systematic protocol of microplastics analysis from their identification to quantification in water environment: A comprehensive review. Journal of Hazardous Materials. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124049>
- Lee J, Hong S, Song YK, Hong SH, Jang YC, Jang M, Heo NW, Han GM, Lee MJ, Kang D, Shim WJ., 2013. Relationships among the abundances of plastic debris in different size classes on beaches in South Korea. Marine Pollution Bulletin. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.013>
- Lee, J., Lee, J.S., Jang, Y.C., Hong, S.Y., Shim, W.J., Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., Han, G.M., Kang, D., Hong, S., 2015. Distribution and size relationships of plastic marine debris on beaches in South Korea. Arch. Environ. Contam. Toxicol. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0208-x>
- Löder MGJ, Imhof HK, Ladehoff M, Löschel LA, Lorenz C, Mintenig S, Piehl, Primpke S, Schrank I, Laforsch C, Gerdts G., 2017. Enzymatic purification of microplastics in environmental samples. Environmental Science and Technology. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03055>
- Lorenzo Martellone, Luca Lucentini, Daniela Mattei, Massimo De Vincenzo, Gabriele Favero, Sara Bogialli, Lucio Litti, Moreno Meneghetti, Fabiana Corami,

- Beatrice Rosso, 2021. Rapporto ISTISAN 21/2. Strategie di campionamento di microplastiche negli ambienti acquatici e metodi di pretrattamento.
<https://www.iss.it/>
- Lourens J.J. Meijer, Tim Van Emmerik, Ruud Van Der Ent, Christian Schmidt, Laurent Lebreton, 2021. More than 1000 rivers account for 80% of global riverine plastic emissions into the ocean. *Science Advances*, pp. 2-3.
<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aaz5803>
 - Lusher, A., Hollman, P., Mendoza-Hill, J., 2017. Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*.
 - Martins J, Sobral P., 2011. Plastic marine debris on the Portuguese coastline: a matter of size? *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.028>
 - Matsuguma, Takada, Kumata, Kanke, Sakurai, Suzuki, Itoh, Okazaki, Boonyatumanond, Zakaria, Weerts, Newman, 2017. Microplastics in Sediment Cores from Asia and Africa as Indicators of Temporal Trends in Plastic Pollution.
<https://doi.org/10.1007/s00244-017-0414-9>
 - Montserrat Filella, 2015. Questions of size and numbers in environmental research on microplastics: methodological and conceptual aspects.
 - Moore, S. L., Gregorio, D., Carreon, M., Weisberg, S. B., & Leecaster, M. K., 2001. Composition and distribution of beach debris in Orange County, California. *Marine Pollution Bulletin*.
[https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00148-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00148-X)
 - Moreira, F.T., Prantoni, A.L., Martini, B., de Abreu, M.A., Stoiev, S.B., Turra, A., 2016. Small-scale temporal and spatial variability in the abundance of plastic pellets on sandy beaches: methodological considerations for estimating the input of microplastics. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.051>
 - Morét-Ferguson, Law KL, Proskurowski G, Murphy EK, Peacock EE, Reddy CM, 2010. The Size, mass, and composition of plastic debris in the Western North Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.020>
 - Munno K, Helm PA, Jackson DA, Rochman C, Sims A., 2018. Impact of temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
<https://doi.org/10.1002/etc.3935>
 - Nayak, R., Padhye, R., Fergusson, S., 2020. Identification of natural textile fibres. *Handbook of Natural Fibres (2nd edition)*.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818398-4.00016-5>
 - NF, NUOVE FIBRE 2000.
<http://www.technica.net/NF/welcome.html>
 - NOAA, 2015. Marine Debris Program. Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for quantifying

- synthetic particles in waters and sediments (Technical Memorandum NOS-OR&R-48). Tacoma: Silver Spring.
- Nuelle M, Dekiff JH, Remy D, Fries E., 2014. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.027>
 - Obbard, R.W., Sadri, S., Wong, Y.Q., Khitun, A.A., Baker, I., Thompson, R.C., 2014. Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice.
<https://doi.org/10.1002/2014EF000240>
 - Qiu Q, Tan Z, Wang J, Peng J, Li M, Zhan Z., 2016. Extraction, enumeration, and identification methods for monitoring microplastics in the environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.04.012>
 - Qiu, Q., Peng, J., Yu, X., Chen, F., Wang, J., Dong, F., 2015. Occurrence of microplastics in the coastal marine environment: First observation on sediment of China. *Marine Pollution Bulletin* 98, Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.028>
 - Quinn B, Murphy F, Ewins C., 2016. Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment. *Analytical Methods*.
 - Regione Calabria, 2016. Misure di conservazione dei siti di importanza comunitaria della provincia di Reggio Calabria, Parte Terza.
<https://www.parchimarinicalabria.it/ente-gestore-zsc/misure-di-conservazione>
 - Rocha-Santos T, Duarte AC, 2015. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behaviour of microplastics in the environment. *Trends in Analytical Chemistry*.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>
 - Rochman CM, Browne MA, Halpern BS, Hentschel BT, Hoh E, Karapanagioti HK, Rios-Mendoza LM, Takada H, Teh S, Thompson RC, 2013. Classify plastic waste as hazardous. *Nature*.
<https://www.nature.com/articles/494169a>
 - Ryan, P. G., Moore, C. J., van Franeker, J. A. & Moloney, C. L. 2009. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.*, 364 (1526), 1999–2012.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0207>
 - Sasha Klein, Ian K. Dimzon, Jan Eubeler, Thomas P. Knepper, 2017. Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment. *The Handbook of Environmental Chemistry*.
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-61615-5_3
 - Sherrington C, Darrah C, Hann S, Cole G, Corbin M., 2016. Study to support the development of measures to combat a range of marine litter sources. Report for the European Commission DG Environment.
 - Silvia Merlino, Marco Paterni, Andrea Berton, Luciano Massetti, 2020. Unmanned Aerial Vehicles for Debris Survey in Coastal Areas: Long-Term Monitoring Programme to Study Spatial and Temporal Accumulation of the

Dynamics of Beached Marine Litter. <https://www.mdpi.com/2072-4292/12/8/1260/htm>

- Song YK, Hong SH, Jang M, Kang J, Kwon OY, Han GM, et al., 2014. Large accumulation of micro-sized synthetic polymer particles in the sea surface microlayer. *Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1021/es501757s>
- Sudhakar, K., Thanuskodi, S., 2018. A Scientometric Analysis. *Marine Pollution Bulletin*.
- Suran, M., 2018. A planet too rich in fibre: microfibre pollution may have major consequences on the environment and human health. <https://doi.org/10.15252/embr.201846701>
- Thiel, M., Hinojosa, I. A., Miranda, L., Pantoja, J. F., Rivadeneira, M. M., & Vásquez, N., 2013. Anthropogenic marine debris in the coastal environment: A multi-year comparison between coastal waters and local shores. *Marine Pollution Bulletin*. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.005>
- Thomas Stanton, Matthew Johnson, Paul Nathanail, William MacNaughtan, Rachel L. Gomes, 2019. Freshwater and airborne textile fibre populations are dominated by ‘natural’, not microplastic, fibre, p. 378 (377-389), p. 384 (377-389). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.278>
- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AWG, McGonigle D, Russell AE., 2004. Lost at sea: where is all the plastic? <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
- Topçu, Tonay, Dede, A.A. Ozturk, B. Ozturk, 2013. Origin and abundance of marine litter along sandy beaches of the Turkish Western Black Sea Coast. *Marine Environmental Research*. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.006>
- Turner and Holmes, 2011. Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.09.027>
- Turra, Manzano, Dias, M. Mahiques, Balthazar-Silva, Moreira, 2014. Threedimensional distribution of plastic pellets in sandy beaches. Shifting paradigms. *Nature Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/srep04435>
- UNEP, 2005. *Marine Litter. An analytical overview*.
- UNEP, 2009. *Marine Litter: A Global Challenge*.
- Vermeiren, Lercari, Munoz, Ikejima, Celentano, Jorge-Romero, Defeo, 2021. Sediment grain size determines microplastic exposure landscapes for sandy beach macroinfauna. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117308>
- Yonkos, Friedel, Perez-Reyes, Ghosal, S., Arthur, 2014. Microplastics in four estuarine rivers in the Chesapeake Bay, U.S.A. <https://doi.org/10.1021/es5036317>
- Zhao, S., Zhu, L., Li, D., 2016. Microscopic anthropogenic litter in terrestrial birds from Shanghai, China: not only plastics but also natural fibers. *Sci. Total Environ.* 550, 1110–1115. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.112>

- Zhao, Zhu, Wang, Li, 2014. Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: first observations on occurrence, distribution. Marine Pollution Bulletin.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.032>

Sitografia

<https://www.ecowatch.com/microplastics-toxin-magnet.html>

<http://www.strategiamarina.isprambiente.it/descrittori/i-descrittori-della-strategia-marina>

<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>

<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>

<http://www.pcn.minambiente.it/viewerMobile/>

<https://www.mite.gov.it/pagina/rete-natura-2000>

www.arpacal.it

Allegato I

Foto sui filtri irradiati da luce UV. Le lettere AB e CD indicano la zona di prelievo del campione: rispettivamente in prossimità della battigia (foreshore) e nella zona di spiaggia retrostante (backshore).

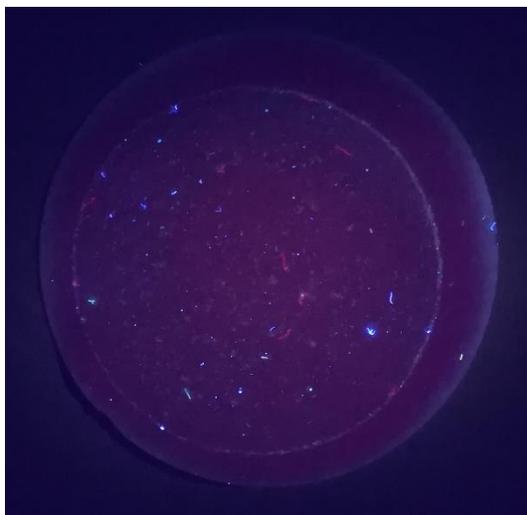
Le lettere *a*, *b*, *c* indicano i sottocampioni ottenuti dalla separazione granulometrica di ogni campione:

a >1 mm

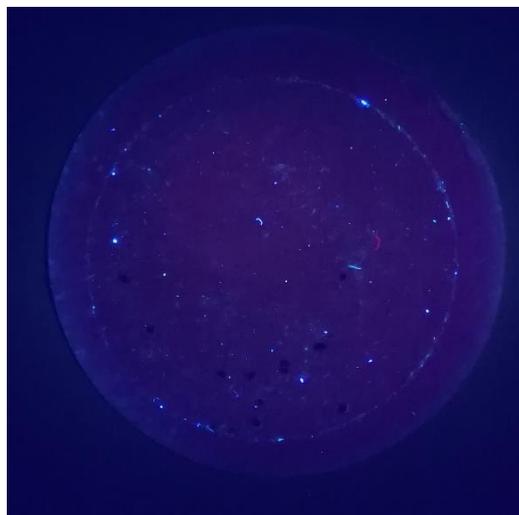
b 1-0.5 mm

c 0.5-0.25, <0.25 mm

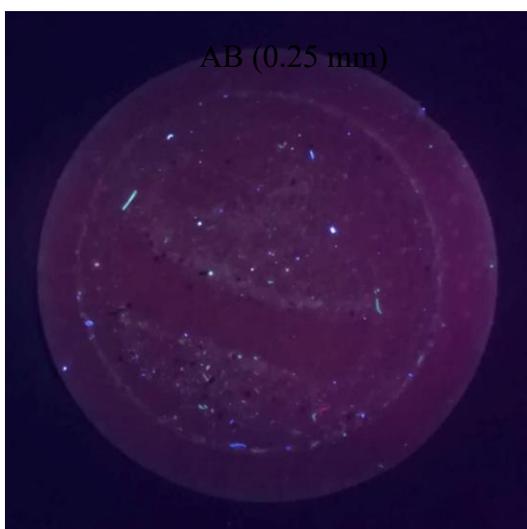
➤ PORTICELLO- giugno



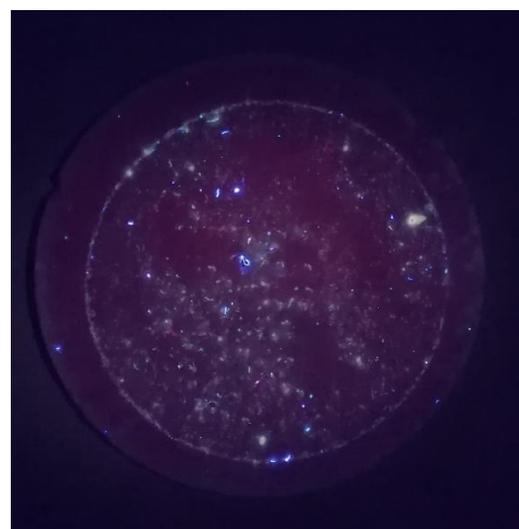
AB (*a*)



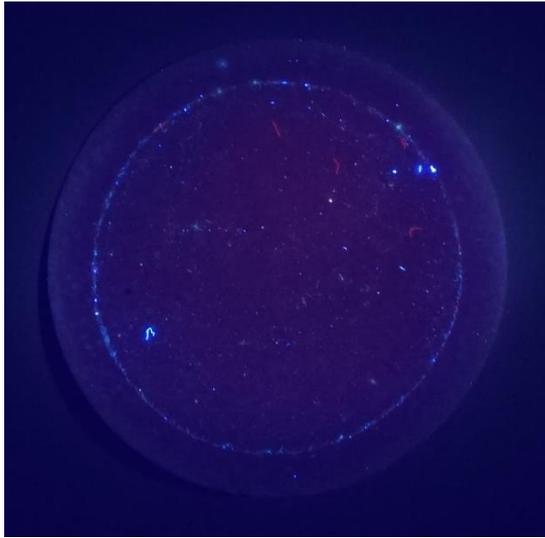
AB (*b*)



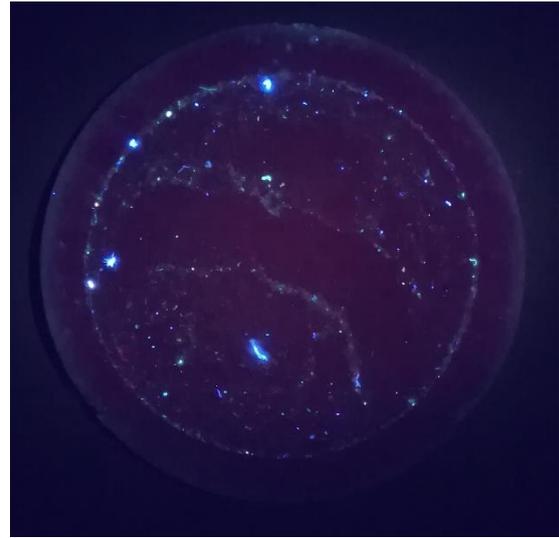
AB (*c*)



CD (*a*)

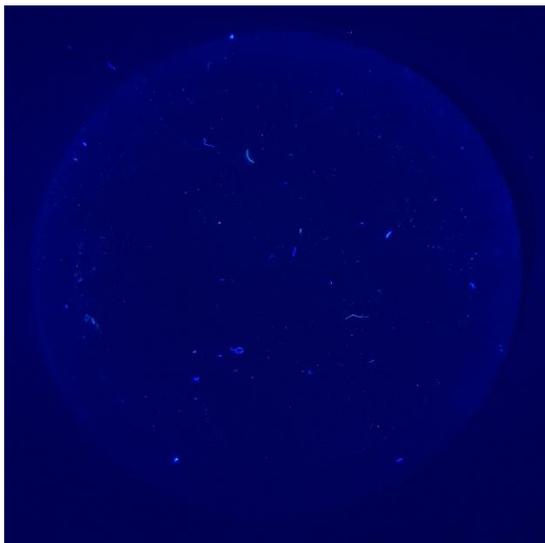


CD (b)

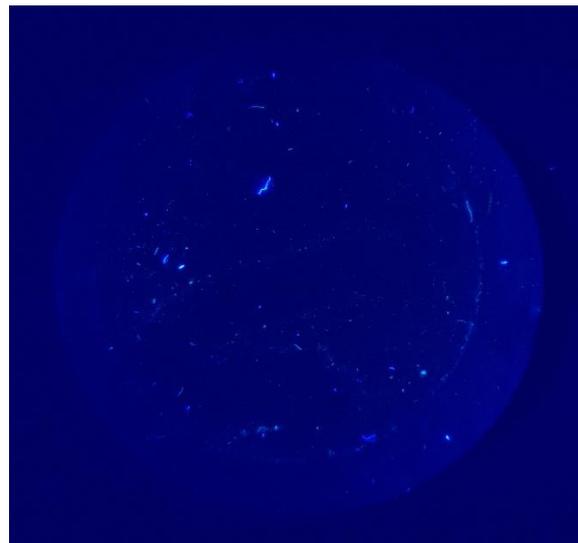


CD (c)

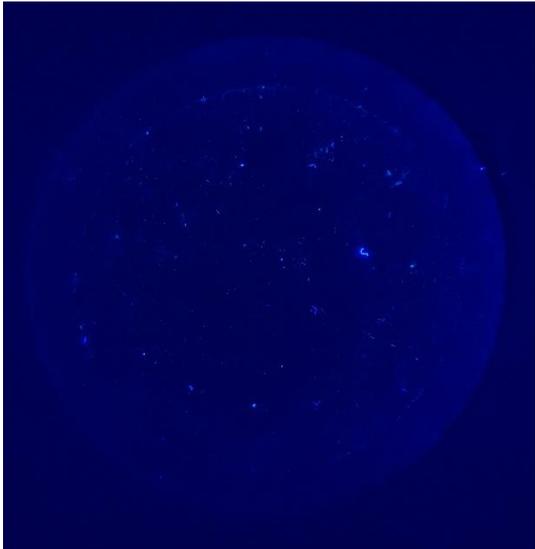
➤ PORTICELLO- settembre



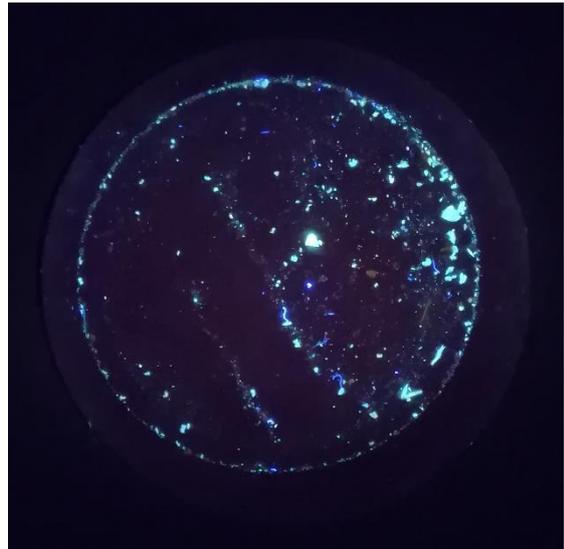
AB (a)



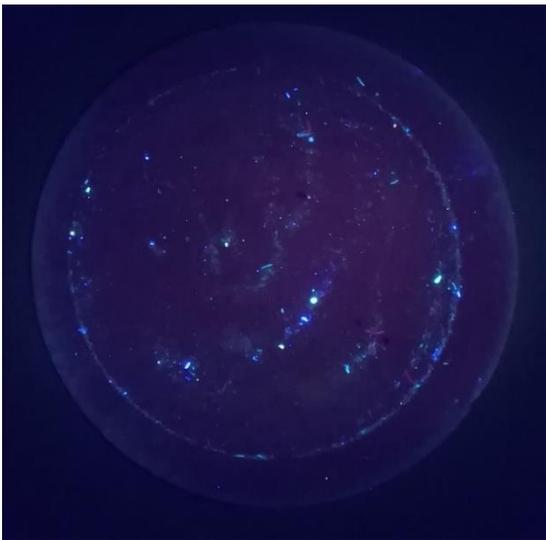
AB (b)



AB (c)



CD (a)

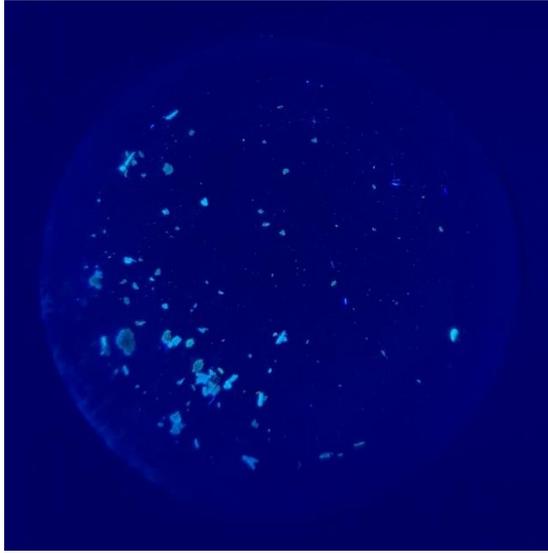


CD (b)

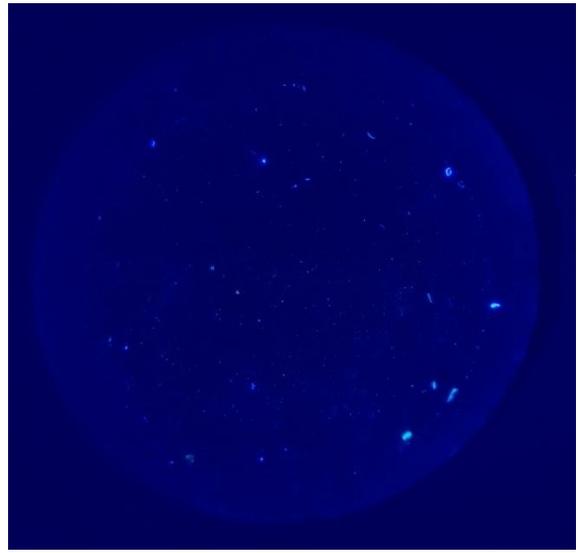


CD (c)

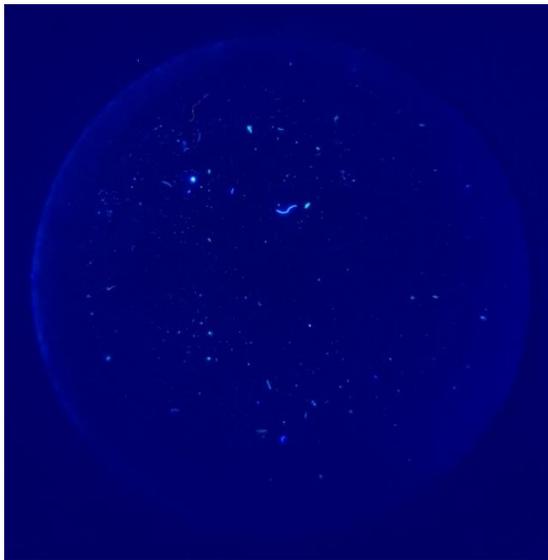
➤ PEZZO-giugno



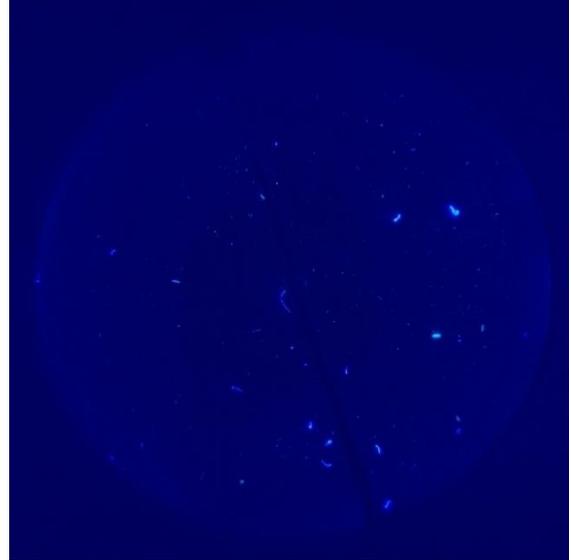
AB (a)



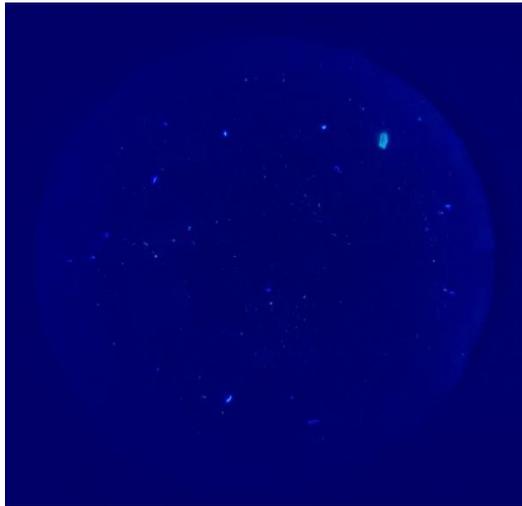
AB (b)



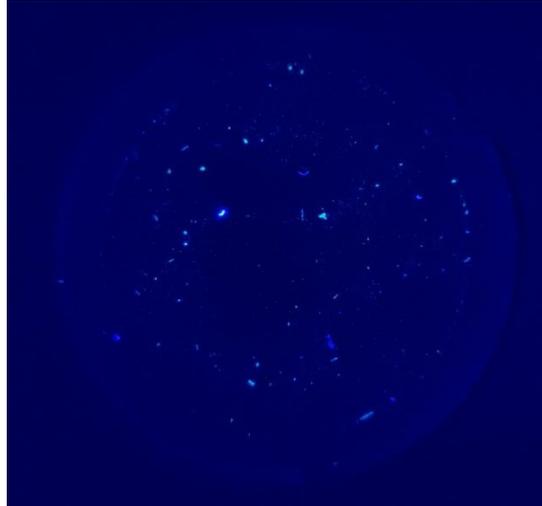
AB (c)



C (a)

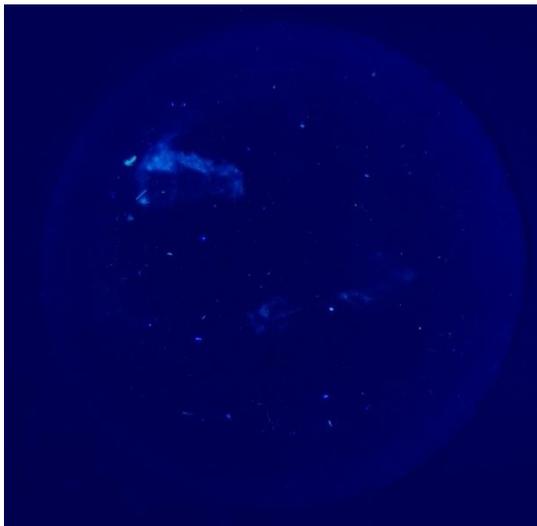


C (b)

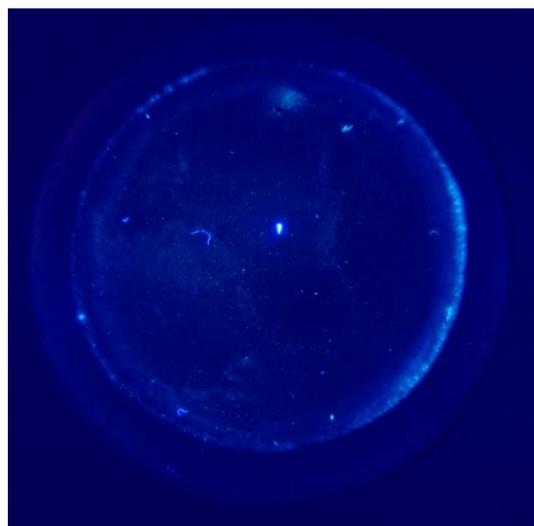


C (c)

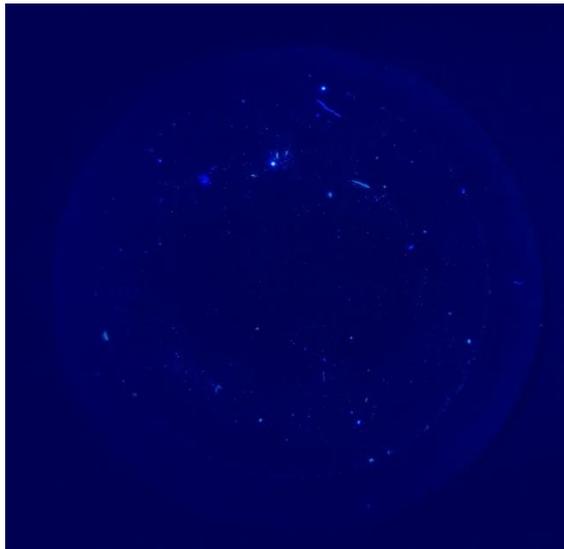
➤ PEZZO- settembre



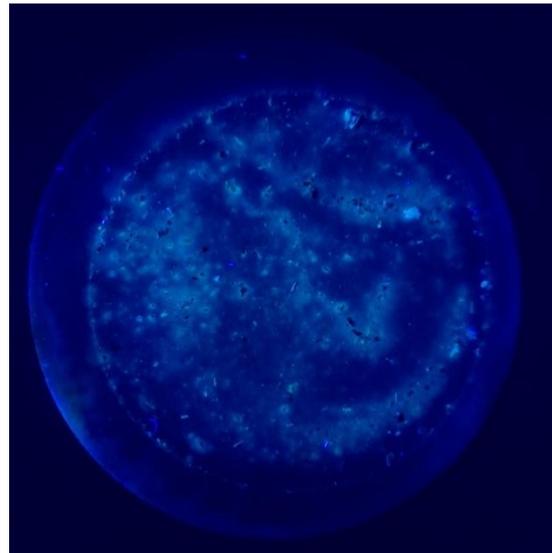
AB (a)



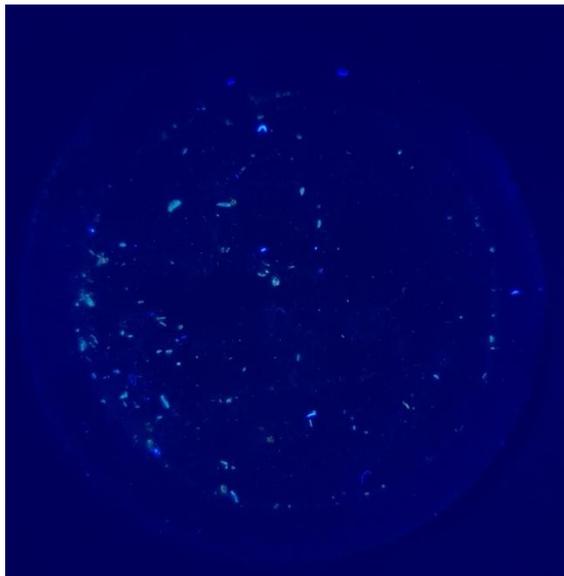
AB (b)



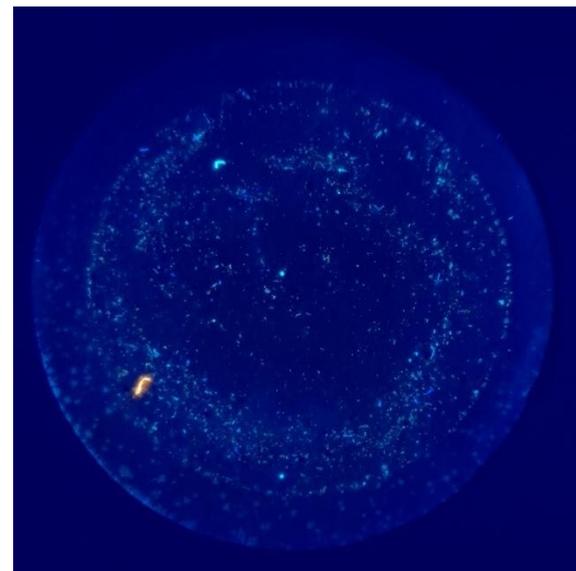
AB (c)



CD (a)



CD (b)



CD (c)