

CAMPIONAMENTO, SEPARAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI PLASTICHE IN AMBIENTI FLUVIALI E LACUSTRI



LINEE GUIDA

Dicembre 2023

© LE2C - Lombardy Energy Cleantech Cluster - 2023

ISBN: 9788894555721



Il contenuto del documento è di proprietà di Lombardy Energy Cleantech Cluster (LE2C).
Il documento è distribuito nei termini e nelle condizioni relativi alla licenza Creative Commons Attribuzione 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Progettazione grafica e stampa a cura di creative-farm.it

Stampato su carta Carta patinata opaca 70% PEFC.

PUBBLICAZIONE

Le linee-guida per il campionamento, separazione e caratterizzazione di plastiche in ambienti fluviali e lacustri sono state sviluppate nell'ambito delle attività del Gruppo di Lavoro Microinquinanti Emergenti (GdL-MIE), coordinato da Gianni Tartari e Giovanni Bergna per conto di Lombardy Energy Cleantech Cluster, attivo da febbraio 2018.

Data pubblicazione: **dicembre 2023**.

CURATORI DEL VOLUME

L'edizione del volume è stata curata, per conto del Lombardy Energy Cleantech Cluster da Claudia Doria (LE2C), Gianni Tartari (LE2C), Giovanni Bergna (Lariana Depur).

AUTORI DELLA GUIDA

Il volume è stato realizzato dagli Esperti del GdL-MIE che hanno collaborato nel Sottogruppo di Lavoro (SdL) "*Monitoraggio e Tecniche Analitiche*" coordinato da Andrea Binelli (Università degli Studi di Milano), Maria Boccuti (ARPA Lombardia), Sara Castiglioni (Istituto Ricerca Farmacologiche Mario Negri) e Luisa Colzani (ARPA Lombardia).

Alla stesura delle Linee Guida hanno contribuito come autori:

Binelli Andrea, Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, via Celoria 26, 20133 Milano.

Magni Stefano, Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, via Celoria 26, 20133 Milano.

Colzani Luisa, ARPA Lombardia, Settore Laboratori, U.O. Contaminanti Emergenti, via Donatelli 5, 20162, Milano.

De Gregorio Maria Antonietta, ARPA Lombardia, Settore Laboratori, U.O. Laboratorio Regionale Area Ovest, via Donatelli 5, 20162, Milano.

Depero Laura, Dipartimento d'Ingegneria Meccanica e Industriale, Università degli Studi di Brescia, via Branze 38, 25123 Brescia.

Federici Stefania, Dipartimento d'Ingegneria Meccanica e Industriale, Università degli Studi di Brescia, via Branze 38, 25123 Brescia.

Galafassi Silvia, Istituto di Ricerca Sulle Acque, CNR-IRSA, Sede Secondaria di Verbania-Pallanza, Viale Tonolli 50, 28922 Verbania.

In caso di citazione del documento si suggerisce di indicare la fonte come qui riportato:
Binelli A., Magni S., Colzani L., De Gregorio M.A., Depero L., Federici S., Galafassi S. 2023. *Campionamento, separazione e caratterizzazione di plastiche in ambienti fluviali e lacustri*. Lombardy Energy Cleantech Cluster, Milano, GdL-MIE (SdL-MTA), Linee Guida. 30 pp.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Prof.ssa Francesca Modugno e il Dott. Marco Mattonai dell'Università di Pisa per il loro contributo relativo ai metodi termo-analitici.

Gli Autori della presente Linea Guida desiderano ringraziare il Presidente e l'intero Staff del Lombardy Energy Cleantech Cluster per aver sostenuto questa iniziativa editoriale e i Curatori del Volume per aver consentito la realizzazione di questo documento, seguendone in particolare la parte editoriale.

Si ringraziano, inoltre, tutti i partecipanti al Sottogruppo di Lavoro "Monitoraggio e Tecniche Analitiche" (SdL-MTA) del Gruppo di Lavoro Microinquinanti Emergenti per aver sostenuto la pubblicazione di questa guida.

PREFAZIONE



Il Lombardy Energy Cleantech Cluster (LE2C) si dedica da anni alla promozione della sostenibilità ambientale e alla tutela della qualità della risorsa idrica. Il Gruppo di Lavoro Microinquinanti Emergenti (GdL-MIE), promosso da LE2C e composto da esperti di rilievo a livello accademico e non solo, si è posto l'obiettivo di fornire strumenti tecnici e linee guida per lo sviluppo delle politiche regionali cruciali volti al mantenimento di elevati standard di qualità delle acque.

Il coinvolgimento attivo del GdL-MIE sottolinea l'attenzione del Cluster alle problematiche ambientali legate alla presenza di inquinanti nelle acque. Le microplastiche, infatti, minacciano gli ecosistemi acquatici e la biodiversità, e possono avere impatti sulla salute umana.

L'impegno del Cluster nel diffondere queste linee-guida per il campionamento, separazione e caratterizzazione di plastiche redatte da un gruppo di esperti dell'Università degli Studi di Milano, dell'ARPA Lombardia, dell'Università degli Studi di Brescia e dell'Istituto di Ricerca Sulle Acque, CNR, riflette la volontà di affrontare la contaminazione da microplastiche, fornendo metodologie standardizzate e affidabili nel monitoraggio per la loro gestione negli ambienti acquatici. La pubblicazione di questo documento testimonia l'importante contributo del Cluster nella lotta all'inquinamento ambientale, dimostrando un impegno tangibile verso la salvaguardia degli ecosistemi acquatici e la promozione di pratiche sostenibili.

Il contributo degli autori e dei professionisti coinvolti nel GdL-MIE è stato determinante nella creazione di un documento di indirizzo importante, che testimonia la preziosa collaborazione tra diversi professionisti e enti del settore, un risultato reso possibile grazie all'impegno del Cluster LE2C e alla proficua collaborazione con la Regione Lombardia.

Nel ringraziare coloro che hanno reso possibile la creazione di questo documento, è doveroso sottolineare il loro ruolo fondamentale nella costruzione di comunità resilienti e sostenibili. La salvaguardia del comparto acquatico, la gestione sostenibile delle risorse idriche ed energetiche e la sicurezza pubblica sono un impegno collettivo, e questo documento rappresenta un passo avanti significativo verso la costruzione di un futuro più sicuro per tutti.

30 ottobre 2023

Carmen Disanto
Direttrice del Lombardy Energy Cleantech Cluster (LE2C)

PREMESSA



Il Gruppo di Lavoro Microinquinanti Emergenti (GdL-MIE), costituito nel 2018 dal Lombardy Energy Cleantech Cluster (LE2C) e che afferisce come progetto speciale all'Area di Competenza "Water Energy Nexus", è nato con l'obiettivo di esaminare lo stato delle conoscenze sulla presenza, diffusione e pericolosità dei microinquinanti emergenti (MIE) in Lombardia. Attività che si è poi estesa anche alle microplastiche (MP) per la loro crescente presenza nei comparti acquatici, ma per le quali esistono ancora delle carenze conoscitive nelle metodologie di monitoraggio, di analisi e di valutazione del rischio ambientale ed umano.

Fin dall'inizio il GdL-MIE ha visto il coinvolgimento di Regione Lombardia (attualmente identificata nell'Unità Organizzativa "Utilizzo risorsa idrica") interessata a utilizzare il quadro delle conoscenze per indirizzare la gestione delle risorse idriche, come ad esempio negli aggiornamenti in corso al Piano di Tutela delle Acque. Questa collaborazione è stata formalizzata nel 2022 con la firma di un "Protocollo di intesa" tra Regione Lombardia e Lombardy Energy Cleantech Cluster volto a facilitare e rafforzare la finalizzazione delle azioni di tutela delle risorse idriche e, più in generale, al tema della qualità delle acque in senso lato.

Al GdL-MIE hanno aderito su base volontaria 32 enti della ricerca, delle università, delle aziende del servizio idrico integrato e di aziende che producono tecnologie per il trattamento delle acque, presenti in Lombardia, con l'obiettivo di contribuire alla definizione di strategie gestionali che tengano conto della sintesi che nasce dal confronto delle conoscenze degli organi di ricerca e delle esperienze delle aziende coinvolte.

Nel 2020 il GdL-MIE ha pubblicato il rapporto "Inquinanti emergenti", che riassume il quadro dello stato dell'arte delle conoscenze in Lombardia. Alla fine del 2022 il GdL-MIE ha avviato una nuova fase che, partendo dai risultati ottenuti e pubblicati e dai gap evidenziati, si pone l'obiettivo di affrontare in modo più ampio e dettagliato la questione legata alla diffusione di microinquinanti e microplastiche nell'ambiente acquatico lombardo.

Per questa seconda fase del progetto sono stati individuati tre Sottogruppi di Lavoro (SdL) ai quali demandare, in un'ottica interattiva e collaborativa, l'approfondimento dei percorsi scientifici e tecnici per formulare proposte che soddisfino aspetti concreti nella gestione della diffusione degli inquinanti emergenti e delle microplastiche. I tre Sottogruppi di Lavoro riguardano:

- a) il monitoraggio e le tecniche analitiche (SdL-MTA), che si prefigge di analizzare e definire linee guida e protocolli per l'identificazione dei microinquinanti emergenti (MIE) e delle microplastiche (MP); confrontare criteri per l'esecuzione ottimale di analisi sui sistemi di trattamento delle acque reflue e potabili; valutare le sensibilità analitiche in relazione alle tipologie delle matrici e le relative difficoltà nell'identificazione degli inquinanti;
- b) le tecnologie per le acque reflue e potabili (SdL-TRP), che si occupa della valutazione del destino e della rimozione di microinquinanti emergenti e microplastiche negli impianti di depurazione delle acque reflue e delle acque destinate al consumo umano, includendo anche i residui dei trattamenti, con l'obiettivo di promuovere le conoscenze sul tema attraverso documenti tecnici e linee guida che possano essere di supporto al miglioramento delle prestazioni di impianti esistenti e alla attuazione e pianificazione di nuovi interventi volti al contenimento e controllo degli inquinanti emergenti;
- c) il rischio ambientale e umano (SdL-RAU), che si prefigge di individuare azioni mirate alla conoscenza degli aspetti legati al destino ambientale di MIE e MP e ai loro effetti ecotossicologici e sulla salute umana.

In questo quadro il Cluster LE2C ha ritenuto di grande interesse valorizzare i primi esiti delle attività dalla seconda fase del GdL-MIE con la pubblicazione di queste linee guida proposte dal SdL-MTA, a cui afferiscono gli Autori.

La linea guida nasce dalla necessità di armonizzare le diverse metodologie esistenti, nessuna delle quali ancora adottata ufficialmente a livello nazionale ed europeo, per il prelievo di campioni da fiumi e laghi al fine di ottenere una caratterizzazione qualitativa delle particelle plastiche galleggianti. L'esperienza pluriennale maturata dai Gruppi di Ricerca che hanno partecipato alla stesura di tale linea guida ha permesso di proporre i metodi che reputiamo più robusti, sensibili e che consentono di fornire un quadro preciso della contaminazione da parte di questa categoria di contaminanti emergenti negli ambienti di acqua dolce.

Lo scopo di questa linea guida non è quello di ottenere dati per un'indagine puramente scientifica, ma di fornire indicazioni per una sua completa applicabilità anche da soggetti che non siano Enti di Ricerca. Per questo, nello spirito della strategia del GdL-MIE, i metodi proposti tengono conto delle necessità degli stakeholder che hanno un coinvolgimento più o meno diretto con la pianificazione, regolamentazione, gestione e utilizzo delle risorse idriche del territorio.

Con la pubblicazione di queste linee guida il Cluster LE2C intende dare un contributo alla diffusione dei risultati del lavoro condotto nell'ambito del GdL-MIE ed in particolare al SdL-MTA, che ha posto l'attenzione a inquinanti emergenti di grande rilievo ed impatto, attuale e futuro, per la gestione delle risorse idriche, ma anche sempre più all'attenzione degli utenti finali della risorsa idrica potabile e di quella della sostenibilità delle risorse naturali.

15 novembre 2023

Andrea Binelli

Professore Ordinario presso il Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Gianni Tartari

co-Chair Area di competenza Water Energy Nexus, Lombardy Energy Cleantech Cluster

INDICE



●		
●		
●		
●	PREFAZIONE	7
●	PREMESSA	9
●	INDICE	13
●	1. DEFINIZIONE DELLA DIMENSIONE DELLE PARTICELLE PLASTICHE	15
●	2. CAMPIONAMENTO	17
	2.1 Frequenza e periodo di prelievo	18
	2.2 Prelievo dei campioni	18
	2.2.1 Ecosistemi fluviali	18
	2.2.2 Ecosistemi lacustri	19
●	3. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE	21
●	4. ANALISI STRUMENTALE	25
	4.1 Tipo di strumento	26
	4.2 Parametri quali-quantitativi	27
●	BIBLIOGRAFIA	29

1.

Definizione della dimensione delle particelle plastiche



1. Definizione della dimensione delle particelle plastiche

Tra le numerose classificazioni proposte per definire le dimensioni delle particelle plastiche, suggeriamo di utilizzare quella recentemente proposta dall'*International Organization for Standardization* (ISO/TR 21960; 2020) che considera quattro categorie dimensionali per ogni particella plastica solida insolubile in acqua, come indicato in Tabella 1.

Tab. 1 - Definizione delle diverse categorie dimensionali proposte.

CATEGORIA DIMENSIONALE	DEFINIZIONE
MACROPLASTICHE	Qualunque dimensione > 5 mm
MICROPLASTICHE GRANDI	Qualunque dimensione compresa tra 1 mm e 5 mm
MICROPLASTICHE	Qualunque dimensione compresa tra 1 µm e <1 mm
NANOPLASTICHE	Particelle plastiche < 1 µm

Tale definizione supera la vecchia classificazione che indicava come microplastiche tutte le particelle polimeriche con dimensioni inferiori ai 5 mm, formulata oltre 15 anni fa dalla *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA; Arthur et al., 2009) o, più recentemente, dalla *European Food Safety Authority* (EFSA; 2016), che stabiliva anche una dimensione per le nanoplastiche compresa tra 1 e 100 nm. La classificazione ISO appare non solo più congruente con il Sistema Internazionale di misura (Hartmann et al., 2019), ma salvaguarda anche la necessità di riconoscere e separare dalle particelle di maggiori dimensioni le cosiddette microplastiche che, insieme alle nanoplastiche, costituiscono la frazione più biodisponibile e, quindi, potenzialmente più pericolosa per gli organismi e la salute umana.

2.

Campionamento



2.1 Frequenza e periodo di prelievo

Il numero di campionamenti annuali è un punto cruciale, in quanto la concentrazione di plastiche in ambienti lentici e lotici dipende strettamente dalle caratteristiche idrologiche dell'ambiente campionato e dalle diverse condizioni meteorologiche che precedono il prelievo. Risulta, dunque, ovvio come una maggiore frequenza di campionamento possa dare una fotografia più chiara della contaminazione da parte di questi contaminanti, ma d'altra parte occorre anche tenere conto di tempistiche di preparazione del campione e strumentali piuttosto gravose in termini temporali. In tale ottica, anche se consigliamo una frequenza la più ravvicinata possibile, riteniamo opportuno seguire le frequenze definite dai Piani di monitoraggio regionali per i contaminanti emergenti. Considerando la recente Decisione di Esecuzione (UE) 2022/1307 (L 197/117) che indica come "gli Stati membri dovrebbero prendere in considerazione per tutte le sostanze (incluse nell'elenco) una frequenza di monitoraggio di almeno due volte l'anno per tenere conto della fluttuazione del loro uso", riteniamo indispensabile anche per il monitoraggio delle plastiche in ambiente dulciacquicolo ricorrere ad **almeno due prelievi all'anno**, da eseguirsi preferibilmente **nei mesi primaverili e autunnali**, rispettivamente, quando le condizioni idrologiche sono più eterogenee.

Nel caso in cui si decidesse d'impiegare una frequenza maggiore, il suggerimento è quello di mantenere comunque una stagionalità nell'esecuzione dei campionamenti (almeno un prelievo in estate, autunno, inverno, primavera).

2.2 Prelievo dei campioni

Per quanto riguarda la raccolta del materiale da sottoporre alle successive fasi che porteranno alla determinazione quali-quantitativa delle particelle plastiche occorre differenziare il tipo di campionamento a seconda dell'ecosistema monitorato.

2.2.1 Ecosistemi fluviali

Il campionamento nei fiumi può essere effettuato in diversi punti di prelievo lungo il suo corso, opportunamente scelti (es. dopo l'immissione di un tributario o dello scarico di un impianto di depurazione o di un'attività industriale) nel caso in cui occorra valutare l'andamento della contaminazione da plastica lungo l'intero corso oppure per ottenere un dato puntiforme per una situazione specifica. Se lo scopo è esclusivamente quello di controllo e monitoraggio pluriennale, riteniamo opportuno eseguire **un unico prelievo alla foce** del fiume, in modo da valutare l'intero carico di plastica proveniente dal bacino imbrifero. I campionamenti possono essere effettuati dai ponti presenti lungo il corso d'acqua, avendo l'accortezza di posizionarsi al centro dell'alveo, impiegando un **retino da plancton dotato di bacinella di raccolta con maglia da 100 µm** trattenuto da una corda di appropriata lunghezza e immerso completamente **per 15 minuti** (Figura 1A). La scelta della maglia del retino è un buon compromesso dettato, da una parte dall'esigenza di raccogliere una maggiore quantità di plastiche rispetto alle classiche maglie da 300-330 µm utilizzate in ambiente marino, dall'altra di evitare l'impaccamento del retino dato dall'enorme quantità di materiale sospeso. È essenziale **dotare il retino di un flussimetro**, che consenta di calcolare a posteriori il volume di acqua filtrata e, conseguentemente, la concentrazione di plastiche. Per ottenere il volume di acqua filtrata durante il campionamento si possono utilizzare le seguenti formule:

Costante flussimetro: Y (fornita dal produttore dello strumento)

Distanza (m) = (conta flussimetro x Y) / Z (valore fornito dal costruttore per stabilire il design della girante)

Volume di acqua filtrata (m³) = area della bocca del retino* x distanza

*L'area della bocca del retino viene fornita dal Produttore o deve essere calcolata.

Nonostante in ambiente marino si utilizzino normalmente maglie da 300-350 μm (Miller et al., 2017), l'impiego di retini con maglie più fini consente di recuperare non solo una maggiore quantità di particelle plastiche, ma soprattutto permette la raccolta delle fibre che sfuggono a causa della loro ridotta larghezza, sottostimandone la concentrazione anche di diversi ordini di grandezza (Covernton et al., 2019). È, dunque, assolutamente da evitare l'impiego di sistemi di campionamento con maglie troppo ampie.

Immediatamente dopo il prelievo, i retini devono essere accuratamente **sciacquati con acqua di buona qualità** (deionizzata, distillata, demineralizzata) per recuperare tutto il materiale trattenuto dalle maglie. È indispensabile non impiegare bottiglie in plastica per la sua raccolta, bensì **bottiglie o barattoli in vetro con tappo in metallo**, che andranno successivamente mantenuti a 4 °C una volta trasportati in laboratorio (Figura 1B). Tale metodo di conservazione non è indispensabile per preservare le plastiche campionate, ma è suggerito per evitare la formazione di sostanze di decomposizione della materia organica, con le conseguenti problematiche di tipo igienico e di maneggiamento successivo del campione.

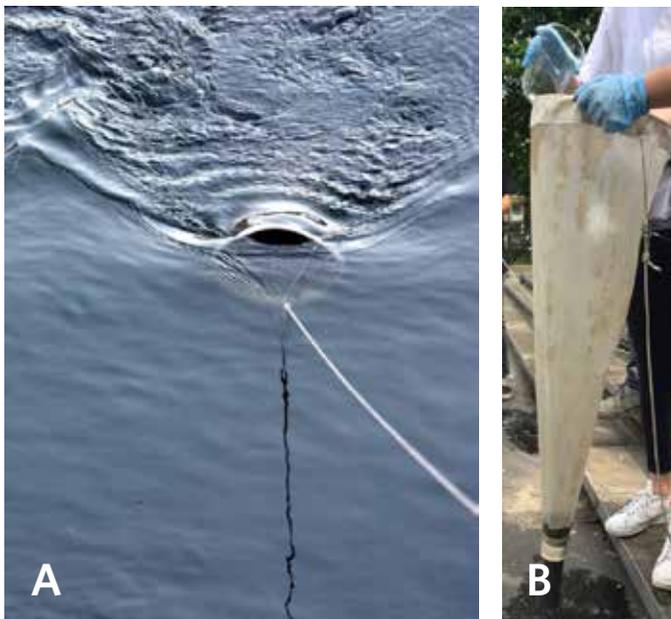


Figura 1: (A) Retino da plancton calato nel corso d'acqua per il campionamento delle plastiche. (B) Risciacquo del retino da plancton per la concentrazione delle plastiche nel bicchiere di raccolta.

2.2.2 Ecosistemi lacustri

Il campionamento negli ambienti lacustri presenta più problematiche tecniche rispetto a quello fluviale, soprattutto per garantire una buona rappresentatività dei dati ottenuti. Data la tipicità delle acque lentiche, è necessario l'impiego di un **Manta-Net con maglie da 100 μm** trascinato da una barca a una **velocità costante di 3 nd**. Si raccomanda di evitare la scia prodotta dal natante, posizionando il Manta-Net lateralmente ad esso o trainandolo a una distanza tale da evitare di campionare la zona turbolenta generata dalle eliche. È essenziale **dotare il Manta-Net con un flussimetro**, come riportato anche nel paragrafo precedente.

2. Campionamento

È preferibile eseguire un **transetto trasversale**, da sponda a sponda, in modo da considerare sia la fascia costiera che quella pelagica, che potrebbero avere contaminazioni da plastica molto differenti.

Per campagne di controllo e monitoraggio, consigliamo di eseguire il transetto di prelievo **nella zona più prossima all'emissario principale**, in modo da valutare il carico di plastiche contenute nell'intera cuvetta lacustre. Se lo scopo del campionamento è differente (es. valutazione della contaminazione da plastiche in un punto specifico, quale all'uscita di un porto turistico o per valutare l'impatto di uno scarico nel lago) sarà necessario adattare opportunamente la tipologia e frequenza del campionamento.

Al termine del transetto, il Manta-Net deve essere accuratamente sciacquato **con acqua di buona qualità** (deionizzata, distillata, demineralizzata), recuperando tutto il materiale raccolto in **bottiglie o barattoli in vetro con tappo in metallo**, che si suggerisce di conservare a 4 °C una volta trasportati in laboratorio, per le ragioni esposte nel paragrafo precedente.

3.

Trattamento del campione



I campioni devono essere successivamente vagliati su una batteria di setacci in acciaio certificati ISO (3310-1:2000) per rimuovere l'acqua che è stata utilizzata per il risciacquo delle reti dopo il campionamento. In particolare, si consiglia di filtrare il contenuto delle bottiglie di vetro su un setaccio da 5 mm sovrapposto a uno con maglia non superiore ai 100 µm. Il materiale grossolano di natura organica (es. foglie, rami, etc.) spesso trattenuto dal setaccio da 5 mm, deve essere prelevato con apposite pinzette in acciaio e lavato con una **soluzione ipersalina di cloruro di sodio (NaCl; densità 1,2 g/cm³)** per recuperare eventuali particelle plastiche adese alla superficie. Tale materiale può essere successivamente eliminato. Il materiale filtrato rimasto sul setaccio a maglia più fine, oltre alle eventuali particelle recuperate con il lavaggio descritto sopra, deve essere raccolto in nuove bottiglie di vetro con la medesima soluzione ipersalina per sottoporre i campioni a separazione densimetrica.

La soluzione ipersalina dovrà essere preventivamente preparata utilizzando del sale da cucina sciolto in acqua distillata ed effettuando almeno 3 pesate su bilancia analitica che certifichino il peso di 1,2 g per ogni mL di soluzione. A causa delle numerose impurità presenti nel sale da cucina **si raccomanda di filtrare la soluzione** mediante apparato Büchner utilizzando filtri in fibra di vetro con porosità di 1,2 µm. Poiché una sola filtrazione potrebbe non essere sufficiente a rimuovere il materiale interferente, rappresentato per lo più da fibre, si consiglia di ripetere l'operazione almeno 3 volte e, comunque, fino all'ottenimento di filtri privi di materiale interferente. In questo contesto, l'osservazione dei filtri allo stereomicroscopio dopo ogni filtrazione è fondamentale.

Successivamente, i campioni in soluzione ipersalina devono decantare *overnight* a 4 °C per garantire la separazione delle plastiche, che si raccoglieranno sulla superficie, dalla sostanza organica che invece sedimenterà sul fondo del contenitore (Figura 2). Terminata la separazione, la porzione superficiale del campione acquoso (surnatante) deve essere filtrata tramite apparato Büchner utilizzando filtri a membrana con struttura compatta. Si sconsigliano, in questo contesto, i filtri in fibra di vetro e **si suggerisce l'utilizzo di filtri in nitrato di cellulosa** con porosità di 8 µm. A causa della presenza di una notevole quantità di materiale sospeso, che provoca l'impaccamento del filtro, è molto probabile che si debbano utilizzare più filtri per lo stesso campione.

È opportuno notare che, in base alla tipologia di campione, la separazione tra sostanza organica e plastiche potrebbe non essere così netta. In questo caso, per evitare la risospensione del materiale interferente in seguito al rovesciamento della bottiglia per filtrarne il contenuto, può essere utile eseguire un prelievo dello strato superficiale tramite pipette in vetro.

Al termine della filtrazione del campione, i filtri dovranno essere lavati con acqua distillata, mantenendoli all'interno dell'apparato filtrante, in modo da rimuovere ogni traccia di NaCl derivante dalla soluzione ipersalina. Successivamente, i filtri potranno essere **riposti in piastre Petri di vetro** per evitare contaminazioni.

A causa dell'elevata quantità di sostanza organica che normalmente permane sui filtri anche dopo la separazione densimetrica, i campioni devono essere successivamente sottoposti a **digestione con acqua ossigenata** (H₂O₂) al 15% v/v, addizionata goccia a goccia sulla superficie dei filtri stessi. Si consiglia di condurre questa operazione per almeno 3 giorni, addizionando H₂O₂ regolarmente per consentire una digestione continua.

Per evitare la contaminazione dei campioni, è fondamentale che l'operatore indossi sempre camici in cotone in tutte le fasi sperimentali e che i vari *step* di analisi siano effettuati, ove possibile, sotto cappa a flusso laminare. Inoltre, **si raccomanda di processare almeno un filtro di bianco**; sarà sufficiente lasciare un filtro pulito esposto all'aria nella zona limitrofa all'attività sperimentale per monitorare l'eventuale inquinamento atmosferico da microfibre

del laboratorio. Se saranno rinvenute particelle plastiche sul filtro di bianco in seguito all'analisi strumentale (vedi paragrafo 4.1), queste dovranno essere sottratte dal conteggio finale purché riconducibili alla stessa forma, colore e composizione chimica (vedi paragrafo 4.1).



Figura 2: Particelle plastiche sulla superficie della soluzione ipersalina di NaCl. Si può notare il grande quantitativo di sostanza organica presente nel campione.

Terminata la digestione dei filtri, essi dovranno asciugare sotto cappa a flusso laminare. Successivamente, a causa dell'enorme quantità di materiale che probabilmente sarà presente sulla superficie degli stessi, **si consiglia di effettuare un *visual sorting***. Pertanto, i filtri dovranno essere osservati attraverso uno stereomicroscopio in modo da effettuare una separazione delle potenziali particelle di sospetta natura sintetica dal resto del materiale. Le particelle selezionate dovranno essere poste, tramite prelievo con pinzette metalliche, su un filtro pulito per la successiva analisi strumentale (Magni et al., 2019).

4.

Analisi strumentale



4.1 Tipo di strumento

Solo dopo aver eseguito tutti i processi preliminari di recupero e separazione delle plastiche è possibile ricorrere all'analisi strumentale per l'identificazione quali-quantitativa dei polimeri sintetici campionati. È innanzitutto da evitare il **solo riconoscimento visivo**, senza il supporto di un'adeguata strumentazione, in quanto si sovrastimerebbe il dato finale, oltre a non poter identificare la composizione polimerica di ogni singola particella. Altrettanto sconsigliabile, se non come semplice metodo di preselezione prima di un'analisi strumentale, è l'impiego di coloranti (es. *Nile Red*) in quanto è provato come numerosi polimeri (policarbonato, poliuretano, polietilenterefalato e polivinilcloruro) diano bassi segnali colorimetrici (Erni-Cassola et al., 2017), come anche le fibre sintetiche (Tamminga et al., 2017).

Per una corretta identificazione e caratterizzazione polimerica si ha a disposizione un vasto assortimento di strumenti, che utilizzano la spettroscopia vibrazionale, cromatografia liquida e la termo-analitica. Ognuna di queste tecniche presenta pregi e difetti, almeno per la caratterizzazione dei polimeri sintetici, come indicato in Tabella 2.

Tab. 2 - Metodi per la valutazione quali-quantitativa delle plastiche (modificata da GdL-MIE, 2020)

METODO	PARAMETRI MISURABILI	VANTAGGI	SVANTAGGI
Spettrometria μ -FTIR	È in grado di determinare la composizione polimerica di ogni singola particella, discriminandola da materiale di origine naturale.	Le banche-dati per l'identificazione polimerica sono numerose e affidabili. Non è distruttivo e ha un'alta riproducibilità. Strumenti dotati di imaging e mapping automatico consentono l'acquisizione spettrale di centinaia di particelle in una singola analisi, oltre che la determinazione diretta di numero, dimensione e forma.	Ha un limite dimensionale rilevabile di 50 μ m (FT-IR) e di 10-20 μ m (μ -FTIR), (comunque sufficiente per l'analisi di particelle trattenute da maglie di 100 μ m). Le particelle devono essere pretrattate per l'eliminazione di composti interferenti di origine naturale (es. cere, grassi, proteine). Non fornisce informazioni sulla massa dei polimeri. Fornisce informazioni limitate su additivi e contaminanti adsorbiti.
Spettroscopia Raman	È in grado di determinare la composizione polimerica di ogni singola particella, discriminandola da materiale di origine naturale.	Ha un limite dimensionale rilevabile (1-20 μ m) inferiore a un FT-IR e possiede un'elevata risoluzione spaziale. Può consentire il mapping automatico dei campioni (vedi sopra).	Elevato costo dello strumento. Forte interferenza data dalla fluorescenza di contaminazioni biologiche. Elevati tempi analitici. È richiesta una certa esperienza da parte dell'operatore. Non fornisce informazioni sulla massa dei polimeri. Fornisce informazioni limitate su additivi e contaminanti adsorbiti.
Metodi termo-analitici (pirólisi accoppiata a gas-cromatografia e spettrometria di massa; termo-gravimetria accoppiata a spettrometria di massa)	È in grado di determinare la composizione chimica dei polimeri a livello molecolare. La Py-GC-MS permette di ottenere informazioni anche sulla presenza di additivi e plastificanti.	Elevata sensibilità e riproducibilità. Fornisce informazioni quantitative in termini di massa di polimero nel campione analizzato. Non presenta limiti dimensionali e fornisce informazioni anche sulle nanoplastiche presenti nel campione.	Forte limitazione data dalla quantità minima di campione analizzabile (>1 mg) che richiede una pre-concentrazione delle plastiche per separarle dalla matrice. Metodo distruttivo. Non fornisce informazioni su numero, dimensione e forma delle particelle.

FT-IR = spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier.

4.2 Parametri quali-quantitativi

Oltre alla caratterizzazione del polimero che compone le diverse particelle, è importante anche definire alcuni parametri quali-quantitativi che consentano di valutare più nel dettaglio il tipo di contaminazione ed eventualmente anche ipotizzare eventuali sorgenti puntiformi. Il parametro quantitativo fondamentale è il numero di particelle plastiche ritrovate nel campione. Tale semplice dato, però, non consente un confronto diretto sia dal punto di vista temporale per lo stesso ambiente studiato e neppure per confrontare ecosistemi differenti. Per ottenere tali parametri è necessario conoscere il volume d'acqua filtrata dal retino da plancton o dal Manta-Net attraverso l'impiego del flussimetro montato su di essi (vedi paragrafi 2.2.1 e 2.2.2). Tale valore può essere espresso come **numero di plastiche/m³** oppure **numero di plastiche/km²**.

Si ritiene importante, inoltre, l'identificazione della **forma, dimensione e colore** per ciascuna particella plastica esaminata. L'ultimo parametro si ottiene semplicemente con un'osservazione mediante microscopia ottica, mentre le altre due caratteristiche possono essere ottenute direttamente se la strumentazione impiegata possiede le funzioni di *imaging* e *mapping* automatiche. In caso contrario, è necessario acquisire la fotografia della particella polimerica e analizzarla attraverso un comune *software* di analisi d'immagine.

Per il parametro legato alle dimensioni delle particelle plastiche si deve fare riferimento alla Tabella 1, mentre esistono numerose proposte di classificazione delle forme delle particelle plastiche; noi suggeriamo una semplice categorizzazione definita in Tabella 3.

Tabella 3. Classificazione delle diverse forme delle particelle plastiche.	
FORMA	DESCRIZIONE
FRAMMENTO	Porzione in plastica dura con contorni sfrangiati e irregolari.
FIBRA	Forma filiforme, flessibile, spesso contorta, allungata e sottile. Può avere bordi sfrangiati o netti (linea).
FILM	Porzione in plastica morbida e sottile spesso di forma angolare.
PELLET	Forma sferoidale, cilindrica, ovoidale.

La Figura 3 mostra una foto con le quattro tipologie delle forme polimeriche suggerite. Si raccomanda di **sottoporre all'analisi strumentale tutte le particelle selezionate tramite visual sorting**, in modo da ottenere una caratterizzazione completa del campione e di evitare di non identificare polimeri rari (es. kevlar) che invece sono molto utili per risalire alle sorgenti di contaminazione. Quando le particelle selezionate mediante *visual sorting* sono molto numerose, oppure nel caso di un numero molto elevato di campioni d'analizzare, è possibile prelevare solamente le particelle presenti in una metà del filtro da 8 μ m, spostandole sul nuovo filtro pulito per la successiva analisi strumentale. Il risultato finale deve, ovviamente, essere successivamente raddoppiato oppure la lettura parziale deve essere dichiarata nel Certificato o nel Rapporto analitico.



Figura 3: Esempio delle 4 tipiche forme delle particelle polimeriche:

1) Frammento; 2) Film; 3) Fibra; 4) Pellet.

BIBLIOGRAFIA



- Arthur, C.; Baker, J.; Bamford, H. *Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects and fate of microplastic marine debris*, Sept 9-11, 2008; National Oceanic and Atmospheric Administration: 2009.
- Covernton, G.A., Pearce, C.M., Gurney-Smith, H.J., Chastain, S.G., Ross, P.S., Dower, J.F., Dudas, S.E., 2019. *Size and shape matter: a preliminary analysis of microplastic sampling technique in seawater studies with implications for ecological risk assessment*. *Sci. Total Environ.* 667, 124– 132.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. *Presence of microplastics and nano plastics in food, with particular focus on seafood*. *EFSA J.* 2016, 14 (6), 4501.
- Erni-Cassola, G., Gibson, M.I., Thompson, R.C., Christie-Oleza, J.A. 2017. *Lost, but Found with Nile Red: A Novel Method for Detecting and Quantifying Small Microplastics (1 mm to 20 \times m) in Environmental Samples*. *Environ. Sci. Technol.* 51 (23): 13641-13648.
- GdL-MIE. 2020. *Inquinanti Emergenti*. A cura di: Tartari, G., Bergna, G., Lietti, M., Rizzo, A., Lazzari, F., Brischi, C. Lombardy Energy Cleantech Cluster, Milano, 249 pp.
- Hartmann, N.B., Huffer, T., Thompson, R.C., Hasselov, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L., Wagner, M., 2019. *Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris*. *Environ. Sci. Technol.* 53 (1039–10).
- International Organization for standardization. 2020. *ISO/TR 21960:2020 - Plastics - Environmental aspects — State of knowledge and methodologies*. First Edition 2020-02. pp. 30.
- Magni, S., Binelli, A., Pittura, L., Avio, C. G., Della Torre, C., Parenti, C.C., Gorbi, S., Regoli, F. 2019. *The fate of microplastics in an Italian Wastewater Treatment Plant*. *Science of the total environment*, 652, 602-610.
- Miller, M.E., Kroon, F.J., Motti, C.A., 2017. *Recovering microplastics from marine samples: a review of current practices*. *Mar. Pollut. Bull.* 123, 6–18.
- Tamminga, M., Hengstmann, E., Fischer, E.K. 2017. *Nile Red Staining as a Subsidiary Method for Microplastic Quantification: A Comparison of Three Solvents and Factors Influencing Application Reliability*. *Journal of Earth Sciences & Environmental Studies*, 2(2): 1-8.
- Unione Europea, *Decisione di esecuzione (UE) 2022/1307 della Commissione del 22 luglio 2022*. Notificata con il numero C(2022) 5098.

COPYRIGHT

I testi sono pubblicati da Lombardy Energy Cleantech Cluster con la licenza CREATIVE COMMONS
Attribuzione - Non commerciale (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/it/deed.it>)



www.energycluster.it

info@energycluster.it

Via Pantano, 9 - 20122 Milano



ISBN 978-8-89455-572-1



9 788894 555721 >