



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

DIPARTIMENTO DI GEOSCIENZE

CORSO DI LAURE IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE

UTILIZZO DELLA MICROSPETTROSCOPIA RAMAN PER  
L'IDENTIFICAZIONE DI MICROPLASTICHE NEI SEDIMENTI

Relatore: Prof. Massimiliano Zattin

Correlatore: Prof. Massimiliano Ghinassi

Laureanda: Sara Tessari

Numero matricola: 1225965

Anno Accademico 2021/2022



## **Indice**

0	Riassunto.....
1	Introduzione.....
2	Metodologie e Campioni.....
3	Risultati.....
4	Conclusioni.....
5	Bibliografia.....

Riassunto

## **Riassunto**

La plastica è un materiale di sintesi costituito principalmente da legami tra il carbonio e l'ossigeno, l'idrogeno o l'azoto. La natura organica di questi legami comporta la possibilità di decomposizione e frammentazione naturale del materiale, spesso considerato erroneamente indegradabile. I frammenti di micro e nanoplastiche che si creano sono facilmente trasportabili in acqua, hanno un'elevata diffusione e si possono trovare in tutti i compartimenti dell'ambiente acquatico del pianeta, comprese le elevate profondità come la fosse delle Marianne. La loro elevata presenza comporta conseguenze a livello biologico, soprattutto di accumulo di materiale, che portano a effetti e danni all'organismo.

La maggior parte degli studi di rilevamento di particelle plastiche è svolta nell'ambito delle acque superficiali quali corsi d'acqua, mari e oceani. Viene invece rivolta poca attenzione al rilevamento in sedimenti fluviali, nonostante ci sia una notevole presenza di tale materiale che porta ad un conseguente inquinamento di falda nel momento in cui l'acqua scorre nel sedimento. Il trasporto di plastica è molto ampio e porta alla raccolta anche da parte dei sistemi di estrazione di acqua per uso urbano. Il problema dell'accumulo quindi non riguarda solo gli animali, ma anche l'uomo.

L'analisi delle plastiche nei sedimenti è svolta solitamente attraverso modifica del campione, con separazione dei materiali tramite utilizzo di solventi organici, che sfruttano la capacità di stratificazione dei differenti materiali in base alla diversa densità e peso. In seguito si estraggono le plastiche che poi vengono contate e studiate al microscopio.

L'innovazione dello studio proposto sta nel ricercare la presenza di plastica nel campione tal quale di sedimento, senza apportare modifiche fisiche allo stesso. Questo è possibile grazie all'utilizzo della microspettroscopia Raman che, attraverso la generazione di mappe e spettri, permette l'identificazione del materiale indagato, analizzando la superficie esposta del campione tal quale. Questa tecnica viene solitamente utilizzata nell'estrazione classica per identificare la plastica in seguito alla separazione fisica.

I campioni analizzati sono stati ottenuti da carote raccolte in un meandro chiuso nella Laguna di Venezia, in località Cavallino Treporti.

In seguito al processo di sedimentazione possono essere individuati i vari strati di deposizione del materiale, che possono essere datati con una buona precisione. Grazie a ciò si può conoscere l'abbondanza della plastica ritrovata nei vari livelli, rendendo possibile una ricostruzione della storia di sedimentazione e di inquinamento dell'area studiata.

## Riassunto

Nello svolgimento dell'analisi sono stati riscontrati alcuni problemi di rilevamento, dovuti al metodo di funzionamento dello strumento che non è totalmente compatibile con le caratteristiche e proprietà del campione.

## Abstract

### **Abstract**

Plastic is a synthetic material consisting mainly of bonds between carbon and oxygen, hydrogen or nitrogen. The organic nature of these bonds entails the possibility of natural decomposition and fragmentation of the material, often mistakenly considered undegradable. The fragments of micro and nanoplastics created are easily transportable in water, have a high diffusion and can be found in all compartments of the aquatic environment of the planet, including high depths such as the Marianas trench. Their high presence has biological consequences, especially plastic accumulation, which lead to effects and damage to the organism.

Most of the detection studies of plastic particles are carried out in the context of surface waters such as rivers, seas and oceans. Instead, river sediments are not investigated as much as they should be, despite the fact that there is a significant presence of this material, which leads to consequent groundwater pollution once the water flows into the sediment. The plastic transportation problem is widespread and also leads to the collection by water extraction systems for urban use. The problem of accumulation thus does not only concern animals, but also humans.

The analysis of plastics in sediments is usually carried out through modification of the sample, with material separation through the use of organic solvents, which benefits of the stratification capacity of the different materials, based on the different density and weight. Then the plastics are extracted, counted and studied under the microscope.

The innovation of this study is the investigation of plastic in sediment sample as it is, without making any physical changes. This is possible thanks to the use of Raman microspectroscopy, which allows the identification of the material through the generation of maps and spectra, analyzing the exposed surface of the sample as it is. This technique is usually used in classical extraction to identify plastic after physical separation.

The analyzed samples are obtained from cores collected in a closed meander in the locality of Cavallino Treporti in Venice Lagoon. Thanks to the sedimentation process, the deposition layers of the material can be identified and dated with good precision. It's possible to know the origin of the different layers plastic, and to reconstruct the history of sedimentation and pollution.

## Abstract

During the analysis, some detection problems were found, due to the method of operation of the instrument which is not fully compatible with the characteristics and properties of the sample.

### **Introduzione**

La plastica inizia la sua ampia diffusione negli anni '50, quando la produzione su larga scala era in costante aumento, con introduzioni sempre nuove di materiali di sintesi sempre più innovativi ed efficaci nella praticità della produzione e utilizzo industriale. Da allora si stima che la plastica prodotta si aggiri intorno a 8,3 miliardi di tonnellate (Production, use and fate of all plastics ever made, Science Advances, 2017) e che 6,3 miliardi di queste siano diventate rifiuti, di cui il 12% è stato incenerito, solo il 9% è stato riciclato e il 79% stoccato nelle discariche o disperso in ambiente. Inoltre la produzione di materie plastiche è passata da 2 milioni di tonnellate annue negli anni '50, fino a 400 milioni di tonnellate annue nel 2015, a dimostrazione del fatto che la produzione è in continuo aumento. (Ocean Conservancy, 2017). Al contrario di altri materiali prodotti in quantità analoghe e che hanno un tempo di utilizzo elevato, la plastica è impiegata principalmente per la produzione di imballaggi e confezionamento, che implicano l'impossibilità di riutilizzo del materiale dopo che questo viene scartato. Tipicamente infatti la vita utile di un imballaggio è di meno di un anno, al contrario invece di altri materiali, come l'acciaio, che hanno tempi di vita duraturi.

Il problema della plastica quindi non sta nella quantità di produzione, ma nella sua gestione a fine vita. Come sopraccitato infatti, circa il 79% di plastica prodotta viene stoccato e, con alte probabilità, anche disperso in ambiente, dove poi non permane nel sito contaminato, ma si attiva un vero e proprio ciclo che vede la dispersione del materiale in tutti i compartimenti ambientali, compreso quello gassoso.



## Introduzione

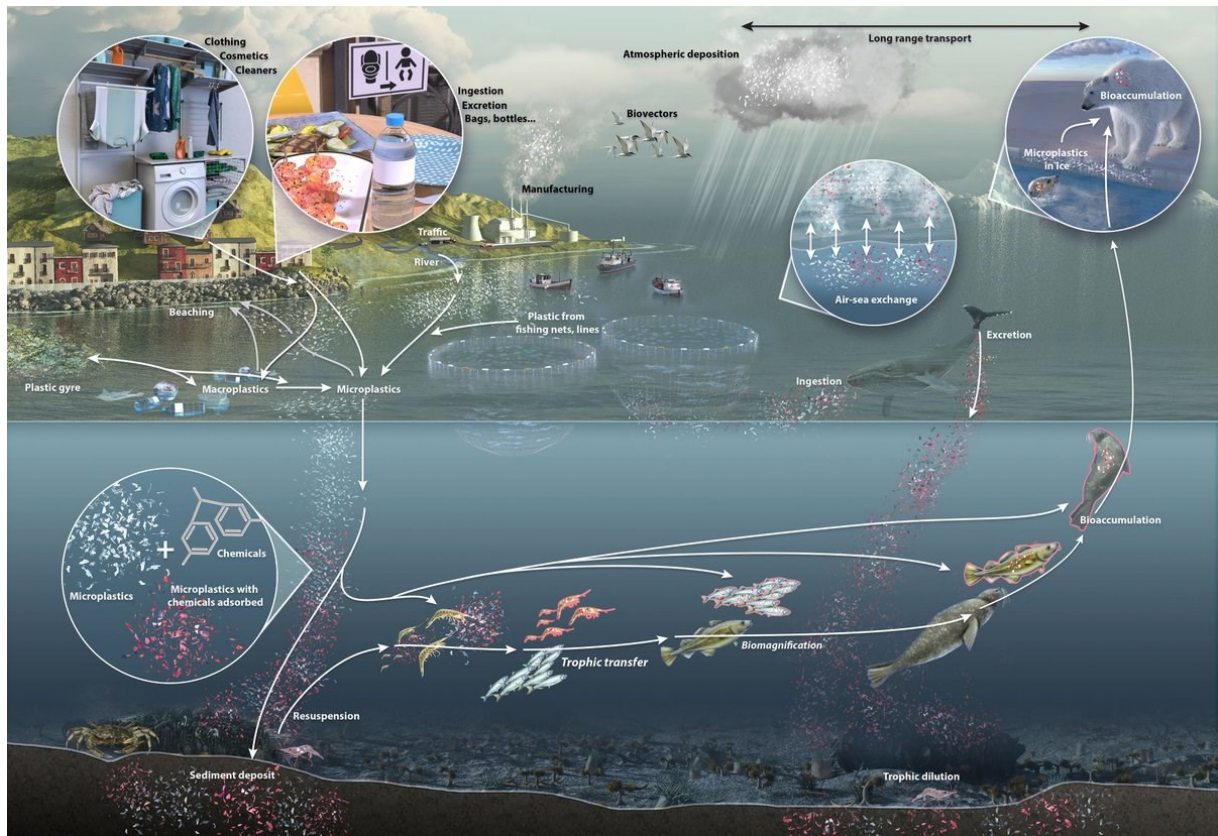


Figura 1. Ciclo delle microplastiche in ambiente. (Bank, M. S. ; Hansson, V.S. *The Microplastic Cycle: An Introduction to a Complex Issue* 2021)

Una forte attenzione è riposta nello studio della dispersione e diffusione delle microplastiche nelle acque, compartimento ambientale molto esteso e soggette ad un versatile utilizzo nelle attività antropiche. Microplastiche e nanoplastiche sono infatti state ritrovate in un ampio numero di specie e in diversi tipi di cibo. Le conseguenze che derivano da questo fenomeno trovano spazio in diversi ambiti. Negli animali, l'esposizione di organismi a microplastiche in laboratorio ha dimostrato tossicità, con conseguenze che comprendono la riduzione dell'alimentazione, modifiche alla massa corporea, modifiche delle funzionalità metaboliche, neurotossicità, modifiche morfologiche fino alla morte dell'organismo. (Barboza et al., *Marine Pollution Bulletin* 2018 133 p.336)

Inoltre, le microplastiche non sono solo motivo di bioaccumulo, ma anche tossicità da additivi contenuti in esse e ancor più da contaminanti presenti nell'acqua che possono essere adsorbiti. Questi ultimi, in questo modo, entrano più facilmente in contatto con il compartimento biotico, rendendo le microplastiche dei veri e propri vettori di inquinamento.

(Martinelli, T.; Guerranti, C.; Scopetani, C.; Ugolini, A.; Chelazzi, D.; Cincinelli, A.-Trends in Analytical Chemistry, 2018, 109, pagg. 173-179)

## Introduzione

Alcune ricerche che hanno avuto come oggetto di studio l'essere umano, hanno dimostrato che il materiale plastico, sia esso ingerito direttamente o attraverso cibi arricchiti, costituito principalmente da microplastiche e i suoi additivi tossici, può essere trasportato nell'intestino dove viene riassorbito come fosse un elemento nutritivo, entrando così nel sistema circolatorio. Questo comporta poi il trasporto del materiale ai diversi organi, teoria supportata da studi che hanno dimostrato come fosse presente plastica nella placenta di un campione di donne testate. (Ragusa et al., *Environment International* 2021 146 p.1)

Nel 2019, nello studio Schwabl et al, *Annal Internal Medicine*, 2019 171(7) p.453, sono state ritrovate microplastiche nelle feci umane e nonostante il numero di campioni (8) fosse statisticamente poco attendibile, ogni campione aveva una mediana di 20 particelle di plastica che andavano da 50 a 500  $\mu\text{m}$  di dimensione e che comprendevano differenti tipologie di polimeri come polipropilene e polietilene tereftalato.

La ricerca della contaminazione da plastica si concentra principalmente nell'ambito delle acque, siano esse superficiali o sotterranee, ma viene riposta poca attenzione all'ambito dei sedimenti, nei quali è presente un forte accumulo di materiale. Analogamente a ciò che avviene in acqua, si aziona un processo di spostamento delle microplastiche che coinvolge tutti i compartimenti ambientali. Queste particelle entrano in circolo attraverso lo spostamento nel fluido, inquinando la falda e quindi compromettendo la purezza dell'acqua estratta. Come conseguenza di ciò, si hanno effetti sia sulla presenza di microplastiche in alimenti soprattutto vegetali che sono stati irrigati con acque compromesse, sia effetti su animali ed esseri umani come citato precedentemente.

Lo studio da noi svolto si occupa di ricercare le microplastiche nei sedimenti di un meandro chiuso nella laguna di Venezia. La zona di incontro tra le acque dolci dei fiumi e l'acqua salata del mare è caratterizzata da una bassa energia cinetica, che comporta la deposizione dei detriti e di tutti i materiali che vengono trasportati lungo il percorso dei vari fiumi che sfociano nella laguna. Nel tempo è avvenuta e avviene tuttora un processo di sedimentazione, che permette di indagare la composizione dei vari orizzonti depositati negli anni, suddividendoli per età e studiandone il contenuto.

## Introduzione



Figura 2. Immagine di Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO, 25/03/2021

Questa zona è una piana tidale, in cui i processi di sedimentazione, erosione e trasporto sono regolate dai movimenti della marea ed è caratterizzata dalla presenza di canali tidali molto ramificati e molto ravvicinati tra loro. Questi ultimi sono dei veri e propri corsi d'acqua, dove agiscono fenomeni di erosione nella sponda esterna del meandro e sedimentazione in quella interna, come avviene nei più comuni fiumi. Come avviene nelle dinamiche di erosione dei fiumi di pianura, anche per i canali tidali si sviluppano interazioni che comportano la modifica del paesaggio attraverso l'unione di due o più rami, la deviazioni di alcuni di questi o addirittura la chiusura. Infatti nel momento in cui un ramo è costituito da un meandro molto pronunciato, le dinamiche di erosione possono portare alla chiusura dello stesso, comportando così la cessazione di scorrimento d'acqua. In questo modo, in quest'area, sarà presente solo un piccolo strato di acqua stagnante dove non avverrà più erosione e movimentazione del materiale, bensì sedimentazione di fanghi regolata dalle maree.

Lo scorrimento di acqua comporta la deposizione di materiale sabbioso che viene a cessare poi nel momento in cui avviene la chiusura del canale che ha comportato invece la sedimentazione di fanghi, come sopraccitato. Per conoscere quindi il momento in cui è avvenuta la chiusura del ramo tidale, è necessario individuare nella carota il punto di passaggio tra sedimenti sabbiosi e fangosi.

L'area selezionata per l'estrazione della carota è per l'appunto una diramazione chiusa di un vecchio canale tidale e attraverso il confronto delle foto aeree e satellitari ottenute a diversi intervalli di tempo, si può constatare che la sedimentazione nell'area campionata ha avuto inizio nei primissimi anni '70. In questo lavoro, verranno quindi analizzati i sedimenti degli ultimi 50 anni.

## Introduzione

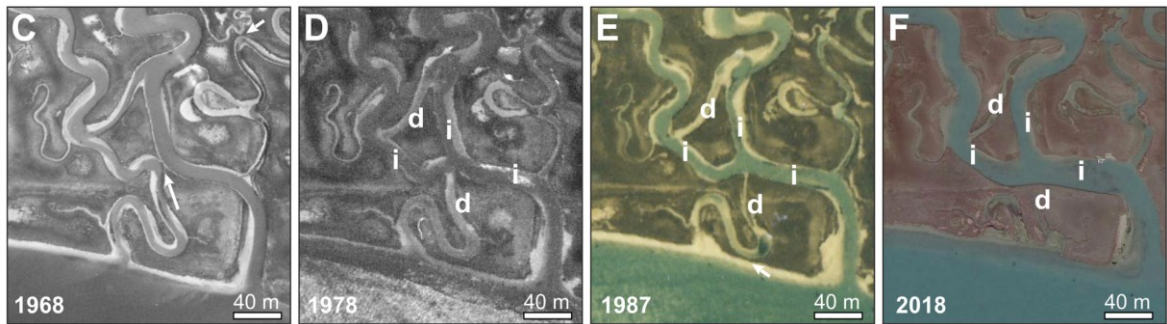


Figura 3. Foto aeree e satellitari che confrontano lo stato di sedimentazione della piana tidale, con particolare attenzione al canale d, area selezionata per il campionamento.

Lo strumento utilizzato è la microspettroscopia Raman, solitamente utilizzata per l'identificazione dei frammenti plastici post estrazione fisica dal campione.

Lo scopo della tesi è identificare microplastiche nei sedimenti in campioni tal quali, (cioè non modificati nella loro struttura). Mantenendo l'ordine di sedimentazione è possibile datare l'epoca di deposizione del materiale e di conoscere la storia della sedimentazione e dell'inquinamento del luogo. È possibile quindi risalire alla natura e all'origine della plastica, grazie alla datazione dei vari strati. La carota infatti può essere suddivisa in anni, sia osservando le diverse proprietà e caratteristiche del profilo, sia conoscendo la sua lunghezza e l'età degli strati più profondi del campionamento. Grazie a queste informazioni si può calcolare il tasso di sedimentazione.

Oltre alla quantificazione delle microplastiche, questo lavoro si prefigge di verificare le potenzialità della microspettroscopia Raman nell'analisi composizionale di un campione di sedimento indisturbato. Nello specifico, si vuole testare questa apparecchiatura per rilevare la presenza della plastica nell'esatta posizione in cui è stata deposta nel processo di sedimentazione. La tecnica utilizzata è non distruttiva e non di contatto e fornisce informazioni morfologiche e, spesso, una identificazione della chimica del materiale trovato. Tutti questi aspetti permettono di conoscere con buona precisione sia la storia di deposizione del materiale, facendo risalire determinate particelle a specifici anni, sia la chimica e tipologia della plastica, che consente di confrontare e conoscere le diverse tipologie di materiale plastico che si sono susseguite negli anni.

## Metodologie e Campioni

L'area di campionamento è stata selezionata nella laguna di Venezia in località Cavallino Treporti, dove è stato individuato un meandro chiuso. Questa zona è stata scelta per l'attuale mancanza di scorrimento di acqua, garantendo quindi l'assenza di rimescolamento del materiale superficiale. Sono state estratte due carote, che hanno entrambi una lunghezza di 175 cm.



Figura 4. Carota suddivisa in segmenti di 25 cm, avvolti in alluminio per la loro conservazione. In ogni segmento è indicata la direzione di approfondimento e la profondità del campione.

## Metodologie e Campioni

Attraverso la lunghezza della carota e la datazione del suo strato più profondo, si può conoscere il tasso di sedimentazione che equivale al rapporto tra i cm di carota e gli anni intercorsi tra lo strato più superficiale e quello più profondo, e che indica lo spessore di sedimento deposto ogni anno. I campioni sono stati preparati tagliando la carota in segmenti di 4 cm ad intervalli di 11 cm (0-4, 11-15, 22-26 ecc.).



Figura 5. Suddivisione della carota e prelievo di campioni di 4 cm ad intervalli di 11 cm

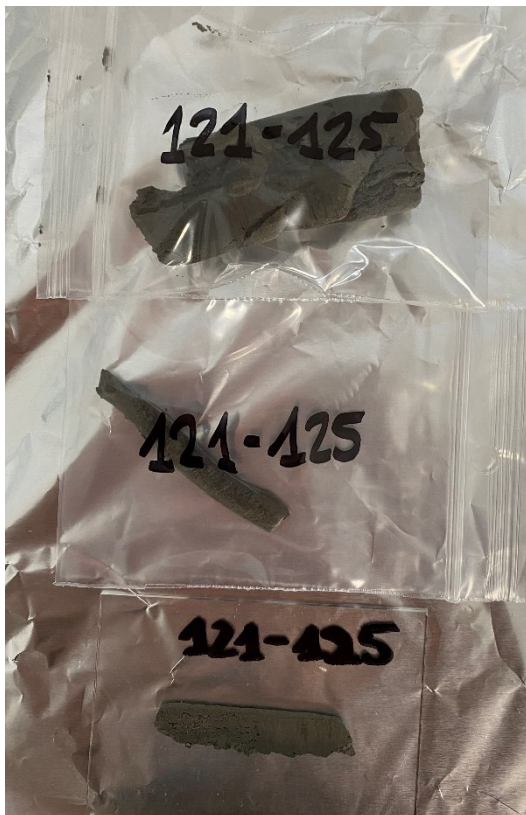


Figura 6. A partire dal basso, sezione per analisi Raman, frazione per analisi granulometrica e frazione per estrazione fisica.

Ogni segmento è stato tagliato in modo longitudinale per non contaminare strutturalmente e quindi cronologicamente il campione. Da ognuno di questi è stata ricavata una sezione rettangolare di 5 mm circa di spessore e con la superficie il più piatta possibile per l'analisi Raman, e ricavando quindi due parti; una parte per l'analisi granulometrica e una per l'estrazione della plastica attraverso metodologia fisica. Questi ultimi due non necessitano di mantenimento strutturale perché l'analisi non avviene sul campione tal quale.

La microspettroscopia Raman si basa sull'interazione fra luce e materia, quindi più precisamente tra fotoni e molecole. Quando i fotoni interagiscono con le molecole possono avere due risposte di diffusione diverse grazie all'interazione elastica e anelastica. L'interazione elastica prevede che il fascio luminoso che interagisce con le particelle non venga modificato in termini di frequenza e quindi energia, la quale non subisce trasferimenti e rimane invariata tra fascio incidente e fascio diffuso. Questo fenomeno è noto come diffusione Rayleigh ed è l'evento più frequente. Evento molto meno frequente è invece la diffusione Raman che deriva dal trasferimento di energia tra luce e i legami delle molecole, e che porta quindi ad uno shift energetico che può essere crescente o decrescente (stokes e anti-stokes). I legami, che sono soggetti ad una naturale vibrazione, interagiscono con il fascio luminoso fornito, provocando uno specifico salto di energia della radiazione incidente, che viene individuato nella radiazione uscente. Il risultato ottenuto è lo spettro caratteristico dell'elemento, fondamentale per l'identificazione dello stesso durante l'analisi di un campione.

L'effetto Raman fu scoperto da Chandrasekhara Venkata Raman nel 1928.

La tecnica Raman si basa sulla spettroscopia anelastica, in cui un fascio di luce monocromatica in entrata subisce un cambiamento di colore e viene diffuso con un'energia differente da quella iniziale. È importante che il fascio sia monocromatico perché lo shift può essere molto piccolo e si rischierebbe di non vederlo.

Proprio questo principio viene sfruttato per conoscere la natura del materiale analizzato, poiché lo shift di energia dipende da quest'ultimo e non dalla lunghezza d'onda del raggio incidente utilizzato. In base alla differenza fra l'energia incidente e la luce diffusa Raman si può conoscere la natura del materiale del campione e la sua composizione molecolare. La luce incidente interagisce con la vibrazione e rotazione molecolare del materiale, perdendo energia (redshift) se eccita elettroni e acquisendola se la assorbe dalle vibrazioni solitamente eccitate termicamente.

L'output di una misurazione Raman è lo spettro Raman, che è determinato dalle linee spettrali dello scattering definite dal tipo di materiale analizzato, e che sono prodotte dalle diverse modalità di vibrazione dei legami delle molecole.

Lo scattering, o diffusione, è il fenomeno in cui parte del raggio incidente viene deviato a seguito dell'interazione con la materia. La definizione della tipologia e energia di vibrazione

## Metodologie e Campioni

dei legami è data dalla disposizione e dalla simmetria degli stessi, e la struttura dello spettro è specifica per ogni materiale. Si definisce quindi l'impronta digitale del materiale analizzato.

Per quanto riguarda lo shift di energia, e quindi lo spostamento delle bande Raman rispetto alla linea Rayleigh, si utilizza come unità di numero d'onda il  $\text{cm}^{-1}$  e lo shift si calcola nel seguente modo:

$$\text{Raman shift}[\text{cm}^{-1}] = 10^7 \left( \frac{1}{\lambda_{\text{Laser}}[\text{nm}]} - \frac{1}{\lambda_{\text{Raman}}[\text{nm}]} \right)$$

dove  $\lambda_{\text{Laser}}$  è la lunghezza d'onda del raggio laser di eccitazione (raggio incidente) e  $\lambda_{\text{Raman}}$  è la lunghezza d'onda del raggio di diffusione Raman dopo lo shift per interazione con i legami della molecola. La Raman shift è la differenza in numeri d'onda tra il fascio incidente e il fascio diffuso.

Energia e lunghezza d'onda sono inversamente proporzionali, in base all'equazione di Plank che definisce l'energia come:

$$E = h\nu \quad \text{e} \quad \nu = \frac{1}{\lambda}$$

con E=energia h=costante di Plank  $\nu$ =frequenza e  $\lambda$ =lunghezza d'onda

Quando si ha alta energia, si ha anche piccola lunghezza d'onda, dovuto al fatto che l'energia diffusa (scattering) aumenta perché parte di questa viene ceduta dalla vibrazione dei legami della molecola. Queste linee Raman sono chiamate Anti-Stokes. Se l'energia è bassa, la lunghezza d'onda è grande e l'energia diffusa scattering diminuisce perché assorbita dai legami, che aumentano la vibrazione per eccitazione termica. Queste sono chiamate linee Raman Stokes. (<https://www.princetoninstruments.com/learn/raman/introduction-to-raman-spectroscopy>)



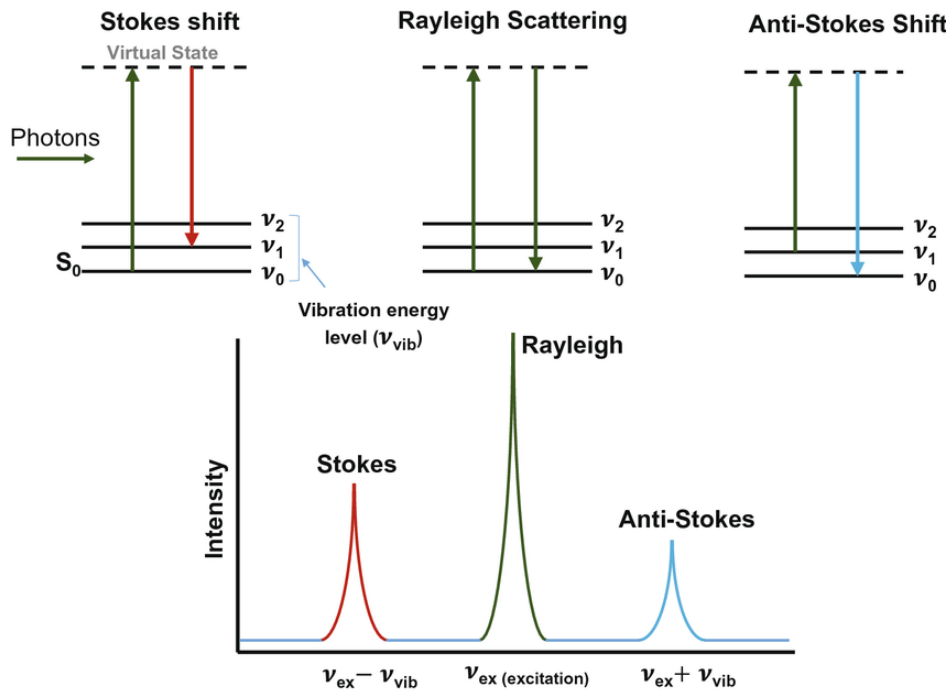


Figura 7. Spostamento di livello energetico dell'elettrone di legame in base all'assorbimento o rilascio di energia da parte della radiazione luminosa incidente. Effetto Rayleigh, Stokes Raman e Anti-Stokes Raman. (Cho, Y e Ahn S., 2020. Scientific Reports, DOI - 10.1038/s41598-020-68650-7)

L'energia può essere conferita alle molecole, e quindi ai loro legami, attraverso l'eccitazione termica. A queste condizioni l'energia delle molecole può essere ceduta all'energia incidente che aumenta, portando allo shift energetico con energia diffusa maggiore rispetto all'energia incidente e quindi effetto Anti-Stokes Raman.

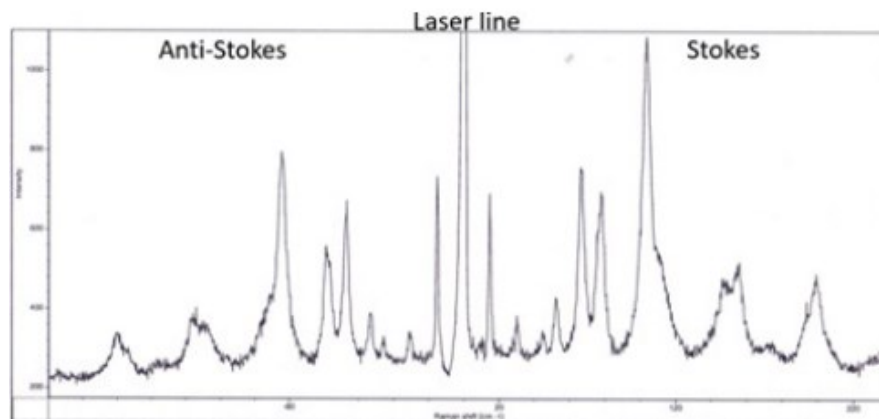


Figura 8. Un esempio di spettro Raman, con la linea laser, le bande Stokes e Anti-Stokes (<https://www.princetoninstruments.com/learn/raman/introduction-to-raman-spectroscopy>)

## Metodologie e Campioni

La Raman viene utilizzata in molti ambiti di ricerca, siano essi medici, biologici, geologici e per molto altro ancora. Lo scopo del suo utilizzo è riconoscere composizione del materiale e, come già detto precedentemente, nella ricerca di sostanze plastiche viene utilizzata per riconoscere la natura e la tipologia di plastica dopo un'estrazione fisica. Questa è svolta attraverso uso di solventi e mezzi liquidi che permettono la separazione del materiale dai sedimenti per differenza di densità e peso. Una volta estratti, vengono prima osservati al microscopio e solo in seguito vengono analizzati con la microspettroscopia Raman, che fornisce gli spettri identificativi delle diverse tipologie di molecole delle quali è composto il campione.

Per l'identificazione del materiale analizzato, sono stati consultati database con spettri di riferimento delle materie plastiche principali.

Polymer	Vibration frequency (cm <sup>-1</sup> )	References
Acrylonitrile butadiene styrene (ABS)	621, 745, 780, 902, 994, <b>1002</b> , 1032, 1077, 1099, 1156, 1183, 1200, 1330, 1441, 1453, <b>1583</b> , 1603, 1640, 1653, 1668, 2240, <b>2854</b> , 2906, 2939, 2981, 3004, <b>3060</b>	100
Isotactic polypropylene (iPP)	252, 321, <b>398</b> , 458, 530, <b>809</b> , <b>841</b> , 900, 941, 973, 998, <b>1040</b> , 1102, <b>1152</b> , 1167sh <sup>a</sup> , 1219, 1257, 1296, 1306, <b>1330</b> , 1360, 1371sh, 1435, <b>1458</b> , 2840, 2871, <b>2883</b> , 2905, 2920, 2952	101
Nylon 6- $\alpha$ polymorph ( $\alpha$ NY6)	932, 1065, <b>1130</b> , 1203, 1283, 1310, <b>1444</b> , 1470, 1480, 1203, <b>1636</b> , <b>2869</b> , <b>2900</b> , <b>2929</b> , 3302	102
Nylon 6- $\gamma$ polymorph ( $\gamma$ NY6)	925, 962/977, 1060, <b>1080</b> , 1234, 1276, 1298, <b>1440</b> , <b>1636</b> , <b>2869</b> , <b>2900</b> , <b>2929</b> , 3302	102
Nylon 66	601, 952, 1063, 1128, 1235, <b>1298</b> , 1382, <b>1441</b> , 1475, 1550, <b>1637</b> , 2732, <b>2867</b> , <b>2919</b> , 3304	103
Polyacrylonitrile (PAN)	264, 515sh, 531, 822, 1082, 1104, 1223, 1317, 1354, 1453, <b>2237</b> , 2872sh, 2909, 2940	104
Polybutylene, I (PB-I)	372, 523, 535, 973, 1001, 1094, 1150, 1299, 1341, 1363, 1376, <b>1447</b> , 1461, 2730, 2854, <b>2879</b> , 2908, 2932, 2960	105
Polycarbonate (PC) <sup>b</sup>	400, 480, 575, 635, 704, 733, 760sh, 815, 828, <b>887</b> , 919, 936, 1007, 1080, 1110, 1145, 1178, 1235, 1290, 1308, 1444, 1464, <b>1602</b> , 1772, 2720, 2760, 2872, 2912, 2940, 2974, <b>3074</b>	106
Polyethylene (PE)	1062, 1130, 1170, 1295, 1417, 1440, 1460, <b>2850</b> , <b>2883</b>	107,108
Polyethylene terephthalate (PET)	278, 626, 701, 800, 857, 950, 1000, 1096, 1119, 1192, 1295, 1310sh <sup>a</sup> , 1418, 1462, <b>1615</b> , <b>1730</b> , 2912, 2968, 3085	109
(Poly)ethylene vinyl acetate ((P)EVOH/EVA) <sup>c</sup>	380, 421, 477, 521sh, 600, 738, 825sh, 851, 902, 1024, 1069, 1088, 1114, 1144, 1301, 1365, <b>1438</b> , 2186, 2721, 2851sh, <b>2901</b> , 2935sh, 3006, 3318	110
Polymethyl methacrylate (PMMA)	304, 370, 400, 484, 504, 537, <b>601</b> , 736, 796, 813, 833, 857, 972, 986, 1125, 1161, 1188, 1234, 1276, 1400, 1453, 1494, 1728, 2846, 2849, 2920, 2957	111
Polystyrene (PS)	621, 795, <b>1001</b> , 1031, 1155, 1450, 1583, <b>1602</b> , 2854, 2904, <b>3054</b>	112,113
Polytetrafluoroethylene or teflon (PTFE)	198, 291, 383, 575, 595, <b>729</b> , 1215, 1295, 1379	114
Polyvinyl alcohol (PVOH or PVA)	369, 413, 480, 521, 592sh, 628, <b>853</b> , 891sh, 915, 1023, 1070sh, 1093, 1125, 1146, 1237, 1356, 1371, <b>1441</b> , 1711, 1727, 2245, 2712, 2835sh, <b>2910</b> , 2934sh, 3025, 3380	110
Polyvinyl chloride (PVC)	310, 345sh <sup>a</sup> , <b>363</b> , 420, 496, 544, 571, 599, 615, <b>638</b> , 682, <b>694</b> , 752, 838, 930, 964, 972, 1066, 1101, 1119, 1172, 1187, 1216, 1257, 1316, 1335, 1357, 1379, <b>1430</b> , 1437, 1498, <b>2914</b> , <b>2935</b> , 2969, 2994	115,116
Thermoplastic polyurethane (TPU) <sup>d</sup>	715, 782, <b>866</b> , 902, 974, 1020, 1048, 1069, 1119, <b>1185</b> , 1197, 1252, 1313, 1439, 1539, <b>1617</b> , 1701, 1730, 2875, <b>2926</b> , 3065, 3337	117

<sup>a</sup>Shoulder: sh. Most intense vibrations are listed in bold characters.

<sup>b</sup>Ethylene copolymer ratios of 32.

<sup>c</sup>Polycarbonate peaks refer to bis-phenol A type polycarbonate, also known as Lexan (Macrolon), which is the most common polycarbonate.

<sup>d</sup>Polyester-type polyurethane.

Figura 9. Tabella dei picchi delle principali e più comuni plastiche. (Nava, V.; Frezzotti, M. L.; Leoni, B. Raman Spectroscopy for the Analysis of Microplastics in Aquatic Systems 2021, Vol. 75(11) pagg. 1341–1357)

## Metodologie e Campioni

In questo studio la Raman viene utilizzata per l'analisi del campione tal quale, quindi non strutturalmente disturbato, per conoscere l'esatto punto di sedimentazione della plastica identificata nella carota e per conoscere quindi anche la sua sedimentazione nel tempo.

Da questo strumento si possono ottenere sia mappe che spettri. Gli spettri possono essere singoli se si imposta l'analisi di un unico punto, o multipuntuali quando si crea lo spettro di un'area. Quando lo spettro è multipuntuale si devono definire le dimensioni dell'area e il passo, ovvero la distanza tra punti di rilevamento. Le mappe sono ottenute attraverso la fotografia molto precisa della superficie indagata, e attraverso il programma associato allo strumento si possono creare dei collegamenti tra mappa e spettro, in modo tale da individuare visivamente l'area che corrisponde ad un preciso spettro e quindi ad un preciso materiale.

Oltre al passo e all'area di mappatura devono essere definiti anche altri parametri come la potenza della radiazione, che deve essere impostata tenendo in considerazione sia l'eventuale vulnerabilità del materiale indagato, che la risoluzione di analisi che si vuole ottenere.

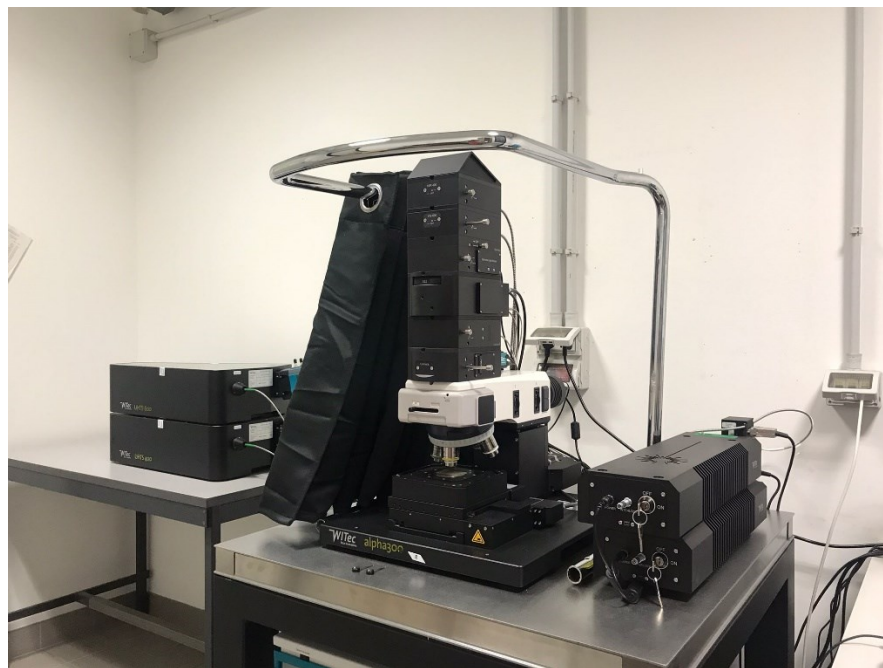


Figura 10. Fotografia dello strumento Raman al dipartimento di Geoscienze dell'Università di Padova

Con l'utilizzo della tecnica Raman sono state riscontrate alcune problematiche di analisi, in particolare con lo strumento utilizzato, che vengono qui di seguito descritte.

## Metodologie e Campioni

La messa a fuoco. Ci sono due metodi di focus che possono essere utilizzati: l'autofocus e il cosiddetto "True surface". L'autofocus permette la messa a fuoco automatica con un range di spostamento di 100  $\mu\text{m}$ , per una elevata precisione del rilevamento. Questo metodo è stato utilizzato per questo studio, in quanto l'area di campione indagata ha dimensioni notevoli. Il "True surface" infatti viene solitamente utilizzato per analisi al dettaglio, con aree di superficie molto piccole. Per rientrare il più possibile nel range di 100  $\mu\text{m}$ , durante la preparazione dei campioni si è cercato di rendere le superfici il più lisce possibili, in modo tale da avere una superficie il più omogenea possibile, avendo solo come fattore di disturbo la rugosità conferita dai granuli e dalle loro diverse dimensioni. Nonostante tutti gli accorgimenti utilizzati, la non precisa messa a fuoco ha condizionato parte delle analisi.

La potenza del Laser. Lo strumento, come spiegato in precedenza, utilizza un laser per l'eccitazione dei legami chimici della materia, ma è stato necessario trovare un compromesso nella potenza del raggio. Infatti elevate potenze permettono di ottenere uno spettro migliore, con meno rumore e quindi picchi più definiti e di più semplice individuazione, ma contemporaneamente si rischia di bruciare le plastiche presenti nel campione, poiché sono fibre, filamenti sottili e spesso poco resistenti a stress come elevate irradiazioni e temperature. Nonostante la potenza selezionata come compromesso tra i due aspetti sia stata 5 mW, c'è una elevata probabilità che siano state bruciate alcune fibre nei campioni, con conseguente non rilevamento della materia. Questa ipotesi viene confermata dalle prove svolte sulle plastiche separate fisicamente, poiché durante la scansione per la creazione dei picchi di riferimento, è stato osservato questo fenomeno.

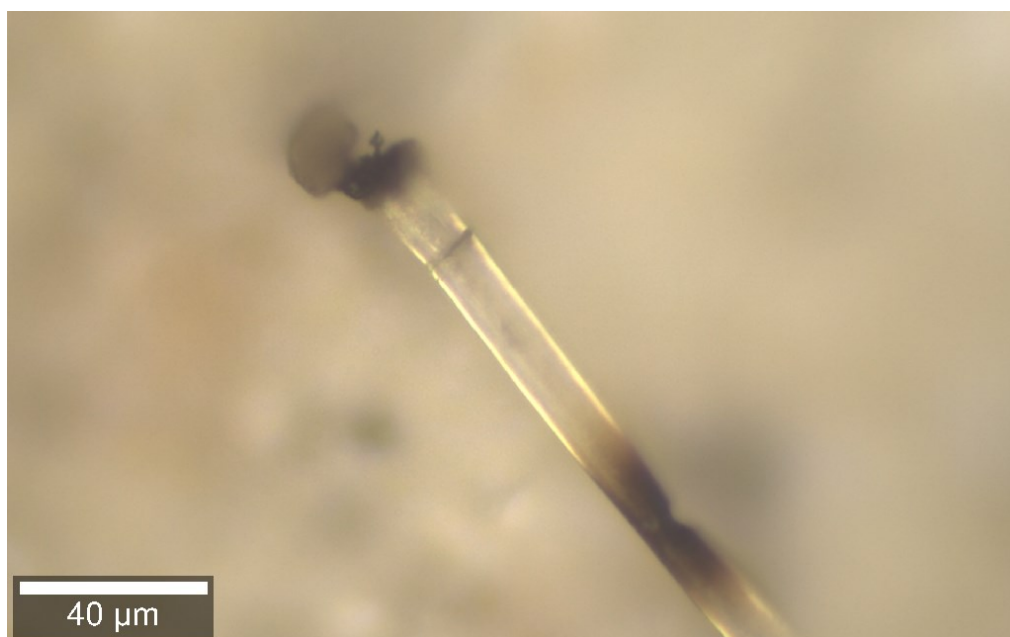


Figura 11. Filamento plastico bruciato durante l'analisi nei due siti indagati per l'elevata potenza del laser (20 mW).

## Metodologie e Campioni

Morfologia fibre e superficie. Le plastiche si trovano sotto forma di fibre, quindi allungate e sottili, individuabile in modo evidente solo se la fibra è posizionata parallelamente alla superficie indagata e quindi in grado di essere rilevata nella sua totale lunghezza. Essendo la Raman uno strumento che mappa la sola superficie esposta e non un volume, se la fibra non è posizionata come sopra citato (sia essa posizionata obliquamente o perpendicolarmente), nella maggior parte dei casi non è rilevata. Inoltre, più il passo di rilevamento è grande, meno probabilità di intercettazione della fibra si ha. Questo perché si imposta un maggior spazio tra un punto di rilevamento e quello successivo, aumentando la possibilità che la sottile microplastica si trovi in esso e non venga così individuata. Altro problema che si riscontra è l'elevato rumore degli spettri, dovuto sia al compromesso dell'utilizzo della potenza sopra citato, che alla natura del materiale plastico. La plastiche nella maggior parte dei casi è infatti caratterizzata da trasparenza che rende lo spettro rumoroso in quanto parte del raggio laser riesce a trapassare la plastica e rilevare anche il materiale sottostante la fibra.

Come già citato, è molto importante stabilire il passo più adatto all'analisi, in quanto più piccolo esso sarà, più elevata sarà la risoluzione della mappatura. Infatti con una minore distanza tra un punto analizzato e quello successivo, la superficie viene indagata in modo più serrato e quindi con una maggiore risoluzione. Si può impostare il tempo di azione del laser, e quindi i secondi in cui il raggio permane attivo su uno spot per la produzione del singolo spettro. Si deve trovare però un compromesso tra la risoluzione di analisi e le tempistiche della stessa, in quanto minore è il passo impostato, maggiori sono gli spot di analisi e maggiore sarà il tempo necessario per la mappatura totale della superficie.

## Risultati

### **Risultati**

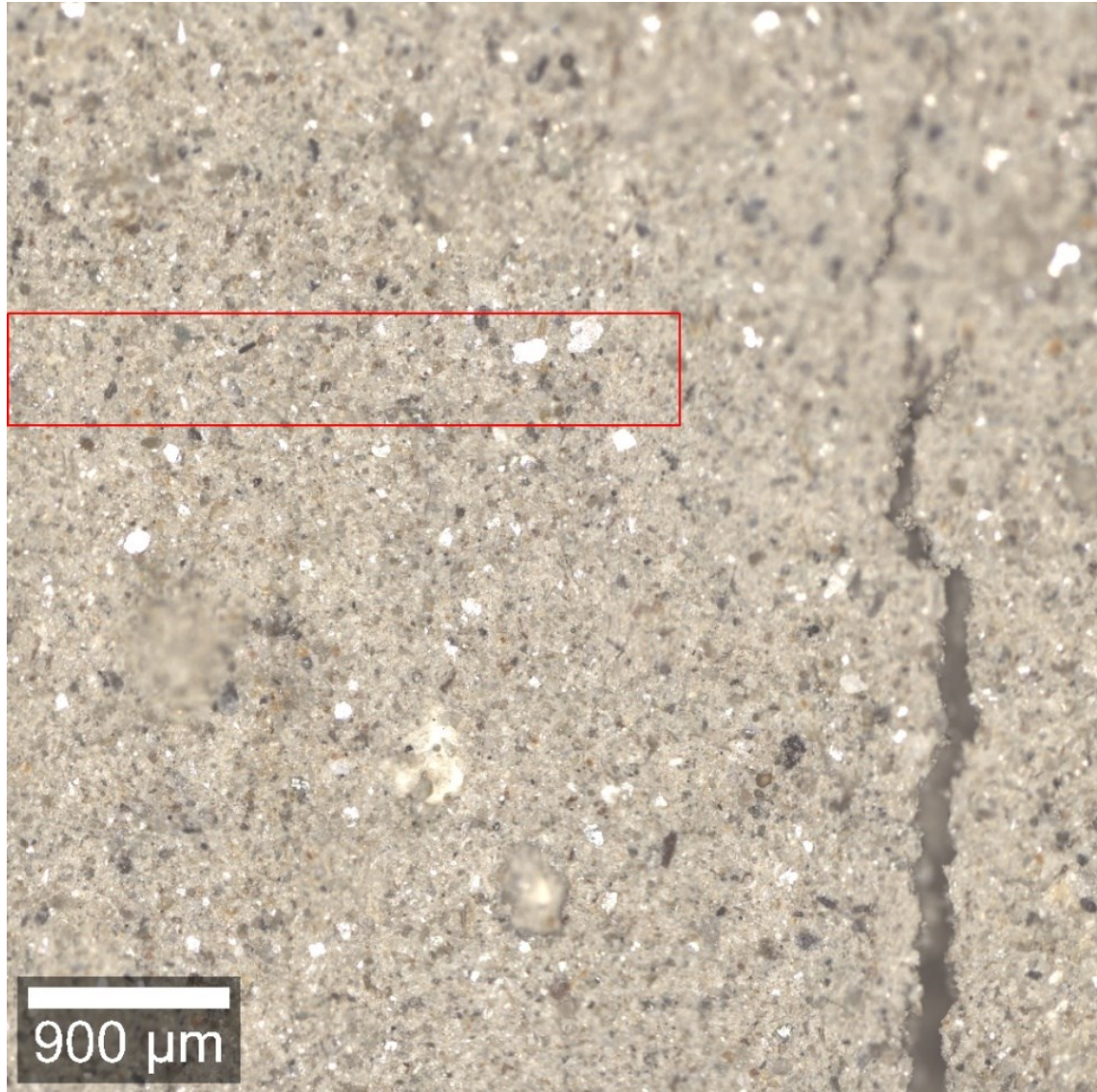
Come già descritto, lo scopo di ricerca di questo studio è quello di ritrovare frammenti plastici di piccole dimensioni nel campione tal quale. Come spiegato precedentemente, l'interazione tra lo strumento e il materiale a volte non permette di ottenere risultati soddisfacenti, a causa soprattutto delle caratteristiche morfologiche e chimiche delle microplastiche.

Per questo motivo, precedentemente all'analisi completa dell'area selezionata, nelle mappe sono stati ricercati manualmente e visivamente filamenti in primo luogo per accertarsi che fossero effettivamente elementi plastici e in secondo luogo per ottenere degli spettri di riferimento da confrontare in seguito con lo spettro complessivo dell'area indagata. Vengono di seguito descritte le analisi su due campioni sui quali si è concentrata la gran parte del lavoro. Per semplicità, sono stati riportati solo alcuni esempi di mappe e spettri ottenuti.

## Risultati

### Campione 0-4 cm

Come prima cosa si è ottenuta la mappa generale dell'area indagata, con dimensioni 3000x500  $\mu\text{m}$ .



*Figura 12. Mappa generale dell'area analizzata.*

In seguito sono stati ricercati visivamente nella mappa dei frammenti plastici, dai quali poi si è ottenuto il loro spettro. Quest'ultimo ha confermato la natura chimica del materiale.

Come si può notare dai dati in seguito riportati, sono stati individuati tre differenti tipi di plastiche contraddistinti da spettri (e quindi picchi) diversi.

## Risultati

- Polipropilene isotattico:

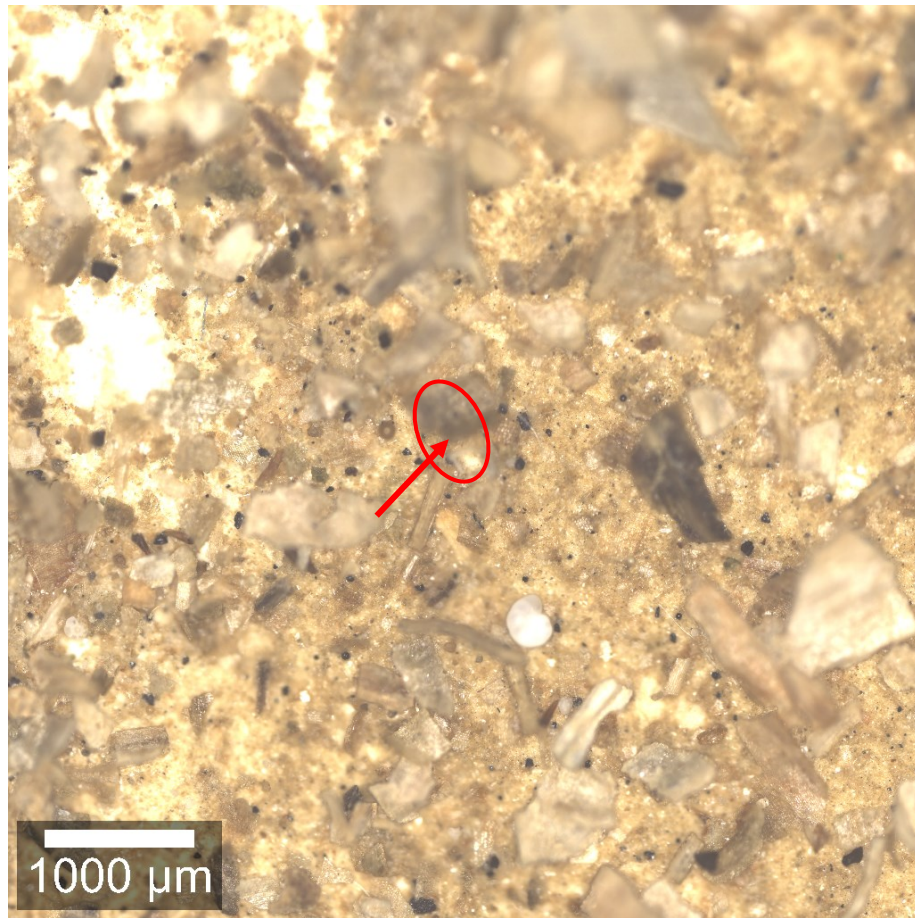


Figura 13. Mappa in cui è stato individuato un filamento plastico, riconosciuto come polipropilene isotattico (mappa intervallo 0-4 cm)

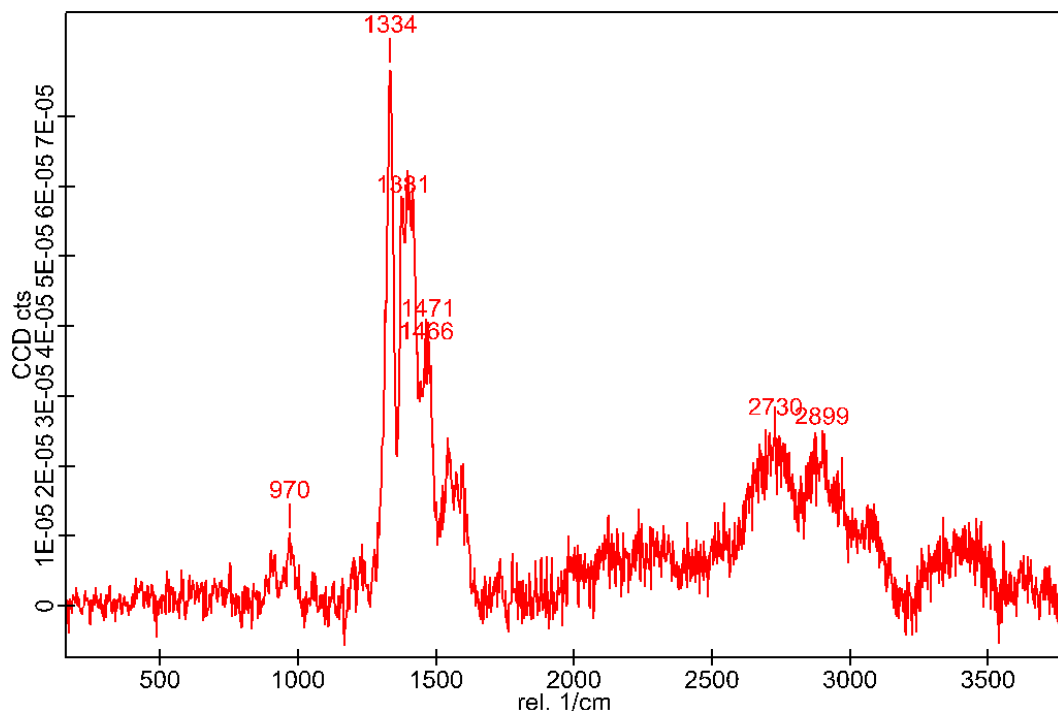


Figura 14. Spettro di polipropilene isotattico (mappa intervallo 0-4 cm)



## Risultati

- Polipropilene



Figura 15. Mappa di filamento plastico riconosciuto come polipropilene (mappa intervallo 0-4 cm)

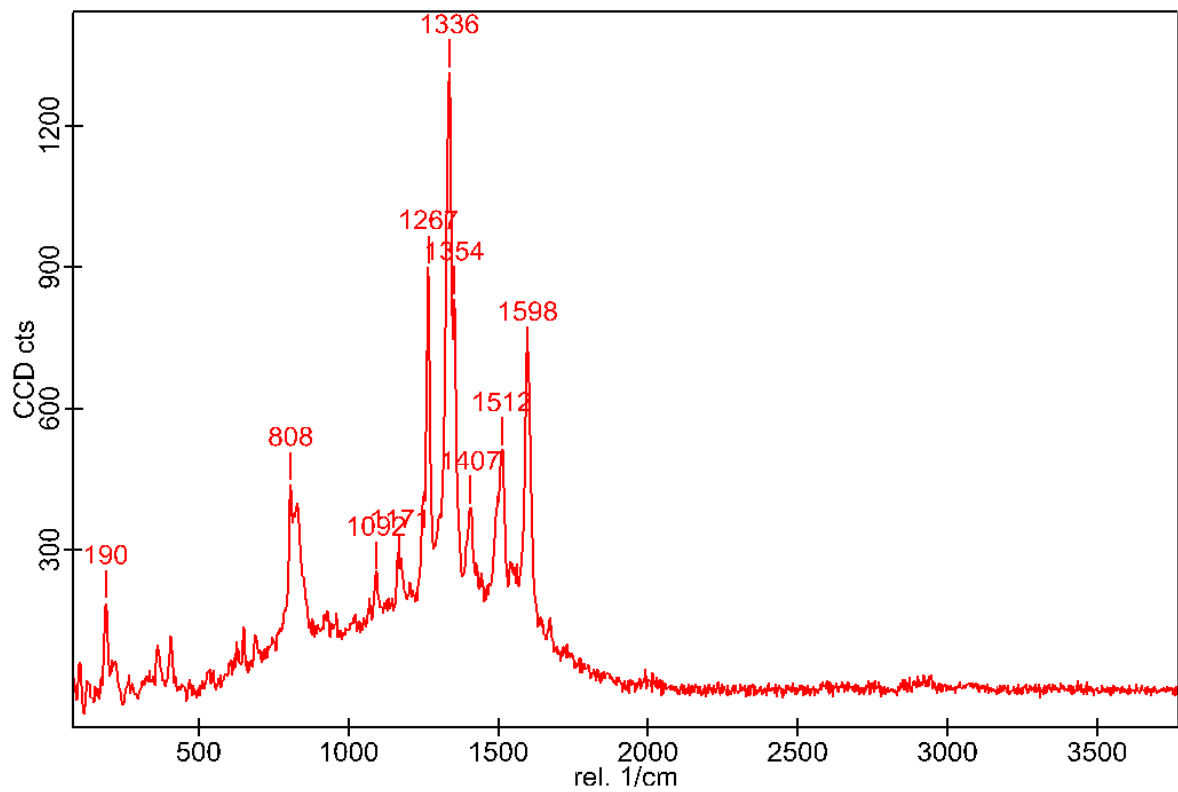


Figura 16. Spettro del filamento di polipropilene (mappa intervallo 0-4 cm)

## Risultati

- Polistirene

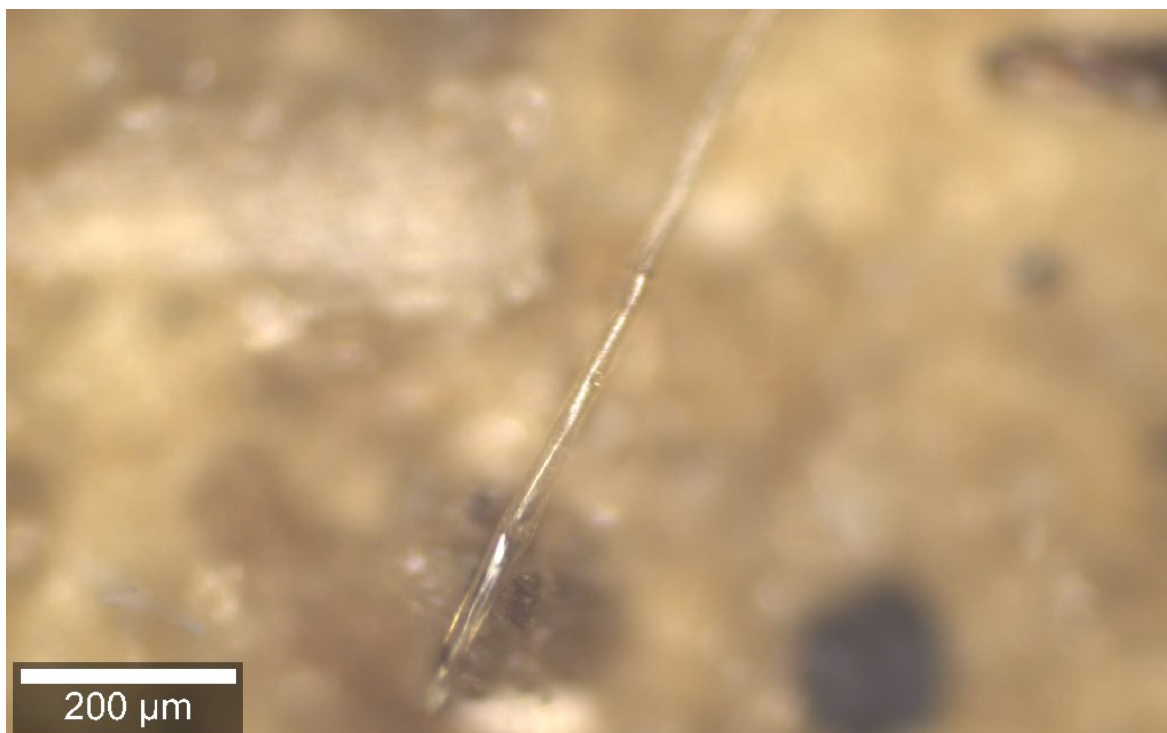


Figura 17. Mappa di filamento riconosciuto come polistirene (mappa intervallo 0-4 cm)

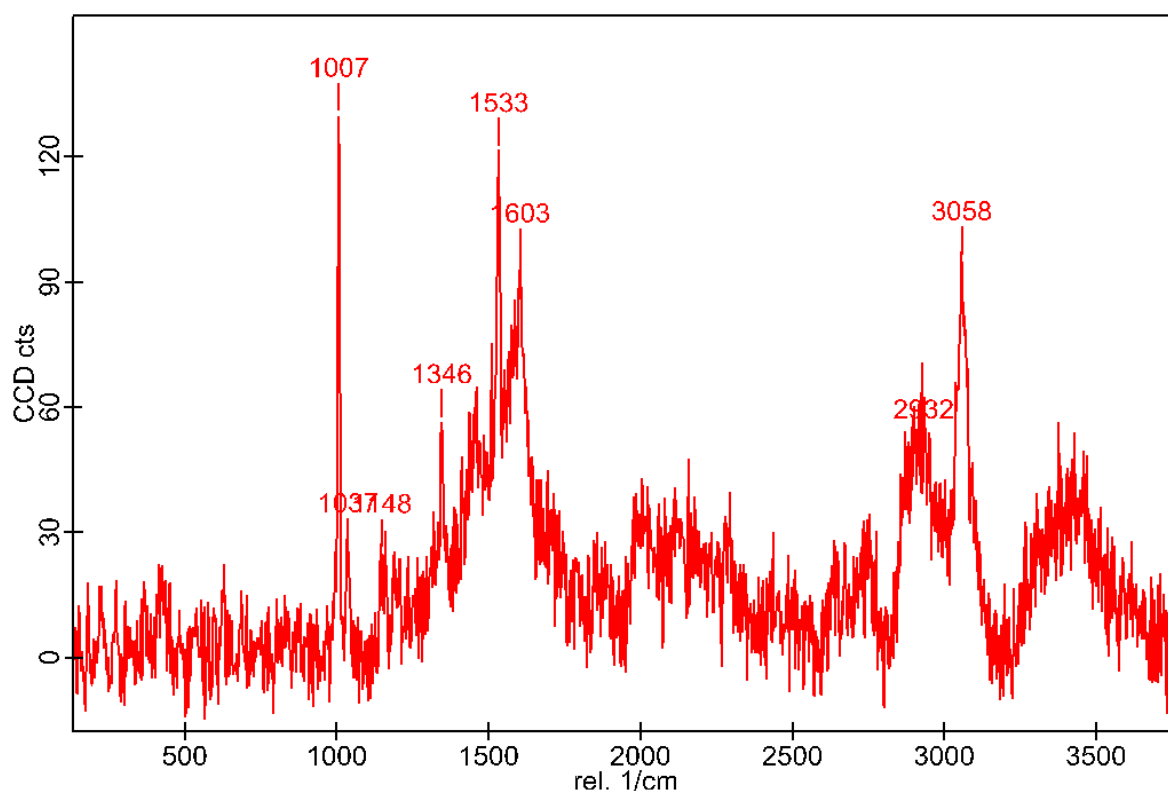


Figura 18. Spettro di polistirene (mappa intervallo 0-4 cm)

## Risultati

La fase successiva è stata quella analizzare un'intera area per ricercare microplastiche. Essendo questa un'analisi multipuntuale, ciò che si ottiene alla fine è un insieme di spettri, uno per ogni punto rilevato. L'area mappata è stata di 3000x500  $\mu\text{m}$  e il passo utilizzato è 5  $\mu\text{m}$ , per un totale di 60000 punti.

Il risultato è quindi un insieme di spettri, ognuno per un punto, che indicano la natura del materiale in ogni spot analizzato.

Si sono però incontrate una serie di problematiche, citate nel precedente capitolo, come la messa a fuoco, la potenza del laser e infine la forma e disposizione dei filamenti di plastica.

## Risultati

Elevata potenzialità dello strumento è invece quella di poter analizzare e riconoscere la mineralogia della superficie indagata, attraverso l'output di spettri nei quali ogni picco corrisponde ad un preciso minerale.

Per facilitare la lettura dei dati, è possibile creare una mappa a falsi colori dell'area analizzata in cui si individuano le zone ricche di un determinato materiale o minerale.

Alcuni esempi svolti sul campione di intervallo 0-4 cm sono i seguenti:

- Gruppo carbonato, caratterizzato da un picco tra  $1080-1100\text{ cm}^{-1}$  (possibile calcite, picco  $1087\text{ cm}^{-1}$ )

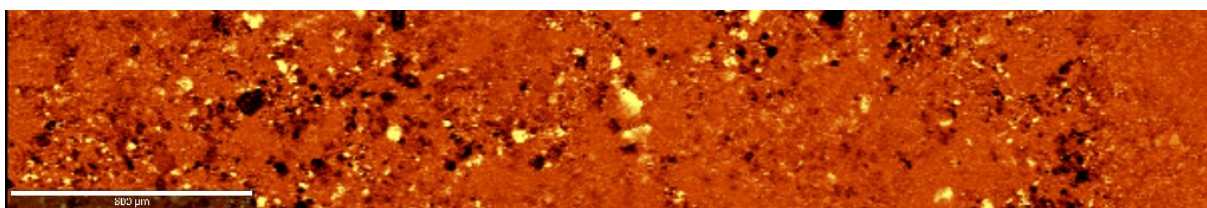


Figura 19. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di carbonati

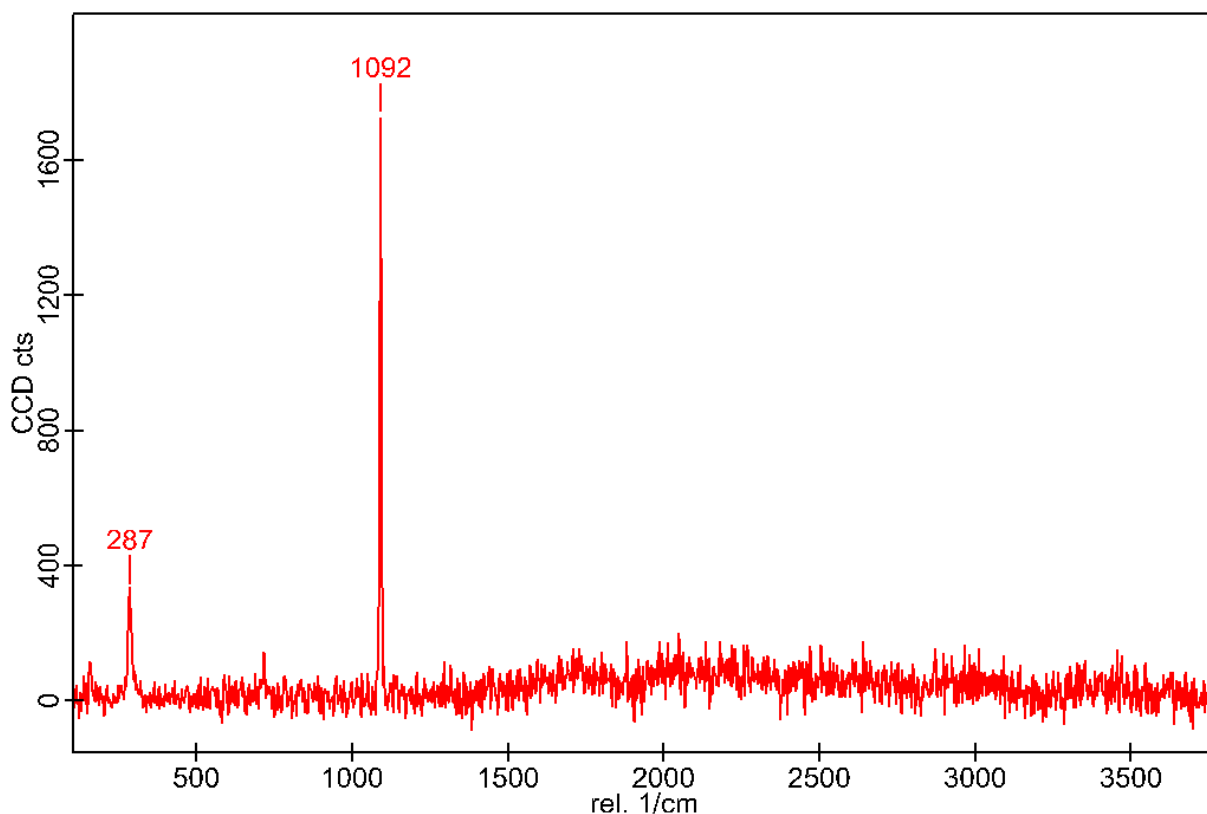


Figura 20. Spettro della calcite, con evidente picco a circa  $1087\text{ cm}^{-1}$

## Risultati

- Quarzo con picco caratteristico a  $464\text{ cm}^{-1}$

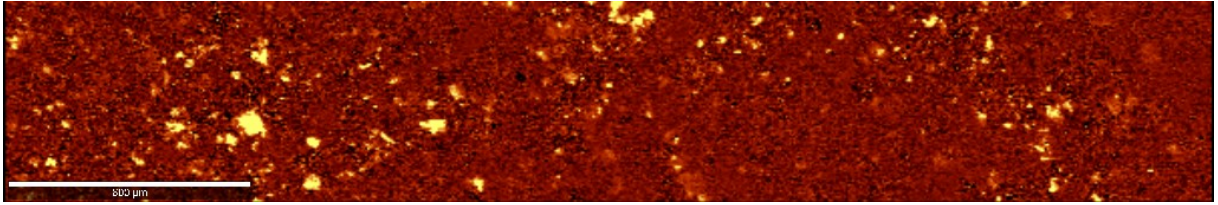


Figura 21. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di quarzo

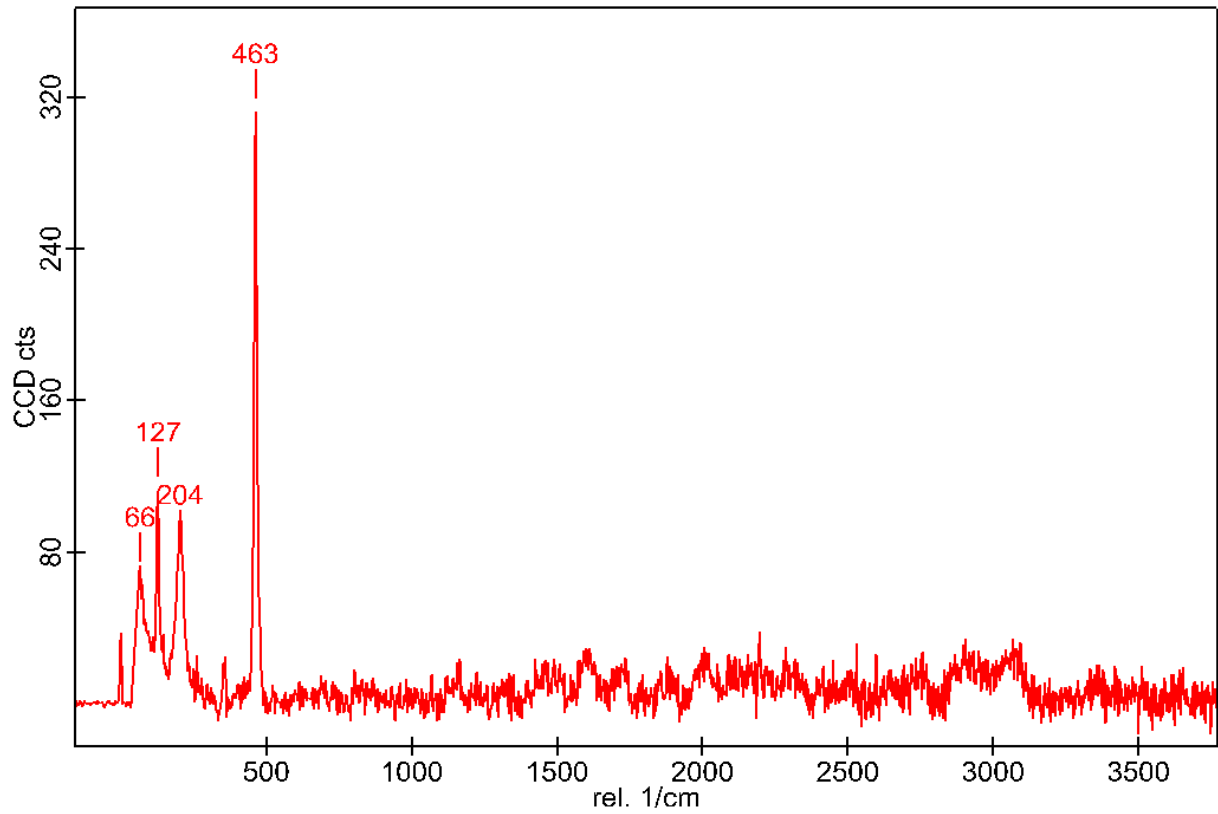


Figura 22. Spettro del quarzo, con picco caratteristico vicino al  $464\text{ cm}^{-1}$

## Risultati

### - Sostanza organica

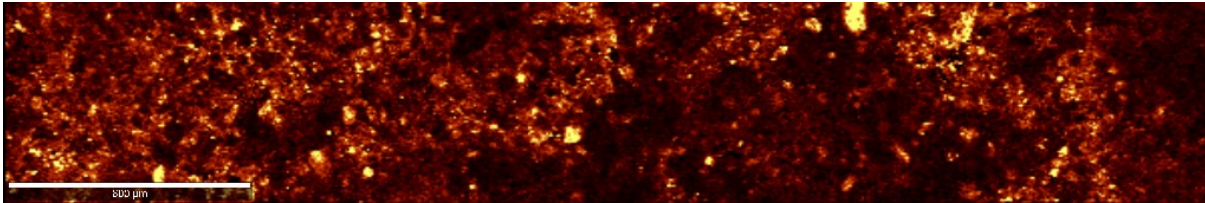


Figura 23. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di sostanza organica

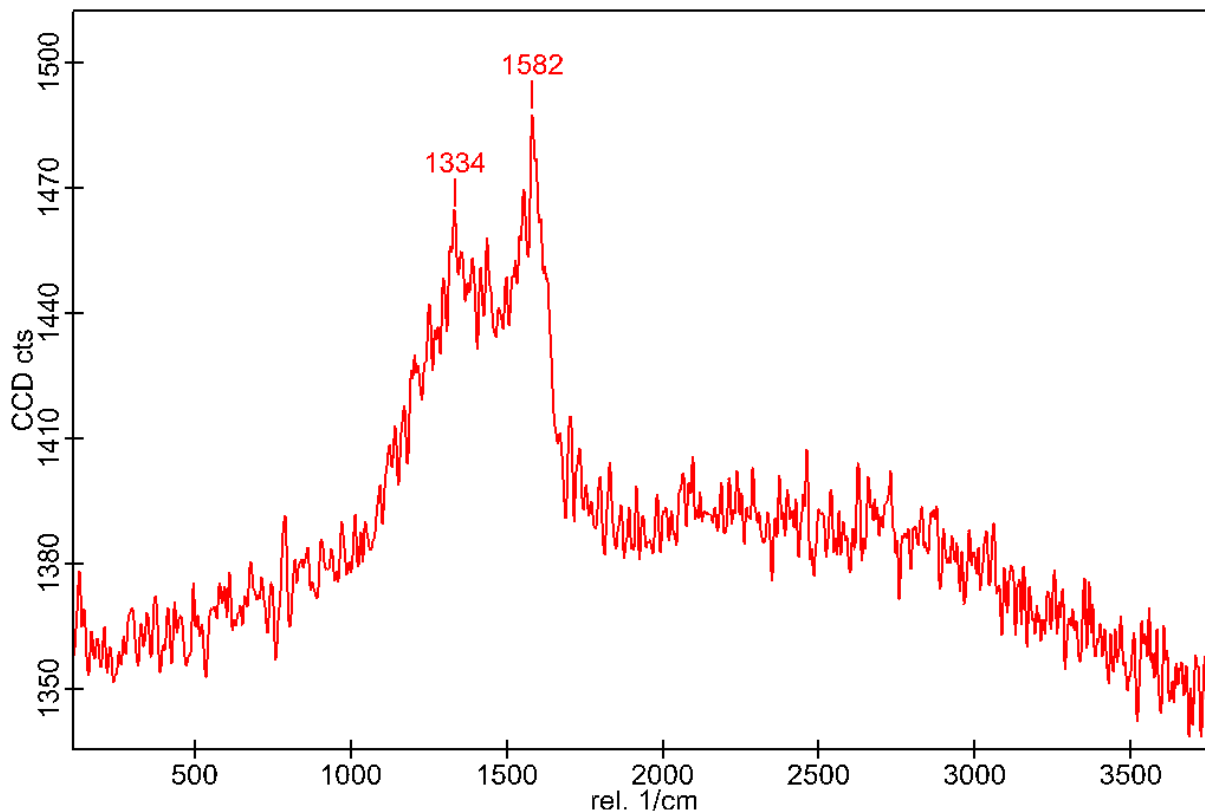


Figura 24. Spettro della sostanza organica

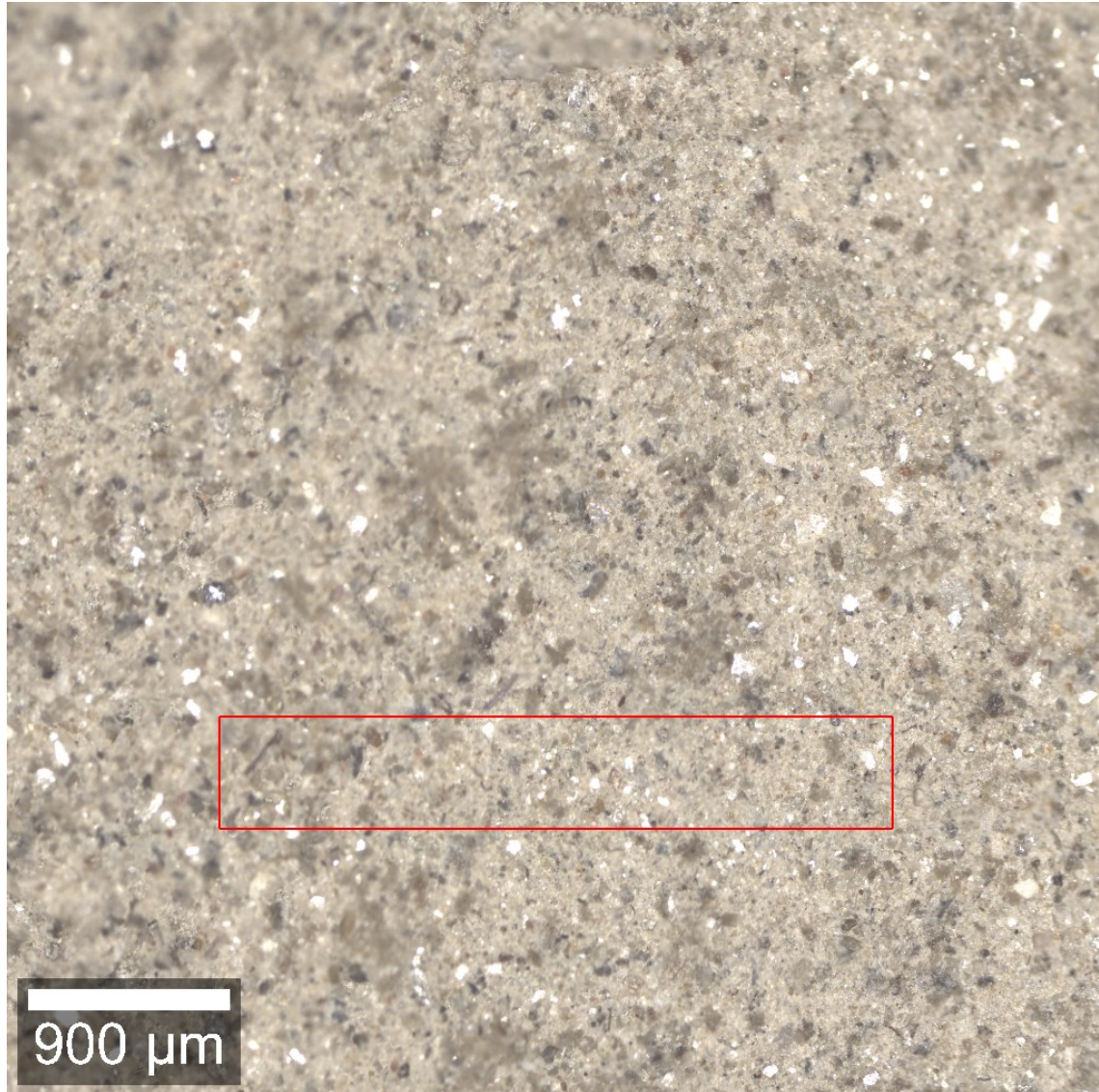
I picchi identificativi della sostanza organica si trovano nell'intervallo  $1300-1500\text{ cm}^{-1}$  e corrispondono ai legami del carbonio.

Si distinguono due bande: la prima (picco a 1300 circa) è chiamata banda D e rappresenta i legami disordinati, mentre la seconda è la banda G (picco a 1500 circa) e rappresenta i legami ordinati del carbonio.

## Risultati

### Campione 22-26 cm

Analogamente al campione precedente come prima cosa si è ottenuta la mappa generale dell'area con dimensione 3000x500  $\mu\text{m}$ .



*Figura 25. Mappa generale dell'area analizzata.*

La ricerca visiva di frammenti plastici non ha dato risultati, facendo quindi pensare ad una presunta assenza di materia plastica sulla superficie indagata.

Si è quindi passati a studiare la composizione mineralogica del campione. Come per il campione precedente, vengono qui riportate come esempio le mappe relative a calcite, quarzo e sostanza organica.

## Risultati

- Gruppo carbonato (probabile dolomite)

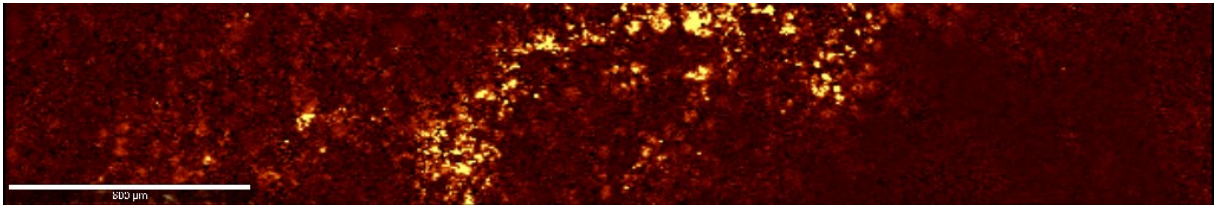


Figura 26. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di carbonato

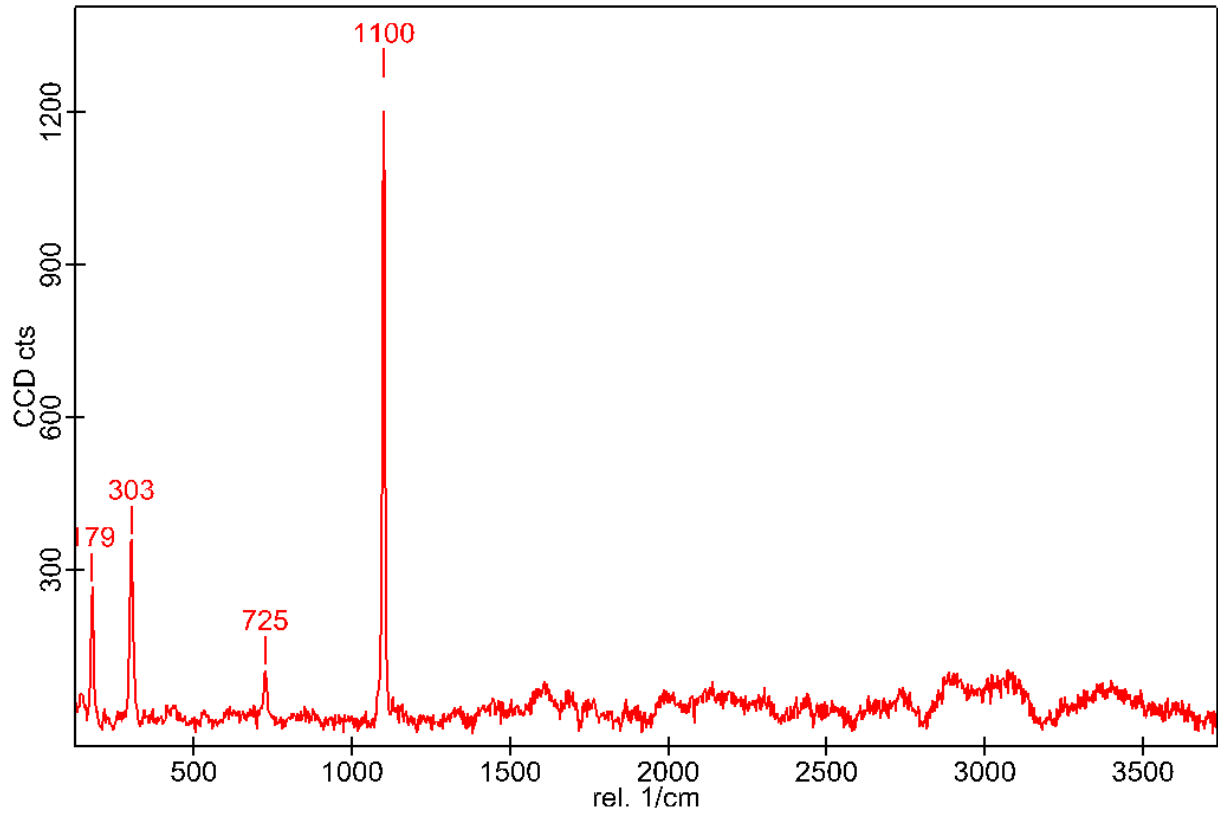


Figura 27. Spettro della dolomite, con evidente picco a  $1100\text{ cm}^{-1}$



## Risultati

- Quarzo

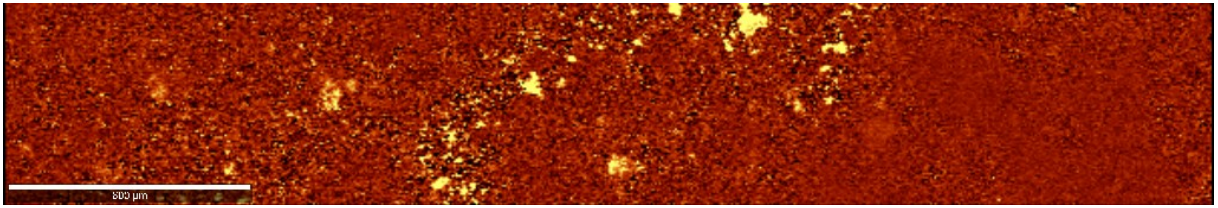


Figura 28. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di quarzo

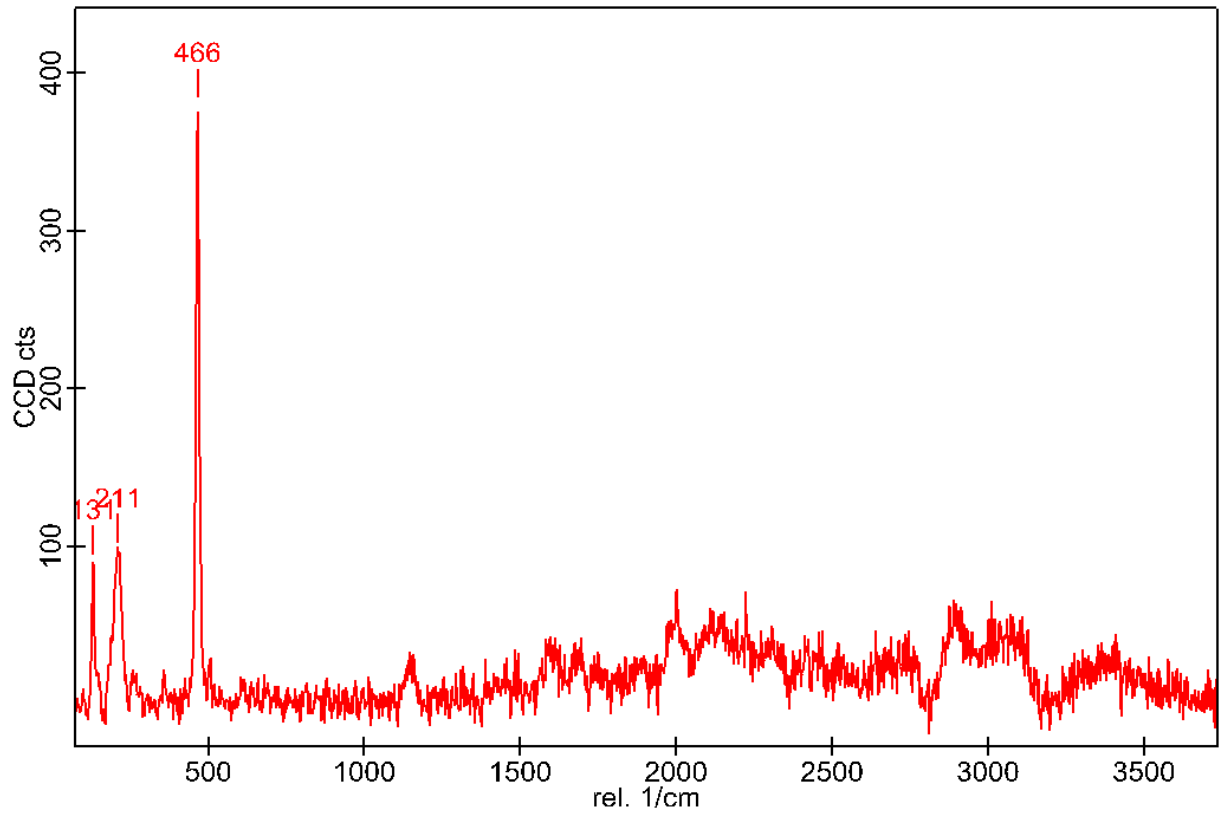


Figura 29. Spettro della quarzo

## Risultati

- Sostanza organica

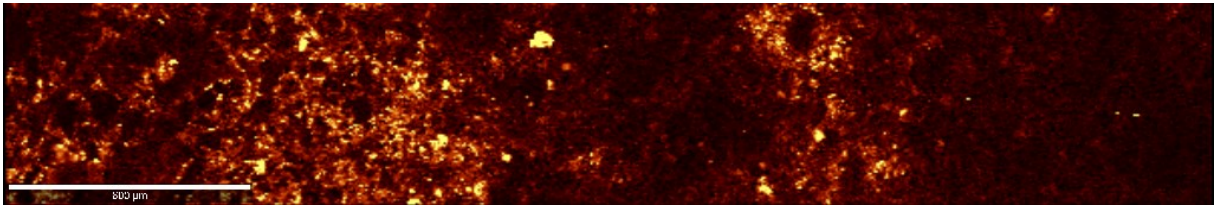


Figura 30. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di sostanza organica

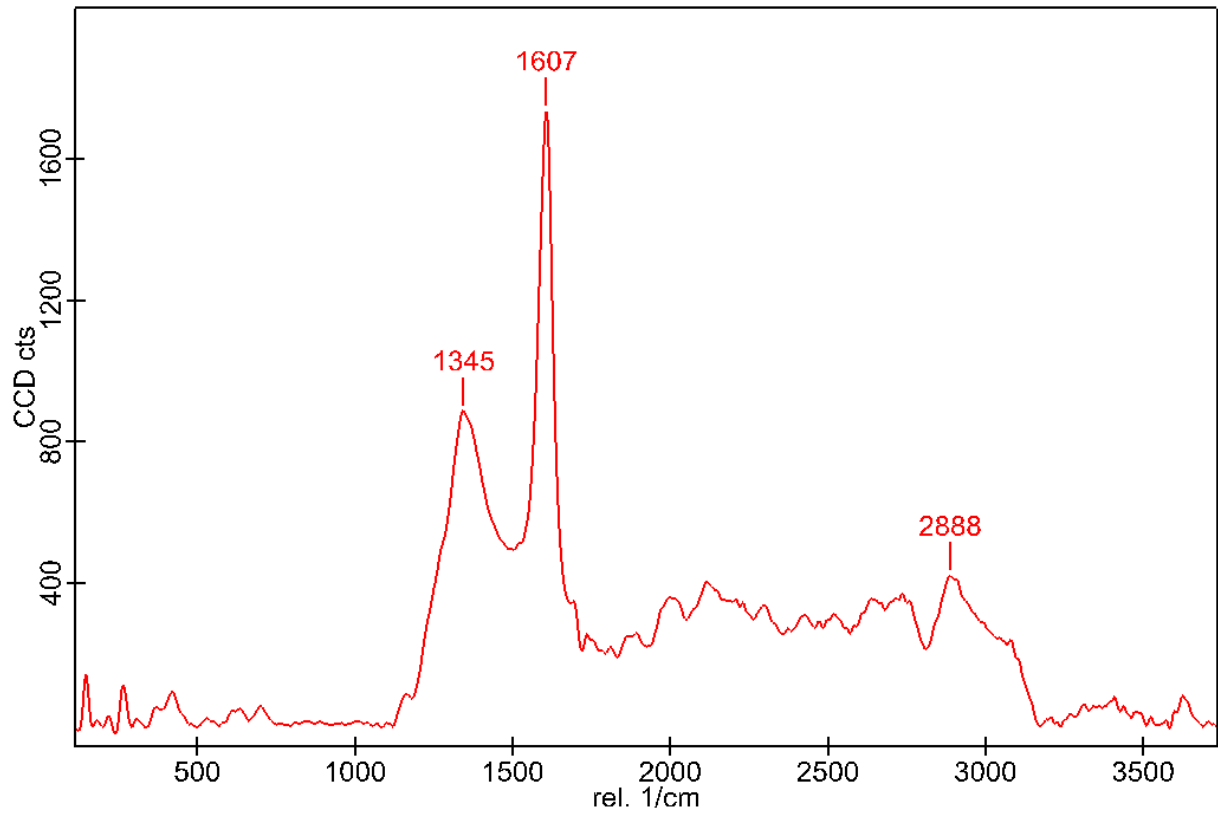
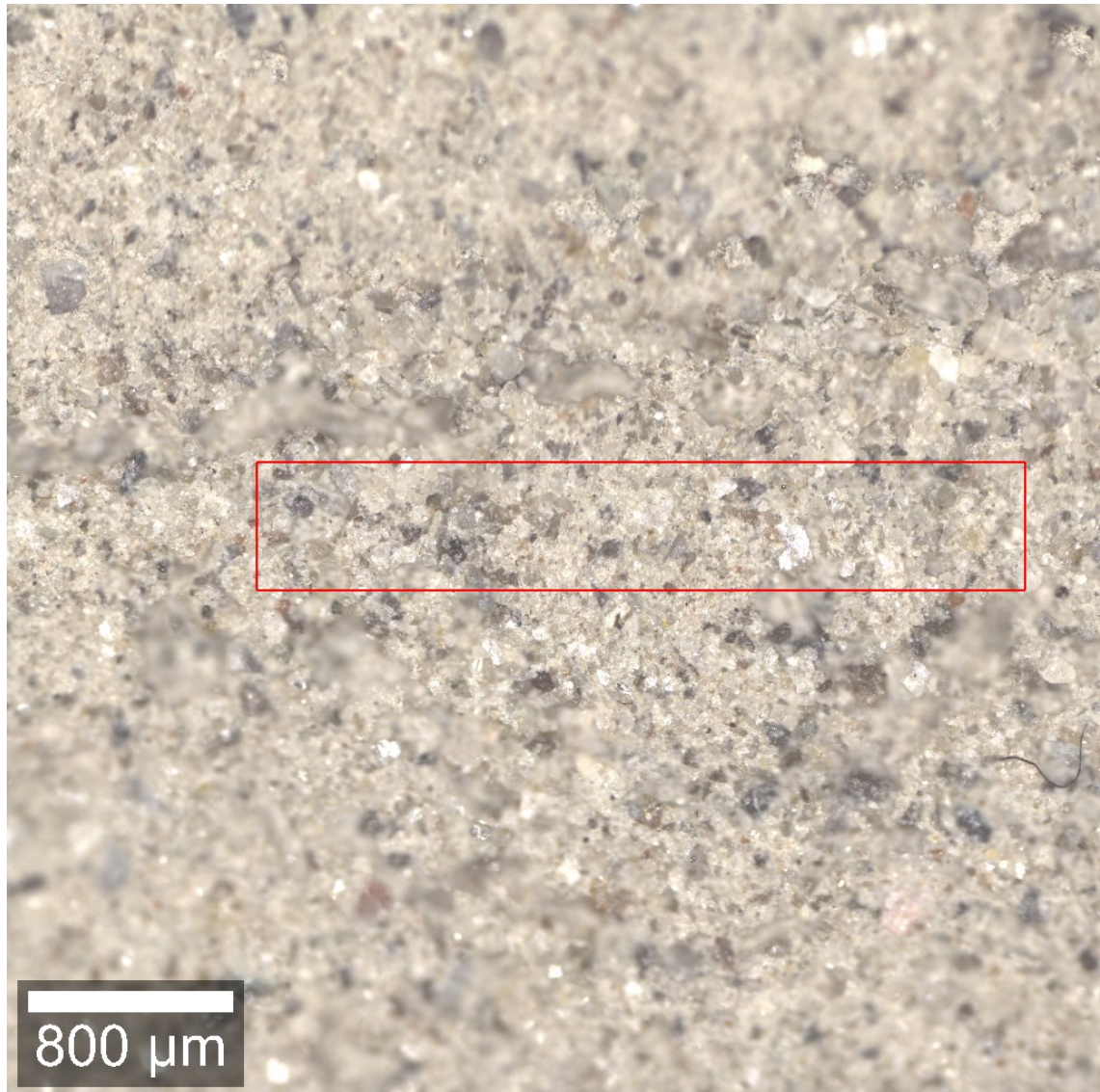


Figura 31. Spettro della sostanza organica

## Risultati

### Campione 99-103 cm

Anche in questo caso, si è analizzato un'area dalle dimensioni di 3000x500  $\mu\text{m}$ .



*Figura 32. Mappa generale dell'area analizzata*

L'analisi visiva ha permesso di individuare un frammento plastico che è risultato essere costituito da polistirene.

## Risultati

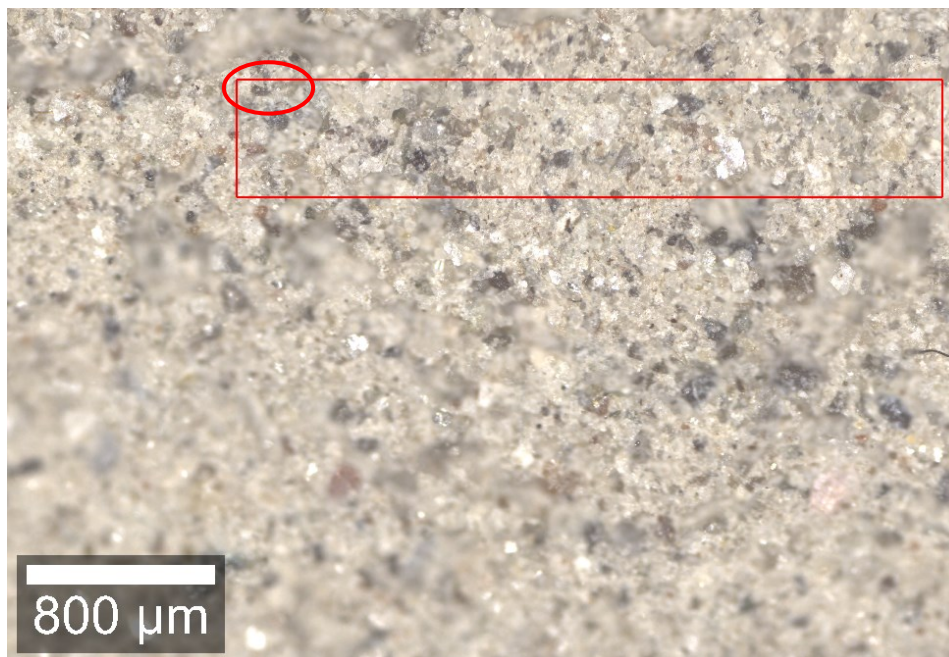


Figura 33. Area in cui è stato individuato il frammento di polistirene.

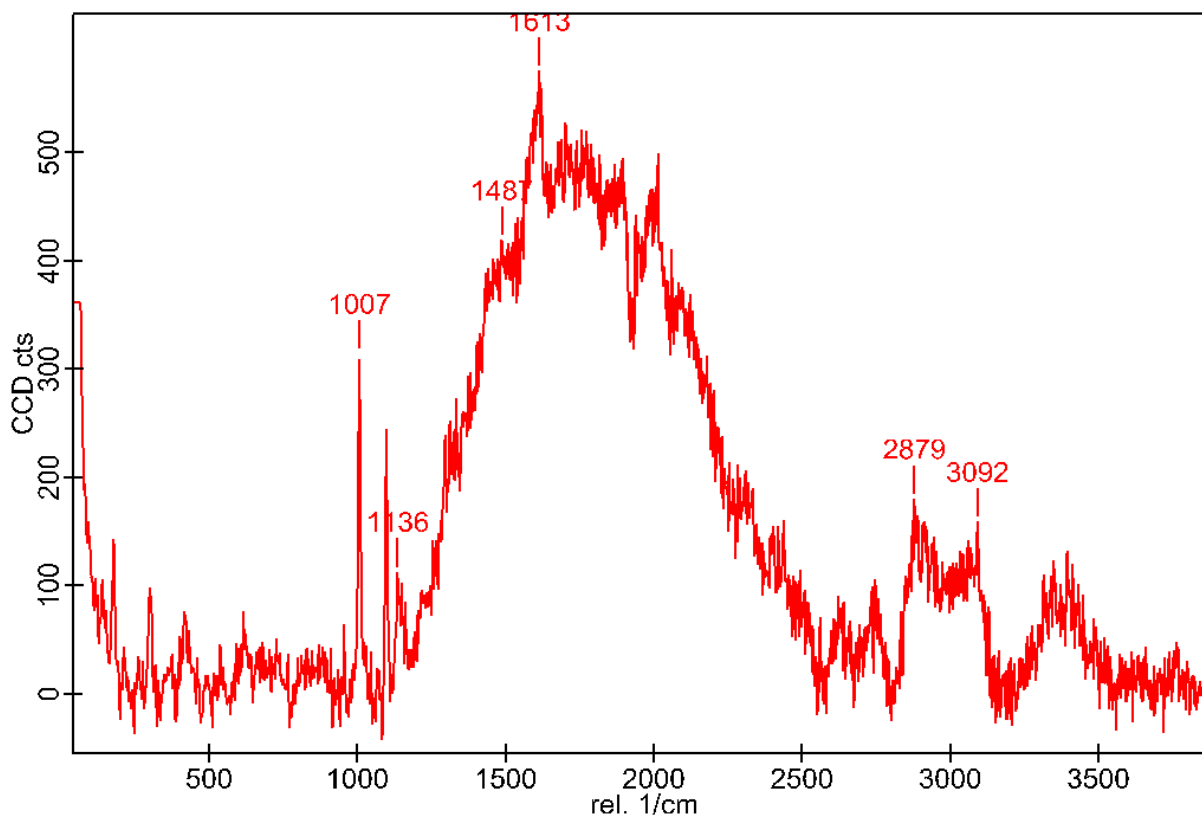


Figura 34. Spettro del polistirene

Confrontando lo spettro ottenuto con lo spettro di riferimento del polistirene si può notare come siano presenti più picchi rispetto a quelli identificativi. Questo accade quando si ha una sovrapposizione di materiali diversi, che interferiscono nell'ottenimento dei picchi che contraddistinguono la sostanza indagata.

## Risultati

L'insieme dei picchi del polistirene risulta infatti essere: 621,795, **1001**, 1031, 1155, 1450, 1583, **1602**, 2854, 2904, **3054**

Come si può notare dallo spettro ottenuto, si individuano anche altri picchi che indicano presenza di calcite con valore  $1087\text{ cm}^{-1}$ , sostanza organica con valori nei pressi di  $1300$  e  $1500\text{ cm}^{-1}$  e infine anche molecole contenenti gruppi  $\text{-OH}$ , dei quali il valore tipico si aggira attorno a  $3400$  e  $3600\text{ cm}^{-1}$ .

Questo esempio dimostra molto chiaramente che, proprio a causa della sovrapposizione di materiale, è importante indagare non solo la presenza di materia plastica, ma anche conoscere la presenza e la disposizione dei minerali che compongono la superficie di analisi, per poter sottrarre agli spettri risultanti i picchi tipici mineralogici, isolando così quelli del materiale di interesse.

Come nei campioni precedenti, sono stati individuati calcite, quarzo e sostanza organica.

- Gruppo carbonato (possibile dolomite)

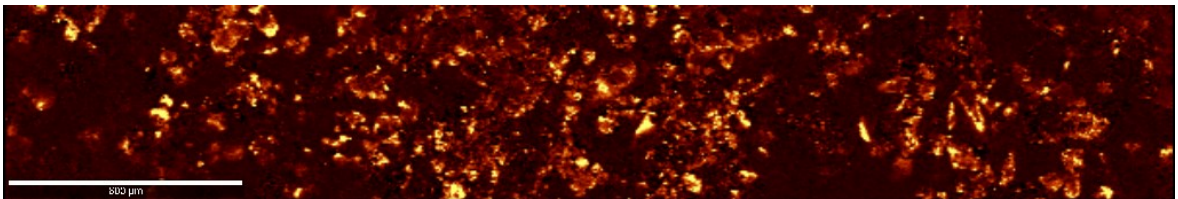


Figura 35. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di carbonato

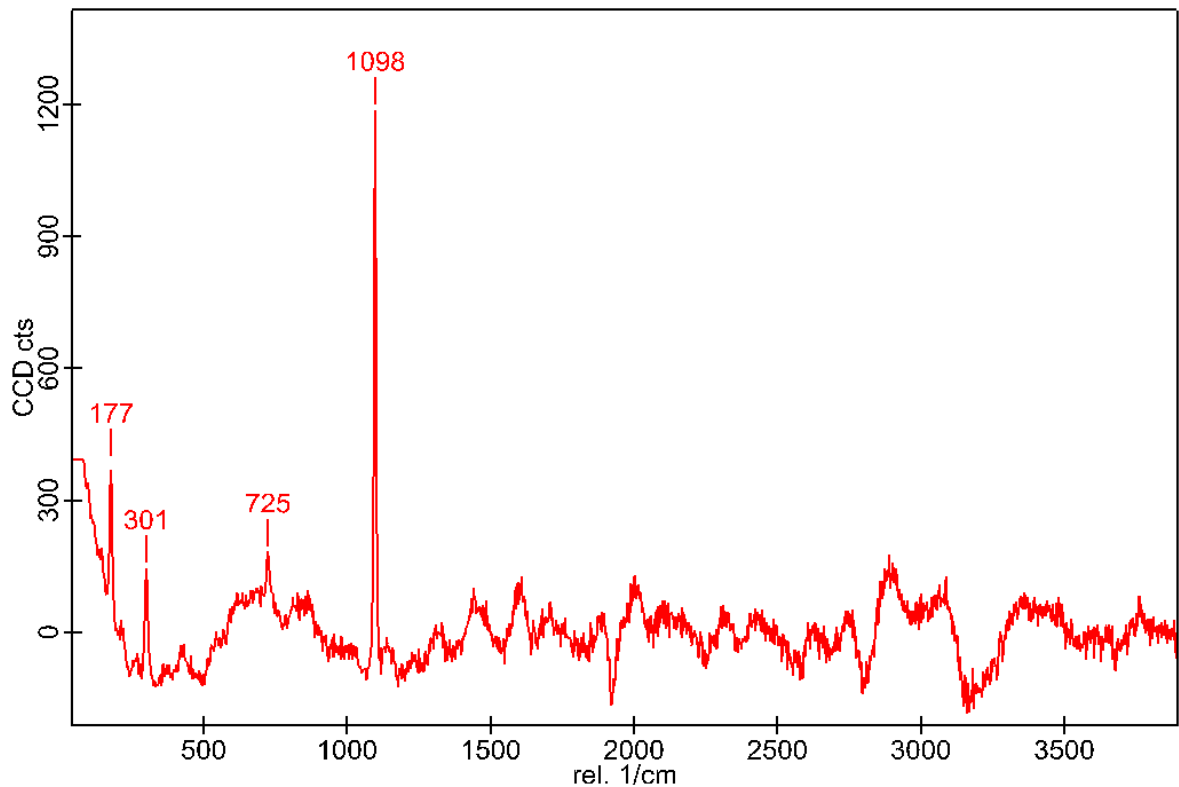


Figura 36. Spettro della dolomite, picco vicino a  $1100\text{ cm}^{-1}$

## Risultati

- Quarzo

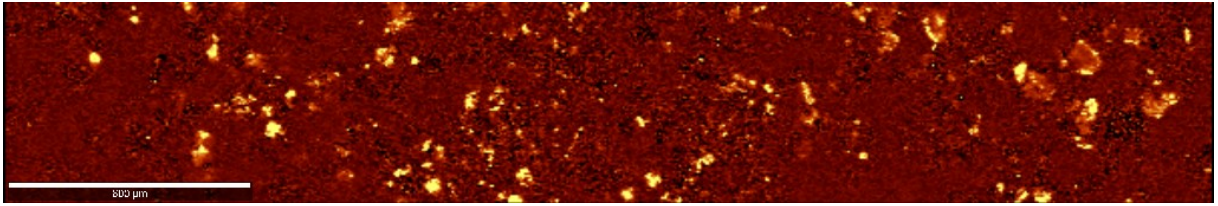


Figura 37. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di quarzo

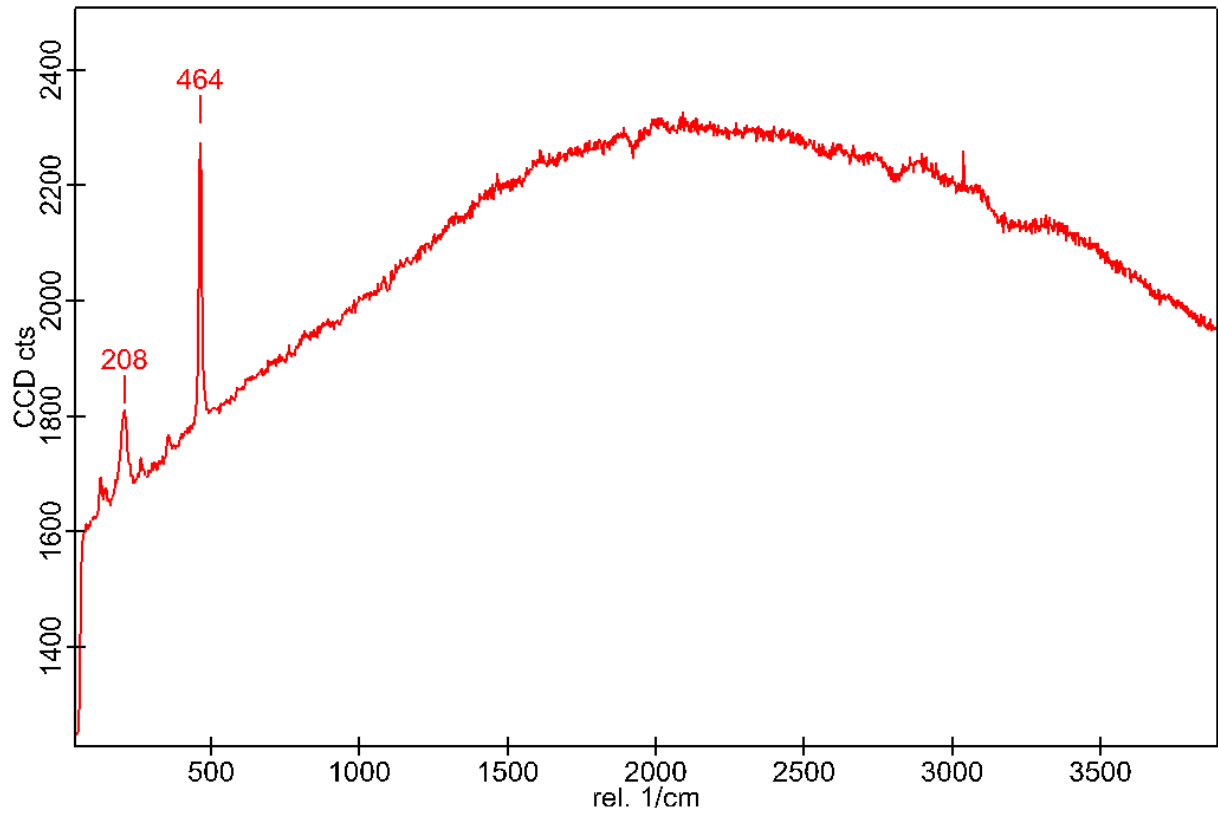


Figura 38. Spettro del quarzo

## Risultati

### - Sostanza organica

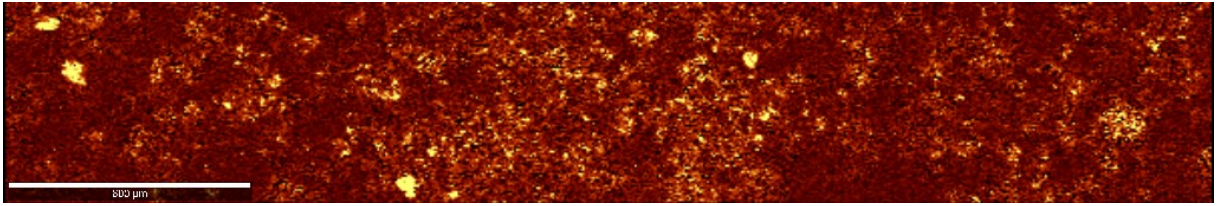


Figura 39. Mappa a falsi colori in cui il giallo indica la presenza di sostanza organica

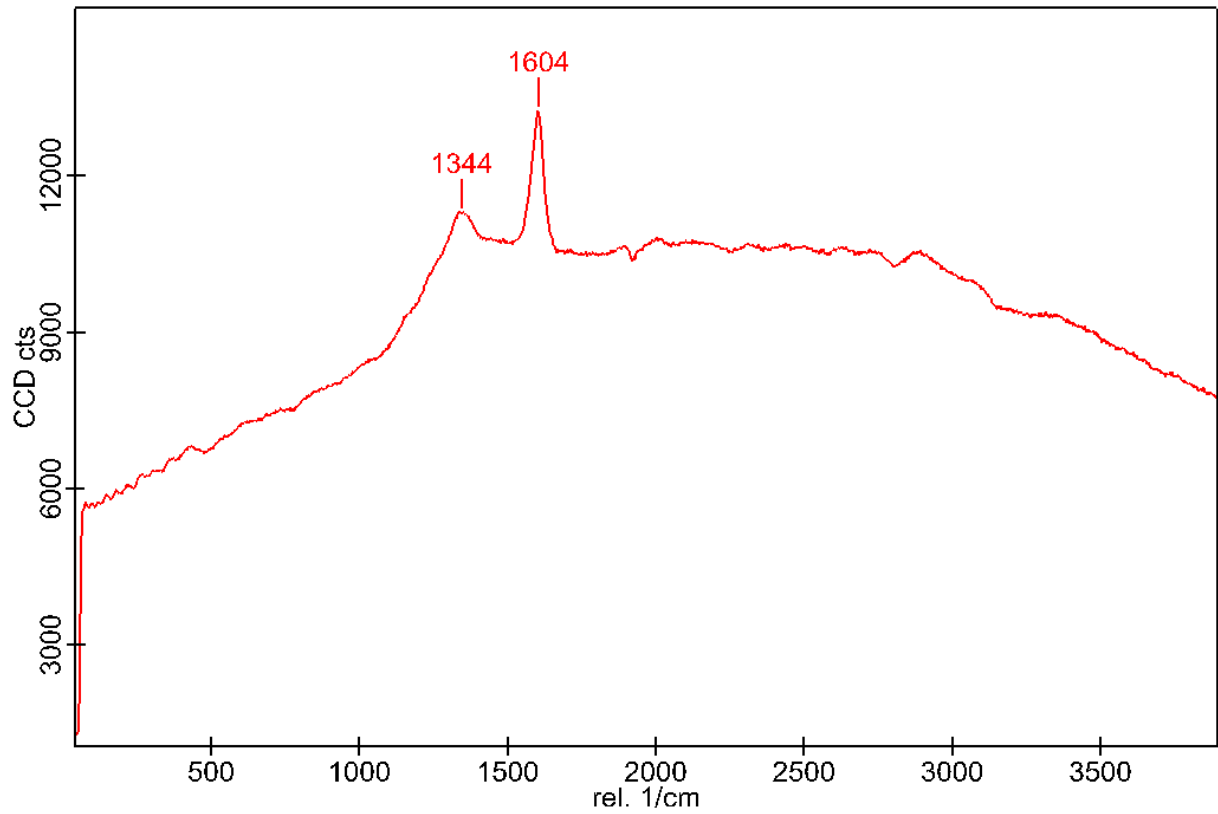


Figura 40. Spettro della sostanza organica

## Conclusioni

### **Conclusioni**

Questo lavoro mostra l'efficacia della microspettroscopia Raman nella determinazione della composizione mineralogica di un sedimento. L'utilizzo di uno strumento moderno e ad alta definizione permette l'ottenimento di mappe composte da migliaia di analisi puntuali in tempi ragionevoli.

Lo scopo principale di questo lavoro era, comunque, quello di rilevare la presenza di microplastiche in campione tal quale. I risultati ottenuti sono solo parzialmente soddisfacenti in quanto la quantità di frammenti e le loro dimensioni non hanno consentito una facile e immediata rilevazione durante la mappatura.

La Raman è quindi un'ottima tecnica per l'identificazione di materiale, ma non offre precisione e rappresentatività del campione nello svolgimento di scansioni di areali per la ricerca di precise sostanze, soprattutto se queste sono presenti in quantità molto modeste o irregolarmente distribuite.

Se invece lo scopo dello studio è quello di analizzare la superficie per conoscerne la composizione mineralogica, la tecnica è ottima, poiché si possono creare mappe molto precise, dove vengono rappresentate le varie componenti che appaiono sulla superficie. Al contrario di altri materiali, soprattutto quelli di derivazione antropica, i minerali hanno un'elevata resistenza allo stress termico e di irradiazione, rimanendo così invariati dopo l'interazione con il laser dello strumento.

Inoltre, i minerali hanno strutture molecolari molto precise e, interagendo con la radiazione emessa dallo strumento, forniscono un segnale di output ben definito. Grazie alle mappe che si ottengono, si può studiare la modalità di sedimentazione del materiale e quindi la disposizione dei diversi minerali, la loro origine e i processi di alterazione e diagenetici che sono intervenuti dopo la deposizione, spesso non visibili al normale microscopio ottico. Ad esempio nel campione 22-26 si può notare una concentrazione anomala di carbonati, probabilmente effetto di una cristallizzazione post-deposizionale all'interno della frattura. L'analisi della composizione mineralogica permette inoltre di fare delle ipotesi sulle aree di possibile provenienza dei granuli e di fornire indicazioni utili per le caratteristiche meccaniche e strutturali.

Altro aspetto molto caratteristico dei sedimenti analizzati è la presenza costante di sostanza organica in tutta la lunghezza della carota, come si vede dai dati relativi ai tre campioni qui riportati.



## Bibliografia

### **Bibliografia**

- Geyer, R. ; Jambeck, J. R. ; Law, K. L. Production, use and fate of all plastics ever made, *Science Advances*, 2017  
<https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.1700782>
- Bank, M. S. ; Hansson, V.S. The Microplastic Cycle: An Introduction to a Complex Issue 2021  
[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-78627-4\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-78627-4_1)
- Barboza, L. G. A. ; Vethaak, A. D. ; Lavorante, B. R. B. O. ; Lundebye, A. K. ; Guilhermino, L. *Marine Pollution Bulletin* 2018 133 p.336  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X1830376X>
- Martinelli, T.; Guerranti, C.; Scopetani, C.; Ugolini, A.; Chelazzi, D.; Cincinelli, A.-Trends in Analytical Chemistry, 2018, 109, pagg. 173-179  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016599361830431X>
- Ragusa, A. ; Svelato, A. ; Santacroce, C. ; Catalano, P. ; Notarstefano, V. ; Carnevali, O. ; Papa, F. ; Rongioletti, M. C. A. ; Baiocco, F. ; Draghi, S. ; D'Amore, E. ; Rinaldo, D. ; Matta, M. ; Giorgini, E. *Environment International* 2021 146 p.1  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412020322297>
- Schwabl, P. ; Köppel, S. ; Königshofer, P. ; Bucsics, T. ; Trauner, M. ; Reiberger, T. ; Liebmann, B. *Annal Internal Medicine*, 2019 171(7) p.453  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31476765/>
- Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO, 25/03/2021
- <https://www.princetoninstruments.com/learn/raman/introduction-to-raman-spectroscopy>

## Bibliografia

- Cho, Y e Ahn S., 2020. Scientific Reports, DOI - 10.1038/s41598-020-68650-7  
<https://www.nature.com/articles/s41598-020-68650-7>
- Nava, V. ; Frezzotti, M. L. ; Leoni, B. Raman Spectroscopy for the Analysis of Microplastics in Aquatic Systems 2021, Vol. 75(11) pagg. 1341–1357  
<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/00037028211043119>