



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

**PROTOCOLLI ANALITICI PER LO STUDIO DEI CONTAMINANTI
EMERGENTI ASSOCIATI ALLE MICROPLASTICHE**

Relatore: Prof. Marco Roverso

Laureando: Mattia Rinaldi
Matricola: 1216874

Anno accademico 2021/2022

INDICE

Abbreviazioni	5
1. INTRODUZIONE	
1.1 Le microplastiche.....	7
1.2 Contaminanti associati alle microplastiche.....	8
2. SCOPO DELLA TESI	11
3. DESCRIZIONE E DISCUSSIONE DEI METODI	
3.1 Ambienti ed aree di campionamento.....	13
3.2 Campionamento delle microplastiche.....	14
3.4 Identificazione delle microplastiche.....	17
3.5 Composti analizzati.....	18
3.6 Estrazione degli inquinanti dalle microplastiche.....	20
3.7 Analisi strumentale.....	21
3.8 Metodologie di quantificazione e validazione.....	28
3.10 Zone di studio e risultati.....	29
4. CONCLUSIONI	33
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	34

Abbreviazioni

ASE	Estrazione accelerata con solvente	OPEs	Esteri organofosfati
ATR	Riflettanza totale attenuata	OPPs	Pesticidi organofosfati
BDEs	Bromo difenileteri	PAHs	Idrocarburi policiclici aromatici
BPA	Bisfenolo A	PBDEs	Polibromo difenileteri
DCM	Diclorometano	PCBs	Policlorobifenili
DDT	Dicloro difenil tricloroetano	PE	Polietilene
ECD	Detector a cattura elettronica	PET	Polietilentereftalato
EI	Ionizzazione elettronica	PFAS	Sostanze perfluoroalchiliche
FD	Detector a fluorescenza	POPs	Inquinanti organici persistenti
GC	Gas cromatografia	PP	Polipropilene
HBCDs	Esabromo ciclododeceni	PSE	Polistirene espanso
HCHs	Esaclorocicloesani	PU	Poliuretano
HEX	Esano	PVC	Polivinilcloruro
LC	Cromatografia liquida	SIM	<i>Single ion monitoring</i>
LOD	Limite di rilevabilità	SRM	<i>Single reaction monitoring</i>
LOQ	Limite di quantificazione	TIC	<i>Total ion counting</i>
MeOH	Metanolo	ToF	(Rilevatore a) Tempo di volo
MRM	<i>Multiple reaction monitoring</i>	UAE	Estrazione assistita a ultrasuoni
MS	Spettrometria di massa	UV	Ultravioletto
OCPs	Pesticidi organoclorurati		

1. INTRODUZIONE

1.1 Le microplastiche

Nell'ultimo decennio l'inquinamento da microplastiche è diventato un problema di interesse globale data l'ubiquità di questi inquinanti in vari compartimenti ambientali, sia acquatici che terrestri, e i conseguenti potenziali effetti negativi sugli ecosistemi, le catene alimentari e la salute umana [1]. Il termine microplastiche si riferisce a particelle di materiale polimerico con un diametro inferiore ai 5 mm, a loro volta classificate in primarie o secondarie a seconda della provenienza. Le microplastiche primarie sono generalmente microparticelle rilasciate direttamente nell'ambiente, come le fibre di indumenti sintetici o componenti polimeriche di prodotti per la cura personale e cosmetici; le microplastiche secondarie, invece, si originano dalla degradazione chimica, fisica e biologica di oggetti in plastica quali bottiglie, reti da pesca, imballaggi di plastica, etc. [1-3]

Le microplastiche sono inquinanti di origine antropica e quindi riconducibili alle più svariate attività umane, quali l'agricoltura che fa largo uso di plastiche pacciamanti, la pesca e l'acquacoltura, e sono generalmente presenti negli scarichi casalinghi e industriali, in particolare quelli derivanti dal lavaggio di indumenti sintetici [1,2]. Da qui, possono contaminare mari, oceani e altri corpi d'acqua, oppure essere trasportate dai venti e dalle piogge [4,5,6]. A seconda della loro densità e volume, le microplastiche possono rimanere in sospensione o depositarsi nei sedimenti [1,2,7]. Data la loro stabilità chimica, le microplastiche sono recalcitranti alla degradazione e rimangono nell'ambiente per lunghi tempi, dove a seguito di ingestione da parte della fauna, si possono verificare fenomeni di bioaccumulo e biomagnificazione, causando potenziali effetti tossici per la salute umana, animale e dell'ambiente in generale [2,3,5,6,8].



Fig. 1: microplastiche nell'ambiente.

1.2 Contaminanti associati alle microplastiche

Data la facilità con cui le microplastiche migrano tra i vari comparti ambientali, e a causa della loro stabilità chimica e delle caratteristiche superficiali di idrofobicità e di elevato rapporto superficie/volume, è stata ipotizzata la capacità di questi inquinanti di adsorbire molecole organiche, alcune delle quali potenzialmente inquinanti, e di fungere da vettore per il relativo trasporto [2,3,5,9]. Gli inquinanti presenti nelle plastiche si possono suddividere in due categorie (Fig. 2):

- additivi intenzionalmente aggiunti per migliorare le prestazioni dei prodotti polimerici plastici, come ad esempio plastificanti (e.g. BPA, ftalati, etc.), antiossidanti, ritardanti di fiamma o stabilizzanti UV;
- composti organici adsorbiti sulla superficie delle particelle derivanti dall'interazione della superficie della particella con l'ambiente circostante. Fanno parte di questa categoria diversi composti organici noti come gli idrocarburi policiclici aromatici (PAHs), i policlorobifenili (PCBs), pesticidi organoclorurati (OCPs) e una vasta gamma di contaminanti emergenti, molti dei quali con effetti di interferenti endocrini. [3,9,10]. Per contaminanti emergenti si intendono inquinanti organici presenti in tracce nell'ambiente generalmente non monitorati e non regolamentati, ma che hanno il potenziale di minacciare la salute degli ecosistemi e umana [39].

Queste molecole possono potenzialmente essere rilasciate o desorbite dalle microplastiche nel tempo e causare contaminazioni più o meno importati dell'ambiente, anche di aree lontane rispetto alla fonte di immissione, e possono interferire con gli organismi viventi che le hanno ingerite, e di conseguenza provocare danni severi alla salute della flora e della fauna, compreso l'uomo. [3,5,6,9,11-13]. Il processo di adsorbimento/desorbimento dei vari inquinanti è influenzato da numerosi fattori quali il tipo di polimero e la sua cristallinità [12], la dimensione

e superficie delle particelle [11], pH, salinità del mezzo circostante, fattori ambientali come radiazione solare e temperatura [5,6,12] e dalle caratteristiche chimico-fisiche del composto in analisi (come polarità e peso molecolare). Ad esempio, per alcuni interferenti endocrini quali BPA e progesterone si osserva un aumento del desorbimento sottoponendo le microplastiche ad irraggiamento solare, mentre per bisfenolo S, ottilfenolo e nonilfenolo si osserva una diminuzione del desorbimento [11]. L'effetto della radiazione solare sulle microplastiche può causare fotodegradazione, aumentando così la porosità e quindi la diffusività di alcuni composti, ma al contempo può provocare ossidazione delle catene polimeriche aumentandone la polarità e quindi la ritenzione di altri composti.

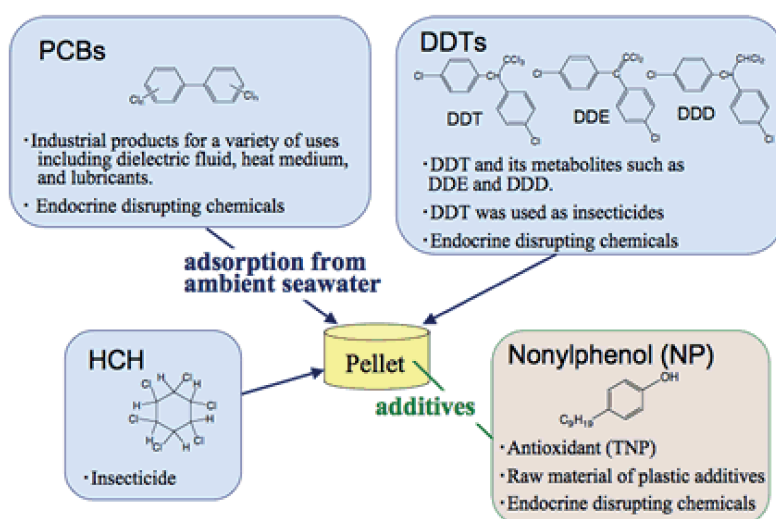


Fig. 2: contaminanti associati alle microplastiche. [36]

2. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questa tesi è indagare i protocolli più recenti citati in letteratura per l'analisi di alcune classi di inquinanti emergenti associati alle microplastiche, al fine di recensire le varie procedure analitiche proposte per la quantificazione e caratterizzazione degli inquinanti stessi, nonché le varie procedure per la preparazione del campione. Nello specifico si descriveranno le metodiche di raccolta dei campioni ambientali, i metodi estrattivi e di preconcentrazione degli analiti e le successive metodiche di analisi strumentale.

3. DESCRIZIONE E DISCUSSIONE DEI METODI

3.1 Ambienti ed aree di campionamento

La maggior parte della letteratura scientifica riguardante la quantificazione di inquinanti emergenti associati alle microplastiche è generalmente limitata agli ecosistemi marini, probabilmente perché sono i campioni finora maggiormente studiati e considerati. Tuttavia, nell'ultimo periodo con il crescente interesse per questo ambito di ricerca si è iniziato a porre l'attenzione anche agli ecosistemi di acqua dolce e terrestri [10,16]; infatti, il ruolo dei fiumi nel trasporto delle microplastiche fino agli ambienti marini è stato identificato da alcuni ricercatori come la principale via mediante la quale le microplastiche sono trasportate agli oceani [14], e quindi il monitoraggio dei vari corpi idrici è fondamentale per una descrizione completa del problema. I campioni finora analizzati sono stati prelevati da spiagge, superfici marine o fluviali, e in misura minore dalla colonna d'acqua, sedimenti e dal biota. A complemento della raccolta dei campioni, risulta essere di fondamentale importanza il reperimento di metadati relativi alle condizioni meteorologiche durante il prelievo, i metodi e tempi di campionatura, e informazioni accurate su conservazione ed eventuale pretrattamento [15].

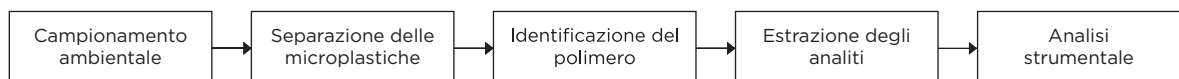


Fig. 3: processo di lavorazione del campione.

3.2 Campionamento delle microplastiche

Il primo passo per l'analisi degli inquinanti nelle microplastiche è la raccolta dei campioni ambientali. A seconda dell'analisi di interesse o dello scopo della stessa è possibile scegliere il metodo di campionamento più adatto. Ad esempio, se si volesse quantificare l'esposizione ad un determinato agente da parte degli organismi bentonici si opterà per un campionamento dei sedimenti piuttosto che delle acque superficiali.

L'ottenimento di campioni di acqua presenta protocolli simili per le acque marine e dolci, dove la principale differenza evidenziata è la densità dei due mezzi, che può influenzare la distribuzione caratteristica dei tipi di microplastica nella colonna d'acqua. I metodi di separazione delle microplastiche dalle acque si basano tutti su una separazione fisica con reti a maglie di dimensione variabile, in genere da 45 μm fino a 5000 μm associate a diversi tipi di attrezzatura, quali reti Neuston e Manta (maglie con dimensioni fino a 333 μm) (Fig. 4), reti per plancton (maglie con dimensioni fino a 100 μm), setacci e sistemi di filtraggio spesso addizionati a pompe. Ogni metodo pone vantaggi e svantaggi in base al costo, difficoltà di utilizzo e tempi necessari per il campionamento, come descritto brevemente in Tabella 1. La dimensione delle maglie è il fattore più influente sul numero di microplastiche recuperate, e una scelta accurata è fondamentale al fine di recuperare la frazione dimensionale di campione desiderata [17].

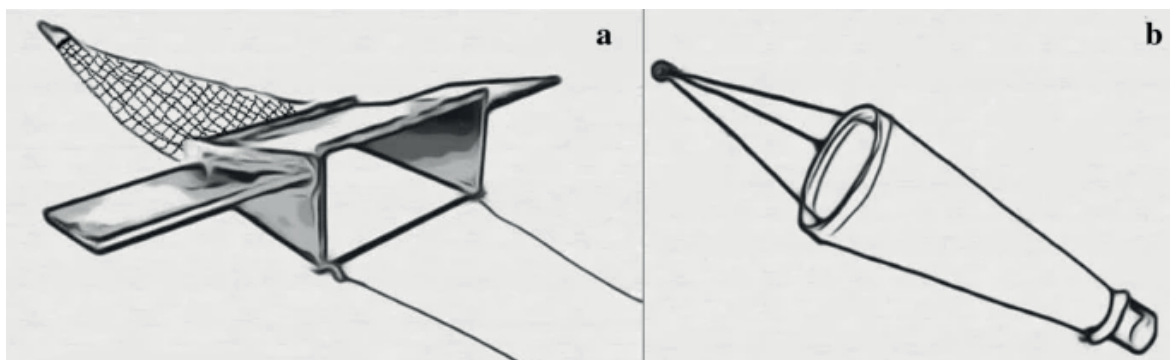


Fig. 4: rete Manta (a), rete Neuston (b). [16]

A livello analitico, la principale differenza si trova nella quantità delle microplastiche recuperate con una dipendenza diretta tra riduzione della dimensione delle maglie e microplastiche identificate per litro. Inoltre, nel prelievo di campioni dalle acque è consigliato usare un misuratore di flusso che misura il volume di acque trattate per esprimere il numero di microplastiche come numero di frammenti per litro o metro cubo [15].

Tabella 1: metodi di campionamento delle acque.

Metodo	Vantaggi	Svantaggi
Reti Neuston e Manta	<ul style="list-style-type: none"> • Grandi volumi di acqua campionati • Semplice attuazione • Assai usato e diffuso 	<ul style="list-style-type: none"> • Costoso • Metodo lento • Metodo per trascinamento (richiedi una barca) • Possibile contaminazione dalla rete • Limite di identificazione inferiore pari a 333 μm
Reti per plancton	<ul style="list-style-type: none"> • Discreti volumi di acqua campionati • Semplice attuazione • Metodo veloce • Limite di identificazione inferiore pari a 100 μm 	<ul style="list-style-type: none"> • Costoso • Metodo per trascinamento (richiede una barca o un flusso d'acqua) • Facile intasamento • Possibile contaminazione dalla rete
Setacciamento (in situ e non)	<ul style="list-style-type: none"> • Economico • Semplice attuazione 	<ul style="list-style-type: none"> • Lento e assai laborioso • Campiona piccoli volumi di acqua
Pompe con filtro	<ul style="list-style-type: none"> • Grandi volumi di acqua campionati • Semplice attuazione • Consente ampia scelta della dimensione della maglia 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessita di alimentazione elettrica • Possibile contaminazione dall'apparato • Campiona in modo puntuale e non è rappresentativo di un'ampia area

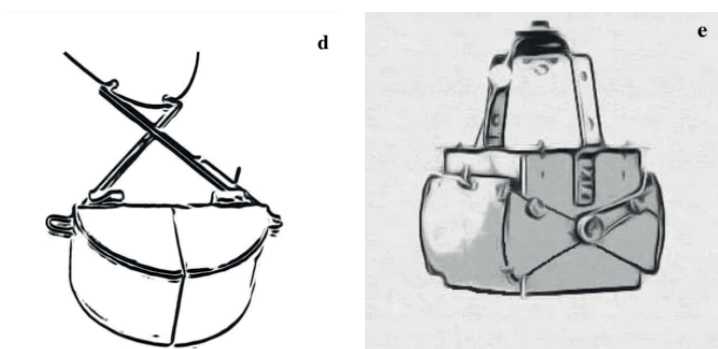
Il campionamento dei sedimenti presenta differenze da quello delle acque dato che non si campionano direttamente le microplastiche bensì si raccoglie una porzione di sedimenti e la separazione avviene generalmente in laboratorio.

I metodi di raccolta dei campioni di sedimento sono più semplici e il principale fattore da considerare è la profondità di campionamento. Per i sedimenti superficiali di spiagge e costa si usano semplici pale, mentre per sedimenti dal fondale marino o di laghi si usano particolari pinze, come la pinza Van Veen o la pinza Ekman (Fig. 5) [16]. La principale insidia nel campionamento dei sedimenti è il rischio di sovrastimare o sottostimare le microplastiche e la rappresentatività dei campioni, dato che le correnti possono provocare un maggiore accumulo di frammenti in alcuni punti piuttosto che altri, ed è quindi necessario

campionare più punti a breve distanza per minimizzare questo inconveniente. All'atto del campionamento va specificata anche la profondità di raccolta dei sedimenti, specialmente se si vuole studiare la dipendenza temporale delle microplastiche nel sedimento.

Si sottolinea, comunque, che sia per il campionamento dei sedimenti, sia per le acque, non sono ancora stati riportati dei metodi di riferimento ufficiali e normati per la raccolta e analisi dei campioni.

Fig. 5: pinza Van Veen (d), pinza Ekman (e). [16]



Il passo successivo per la caratterizzazione e l'analisi delle microplastiche passa per la loro separazione dagli altri componenti del campione quali acqua e sedimenti. Solitamente la separazione si compone di due passaggi: la riduzione del volume di campione tramite l'uso di filtri per eliminare i corpi troppo grandi e un passaggio di separazione delle microplastiche dalla matrice acquosa spesso tramite separazione per densità oppure tramite filtrazione con setacci dalle maglie strette [15].

Il primo passaggio di filtrazione spesso avviene già all'atto del campionamento a seconda della procedura scelta, tuttavia nel caso si raccolgano campioni sotto forma di volumi di acqua per poi essere trattati in laboratorio, i filtri usati hanno caratteristiche separative simili a quelle descritte sopra. In alcuni casi, i frammenti possono anche essere selezionati manualmente, ma in questo caso il campione può non essere significativo, in particolare non completo delle componenti più piccole.

Nel caso si opti per una separazione tramite filtrazione, i volumi di acque contenenti le microplastiche vengono filtrati e recuperati dal filtro tramite pinzette o simili. In alternativa è utilizzata la separazione per densità che consente il recupero di un'elevata quantità delle microplastiche totali (>99%). Il procedimento consiste nel miscelare lentamente soluzioni saline sature al campione trattenendo il surnatante per una successiva filtrazione comunemente su filtri in cellulosa [7]. Il sale più usato per la separazione per densità è NaCl data la sua economicità, disponibilità e atossicità, tuttavia la bassa densità delle sue soluzioni non consente la separazione di tutte le microplastiche; per polimeri più densi come PET e poliesteri si rivela necessario l'uso di soluzioni sature di NaI, ZnBr₂, ZnCl₂ e NaBr [15].

3.4 Identificazione delle microplastiche

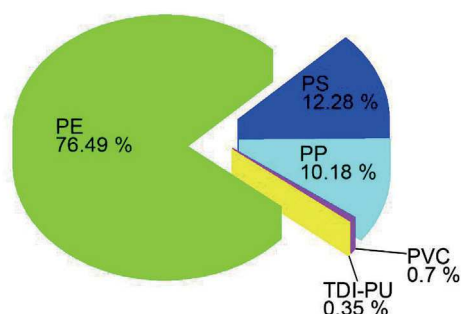


Fig. 6: distribuzione delle microplastiche per tipologia di polimero identificate nel lavoro di Campanale et. al. [14]

Le microplastiche di origine ambientale recuperate si presentano con forme, dimensioni e colori assai variabili, complici la natura del materiale, il processo produttivo e la loro storia. Le forme vanno da piccoli pellets o fibre fino a frammenti e fogli; le loro dimensioni sono altrettanto variabili fino a giungere dimensioni inferiori al millimetro. I tipi di polimero più comunemente rinvenuti e analizzati per la quantificazione di inquinanti emergenti sono polietilene (PE), polipropilene (PP) e polistirene espanso (PSE) che sono tra le plastiche di maggior consumo e produzione con la caratteristica di essere meno dense dell'acqua e quindi di essere galleggianti o rinvenibili nella colonna d'acqua (Fig. 6). In misura minore si ritrovano frammenti di polivinilcloruro (PVC), poliuretano (PU) e polietilene tereftalato (PET) che sono altri rappresentanti della plastiche più prodotte e consumate, ma che avendo densità maggiore a quella dell'acqua tendono ad affondare nei sedimenti[9].

Tabella 2: Densità dei principali polimeri plastici [38]

Tipo di polimero	Densità (g cm-3)
Polietilene	0,917-0,965
Polipropilene	0,9-0,91
Polistirene	1,04-1,1
Poliammide	1,02-1,05
Poliestere	1,24-2,3
Polietilentereftalato	1,37-1,45
Polivinilcloruro	1,16-1,58
Polimetacrilato	1,17-1,20
Poliuretano	1,2

La conta dei frammenti di microplastiche contenute nei campioni viene spesso effettuata visivamente da un operatore, con il rischio concreto di attribuire a frammenti inorganici o organici la natura di microplastiche. La caratterizzazione del tipo di polimero in esame si rivela necessaria sia per identificare i frammenti polimerici, sia nella determinazione dei contaminanti assorbiti, poiché polimeri diversi hanno proprietà chimico-fisiche diverse che potrebbero renderli selettivi nell'assorbimento di specifiche classi di composti.

La tecnica di caratterizzazione chimica consigliata è la spettroscopia infrarossa o Raman nel range da 4000 a 500 cm^{-1} . L'analisi deve essere effettuata su ogni frammento che si intende analizzare. Il riconoscimento viene eseguito confrontando lo spettro ottenuto con un database spettrale [7]. Il vantaggio delle spettroscopie vibrazionali è che sono analisi rapide, poco costose, non distruttive e si possono effettuare anche in modalità ATR che funziona bene specie su frammenti opachi e dalla superficie irregolare [15].

Un'altra tecnica di caratterizzazione usata è la pirolisi dei campioni e la successiva analisi gas cromatografica accoppiata alla spettrometria di massa (Pyr-GC/MS). In questo caso, il polimero viene pirolizzato ad alta temperatura e i prodotti formati sono successivamente separati su colonna cromatografica prima di essere identificati tramite spettrometria di massa (spesso si lavora con ionizzazione ad impatto elettronico con rivelatore quadrupolo o ToF); questa tecnica tuttavia ha lo svantaggio di essere un metodo distruttivo, non applicabile a frammenti troppo piccoli ed è un'analisi più lenta e costosa rispetto alle spettroscopie vibrazionali [10,15].

Altri metodi di identificazione scarsamente utilizzati sono la cromatografia ad esclusione dimensionale, che richiede grandi quantità di campione, o la colorazione con coloranti, che solitamente non fornisce un'identificazione ad alta affidabilità e comporta l'introduzione di ulteriori contaminanti organici nei frammenti da analizzare [15].

3.5 Composti analizzati

Le microplastiche possono contenere una grande varietà di composti chimici. Generalmente, i lavori reperibili in letteratura riportano l'analisi dei composti adsorbiti dalle microplastiche mediante metodiche analitiche *targeted*, limitando la ricerca a PCBs, diclorodifeniltricloroetani (DDTs), esaclorocicloesani (HCHs), pesticidi organoclorurati (OCPs) e PAHs e, in qualche caso, estendendo l'indagine agli additivi, come i ritardanti di fiamma bromurati, bromodifenil eteri (BDE) e bisfenolo A (Fig. 7) [9]. Questi composti sono solitamente oggetto di monitoraggio ambientale, visti i ben noti effetti cancerogeni e di tossicità acuta, nonché la relativa tendenza al bioaccumulo e biomagnificazione ampiamente riportata e discussa in letteratura. Inoltre, molti di questi composti sono stati inseriti nella lista degli inquinanti organici persistenti (POPs) stilata dal *United Nations Environmental Program* che ne ha portato al divieto di utilizzo nelle nazioni che hanno ratificato il "Trattato di Stoccolma" [37].

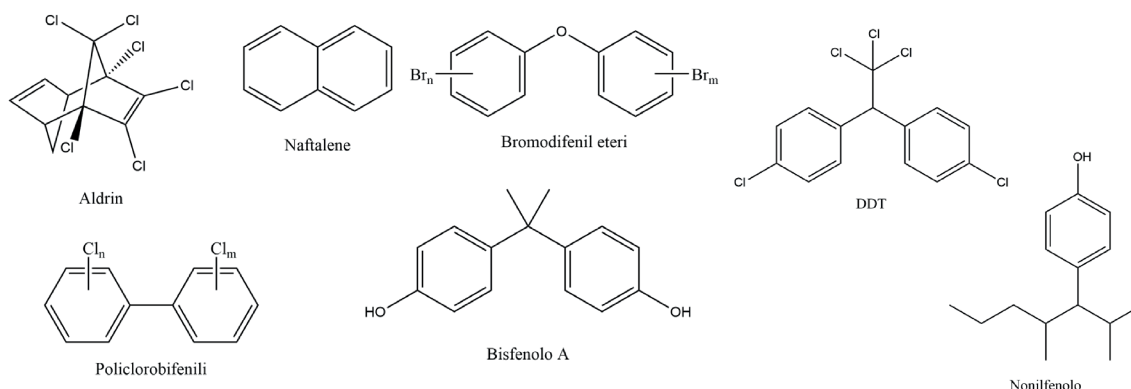


Fig. 7: principali inquinanti analizzati nella letteratura indagata

Altri autori, invece, utilizzando un approccio analitico *non-targeted*, hanno riportato l'identificazione di più di 200 composti [38,10].

Gli screening *non-targeted* a differenza di quelli *targeted* cercano di identificare la totalità dei composti organici nei campioni in analisi senza conoscere nulla a priori sulla natura degli analiti. Le analisi *non-targeted* hanno carattere semi-quantitativo, ma sono fondamentali per l'identificazione dei composti presenti, in base ai dati derivanti dagli spettri di massa, dalla composizione isotopica e dai cromatogrammi. Un'ulteriore differenza quindi si ritrova nella necessità dell'uso di analizzatori ad alta risoluzione nelle analisi *non-targeted* proprio perché l'attribuzione della struttura è effettuata anche sulla base della massa esatta dei frammenti.

Gli screening *non-targeted* generano una grande mole di dati che necessitano di appositi software con algoritmi per il trattamento degli stessi e per l'identificazione dei composti tramite il confronto con librerie di composti.

Prendendo in considerazione il lavoro di Campanale et al. [10] in cui è stata effettuata un'analisi *non-target* tramite GC-MS con rivelatore ToF che ha dato come risultato l'identificazione di 248 diversi composti ipoteticamente identificati divisi in varie classi quali: additivi plastici come stabilizzanti UV, ftalati e antiossidanti, numerosi idrocarburi quali alcani, alcheni, idrocarburi aromatici e idrocarburi sostituiti, ma anche composti di origine naturale come alcuni alcoli e metaboliti algali.

Nello studio preso in considerazione 15 dei 248 composti identificati sono stati identificati con un grado di confidenza superiore all'85%, mentre altri 37 con un grado di confidenza pari all'80% tramite analisi accurata delle misure di massa la maggior parte di essi ricadono nella categoria degli additivi e degli idrocarburi provenienti dalla manifattura delle plastiche.

3.6 Estrazione degli inquinanti dalle microplastiche

Per poter effettuare l'analisi strumentale, i composti di interesse analitico devono essere separati dal polimero ed eventualmente essere sottoposti a passaggi di preconcentrazione o purificazione. Le procedure analitiche usate per il trattamento delle microplastiche sono simili a quelle usate per altri matrici ambientali come i sedimenti, ma è presente una grande varietà di approcci, non tutti ugualmente efficaci, che rendono difficile stilare delle linee guida.

Alcune delle difficoltà che si incontrano nell'armonizzazione delle procedure estrattive risiedono intrinsecamente nella composizione dei campioni che presentano effetti matrice differenti derivanti dalle caratteristiche chimico/fisiche dei diversi polimeri di cui sono composti, quali grado di cristallinità, caratteristiche superficiali e dimensione, nonché dalla scelta del metodo estrattivo che influenza l'efficienza e il recupero [5] in modo dipendente dal tipo di analita. Le procedure di estrazione dei composti organici nelle microplastiche sono principalmente l'estrazione liquido-solido (lavaggi con agitazione, macerazione, Soxhlet), l'estrazione per ultrasuoni (UAE) e l'estrazione accelerata con solvente (ASE) che nonostante sia di uso ancora marginale è in crescita [5,9]; in Tabella 3 vengono brevemente riportate le caratteristiche di ogni metodo estrattivo.

La scelta del metodo estrattivo è basata sulle proprietà chimico-fisiche degli analiti di interesse (es solubilità nel solvente scelto, polarità) e della matrice polimerica (tasso di diffusione del solvente e di desorbimento) [9]. Quando si sceglie il solvente per le estrazioni vanno considerati il costo, il volume di solvente e il tempo richiesto, nonché l'efficienza del metodo, e se possibile considerare anche il suo impatto ambientale, cercando di giungere al miglior compromesso. I solventi il cui uso è più spesso riportato in letteratura sono esano (HEX) e diclorometano (DCM) o loro miscele in varie proporzioni. In misura minore sono usati anche acetone e solventi più polari come metanolo. La scelta del solvente è essenzialmente limitata dalla solubilità della maggior parte degli inquinanti organici in questi solventi e anche grazie alla loro facile reperibilità ed economicità [5,9].

Dato che la maggior parte dei metodi estrattivi usati si basa su estrazioni liquido-solido, in genere si ottengono grandi volumi di solvente e per procedere all'analisi strumentale è necessario preconcentrare il campione. Le tecniche di concentrazione più comuni sono la roto-evaporazione o la flussazione con azoto, in alternativa o anche combinazione a queste tecniche i campioni vengono a volte sottoposti a *solid-phase-extraction* per ritenere e concentrare solo gli analiti da monitorare, o più comunemente a procedure di *clean-up* che hanno lo scopo di rimuovere gli interferenti della matrice riducendo gli effetti matrice e la complessità dei cromatogrammi (proteggendo inoltre i sistemi analitici) consentendo contemporaneamente di aumentare la concentrazione dell'analita e aumentando la sensibilità; le fasi solide usate nei processi di *clean-up* sono spesso fasi polari a base di silice non funzionalizzata, allumina, Florisil (silicato di magnesio) o loro combinazioni che hanno anche il pregio di anidrificare gli estratti. In misura molto minore sono usate fasi apolari polimeriche o a base di silice funzionalizzata con

idrocarburi allo scopo di ritenere gli analiti in colonna che andranno desorbiti successivamente consentendo l'eliminazione dei composti più polari. [10,20,23-29,31-33].

Tabella 3: Tecniche di estrazione [5]

Metodo	Vantaggi	Svantaggi
Macerazione	<ul style="list-style-type: none"> • Molto semplice • Economica 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempi lunghi (>72h)
Lavaggi con agitazione	<ul style="list-style-type: none"> • Semplice • Più veloce della macerazione • Percentuali di recupero confrontabili con la macerazione 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempi lunghi (24h) • Richiede diversi cicli di estrazione • Grandi volumi di solvente
Soxhlet	<ul style="list-style-type: none"> • Buone percentuali di recupero 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempi lunghi (8-24h) • Può richiedere più cicli di estrazione • Grandi volumi di solvente
UAE	<ul style="list-style-type: none"> • Molto veloce • Piccoli volumi di solvente 	<ul style="list-style-type: none"> • Richiede diversi cicli di estrazione
ASE	<ul style="list-style-type: none"> • Molto veloce • Piccoli volumi di solvente 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessita di apparecchiatura costosa

3.7 Analisi strumentale

La tecnica più usata per la separazione e rilevamento dei contaminanti organici è la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS) [5,9].

La separazione viene solitamente effettuata tramite gas cromatografia perché la maggior parte degli inquinanti organici ha un peso molecolare modesto o comunque una discreta tendenza a volatilizzare.

Le tecniche cromatografiche (in particolare la gascromatografia) consentono di ridurre la complessità del campione separando efficacemente i vari analiti che possono essere poi rilevati con l'uso di vari tipi di rilevatori. Le colonne cromatografiche impiegate nella separazione di miscele di inquinanti organici sfruttano fasi stazionarie apolari legate come i silossani (specialmente dimetilsilossani o fenilsilossani in proporzioni variabili) che hanno il pregio di poter essere stabili fino ad elevate temperature (350 °C), basso *bleeding* ed elevata inerzia chimica [10,18].

Il metodo di rilevamento preferito è la spettrometria di massa vista l'elevata selettività e la possibilità di analizzare composti presenti in ultratracce. Le analisi *targeted* sono solitamente effettuate con analizzatori a bassa risoluzione come singolo quadrupolo, triplo quadrupolo o trappola ionica [9]. La spettrometria di massa ad alta risoluzione, invece, permette di effettuare studi non-targeted permettendo l'identificazione anche di composti non noti [10].

In Tabella 4 sono presentate le più frequenti metodologie analitiche reperite in letteratura scientifica; la GC-MS è senza dubbio la tecnica analitica più diffusa e praticamente sempre è accoppiata ad analizzatori di massa a bassa risoluzione visto che per analisi di routine di cui si dispongono degli standard non è necessaria l'alta risoluzione, in quanto si è certi di identificare gli analiti dal tempo di ritenzione del cromatogramma.

Le concentrazioni limite raggiunte dai metodi GC-MS si attestano mediamente nell'intervallo tra i 100 e gli 0,01 ng g⁻¹ ideali per il monitoraggio degli inquinanti presenti in tracce.

In alcuni lavori [23,28,29,31-33] è riportato l'uso del rivelatore ECD (*Electron Capture Detector*) accoppiato alla gas cromatografia, per la quantificazione dei composti alogenati come PCBs o OCPs; i limiti di rilevabilità dichiarati dagli autori ricadono nello stesso intervallo della tecnica GC-MS validando l'uso del detector ECD per il monitoraggio delle classi degli inquinanti alogenati. In Tabella 4 sono riportati casi di quantificazione che sfruttano la cromatografia liquida (LC), sono perlopiù accoppiati alla rivelazione tramite spettrometria di massa [30,35] con limiti di rilevabilità comparabili a quelli dei metodi GC-MS; in un caso è documentato l'uso del rivelatore a fluorescenza (FD), usato nell'analisi degli idrocarburi aromatici policiclici, l'uso della LC-FD da buoni risultati, ma il rivelatore ottico porta a limiti di rilevabilità lievemente più elevati rispetto all'uso della spettrometria di massa [5,34].

Tabella 4: Esempi di letteratura riguardanti la quantificazione di inquinanti emergenti

Analiti	Tipologia di campione	Quantità di campione	Metodo di estrazione	Solvente	Preconcentrazione/ Clean-up	Tecnica di separazione e determinazione	Recupero %	LOD/ LOQrp	Riferimento
PAHs PCBs OCPs	PE, PP	0,250 g	UAE (x3 per 30min a 40°C)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS/MS Colonna Agilent CP8944 (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) Analizzatore Trappola ionica (PolarisQ) Modalità TIC 	<ul style="list-style-type: none"> 55-105% (PCBs valutati con standard interno) 60-85 (PAHs e OCPs valutati con matrix-spiked blanks) 	<p>LOD:</p> <ul style="list-style-type: none"> 2,5-25 ng/g (PAHs) 0,2-10 ng/g (OCPs) 0,2 ng/g (PCBs) <p>(Identificati come il punto più basso della curva di calibrazione)</p>	[10]
PAHs PCBs OCPs	PE, PP, PS, PVC 1-5 mm	4,0 g	UAE (x3 per 15min)	HEX/DCM 9:1 v/v	<ul style="list-style-type: none"> Rotoevaporazione Allumina eluita con HEX/DCM 9:1 v/v 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS Colonna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) Analizzatore quadrupolo Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> 73±11% (valutati con standard interno) 	<p>LOQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,3-0,5 ng/g <p>(Identificato come il punto più basso della curva di calibrazione)</p>	[20]
PAHs	PE, PP, PS, PVC, PA 0,25-1 mm	0,007-0,166 g	UAE (x2 per 15min)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS Colonna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) Analizzatore quadrupolo (Agilent 5977A) Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> 91-101% (valutati con standard interno) 	<p>LOD:</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,25-3,07 ng/g 	[21]
PAHs PCBs OCPs OPPs Alcuni additivi	PE, PP, PS, PA, PU, PET	0,2-2,0 g	UAE (x3 per 15min)	MeOH	<ul style="list-style-type: none"> Rotoevaporazione 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS Colonna / Ionizzazione / Analizzatore / Modalità / 	<ul style="list-style-type: none"> 20-146 (valutati con matrix-spiked blanks) 	<p>LOQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> 0,4-146 ng/L 	[22]

Analiti	Tipologia di campione	Quantità di campione	Metodo di estrazione	Solvente	Preconcentrazione/ Clean-up	Tecnica di separazione e determinazione	Recupero %	LOD/ LOQrp	Riferimento
PAHs PCBs OCPs	0,25-5 mm	>0,1 g	Soxhlet (24h)	Acetone/ DCM 1:1 v/v	<ul style="list-style-type: none"> • Rotoevaporazione • Gel di silice eluenti esano e esano/DCM 3:2 v/v • Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS (PAHs e PCBs) • GC-ECD (OCPs) • Colonna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) • Ionizzazione EI • Analizzatore quadrupolo (Agilent 5975C) (PAHs e PCBs) • ECD (OCPs) • Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> • 63-130 (valutati con standard interno) 	<p>LOD:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,54-1,14 ng/g (PAHs) • 0,12-0,18 ng/g (PCBs) • 0,05-0,21 ng/g (OCPs) (Identificati come 3 volte la deviazione standard del bianco) 	[23]
OPEs PAEs	PE, PP, PS < 5 mm	0,01 - 0,5 g	Soxhlet (16h)	DCM	<ul style="list-style-type: none"> • Evaporazione • Gel di silice eluente esano e DCM/ acetone 1:1 v/v • Rotoevaporazione e flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS (PAEs) GC-MS/MS (OPEs) • Colonna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) • Ionizzazione EI (70 eV) • Analizzatore quadrupolo (Agilent 5975) (PAEs) • Triplo quadrupolo (agilent 7010) (OPEs) • Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> • 88-103% (valutati con standard interno) 	<p>LOD:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,00064-0,095 ng/g (PAEs) • 0,116-6,187 ng/g (OPEs) (Identificati come 3 volte la deviazione standard del bianco) 	[24]
PAHs PCBs OCPs	PE, PP	1,0 g	Soxhlet (24h)	DCM	<ul style="list-style-type: none"> • Flussazione con azoto • Gel di silice e allumina eluente esano e esano/DCM 7:3 v/v • Rotoevaporazione e flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS • Colonna BPX-5 (30 m x 0,25 mm, film 0,5 µm) • Ionizzazione EI (70 eV) • Analizzatore quadrupolo • Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> • 70-98% (valutati con standard interno) 	<p>LOD:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,02-0,15 ng/g (PCBs) • 0,05-0,80 ng/g (PAHs) • 0,03-2,03 ng/g (OCPs) (Identificati con il metodo di Vial e Jardy) 	[25]
PCBs OCPs PBDEs	PE, PP	1,0 g	UAE (x3 per 15min)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> • Flussazione con azoto • Gel di silice e solfato di sodio eluente DCM e DCM/esano 1:1 v/v • Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS • Colonna Rxi 5Sil MS (60 m x 0,25 mm, film 0,5 µm) • Ionizzazione EI (70 eV) • Analizzatore triplo quadrupolo (Agilent 7000B) 	<ul style="list-style-type: none"> • 69-98 % (valutati con standard interno) 	<p>LOQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,001-0,520 ng/g (Identificati come 10 volte il rapporto segnale rumore del punto più basso della curva di calibrazione) 	[26]

PAHs Opanoidi	PE, PP < 5 mm	5 pellet (massa non riportata)	Macerazione (x2 per 24h)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> Gel di silice 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS Colonna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) Analizzatore quadrupolo Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> 74-96 % (valutati con standard interno) 	<ul style="list-style-type: none"> LOQ: 4-50 ng/g (Identificati come 3 volte il valore del bianco) 	[27]
PAHs PCBs	/	0,5 g	Soxhlet	HEX/DCM 1:1 v/v	<ul style="list-style-type: none"> Gel di silice e allumina eluente DCM/esano 3:7 v/v -Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS (PAHs) GC-ECD (PCBs) Colonna Ultra-2 (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) Analizzatore quadrupolo Modalità SIM 	<ul style="list-style-type: none"> 40-103% (PAHs) 42-80 (PCBs) (valutati con standard interno) 	<ul style="list-style-type: none"> LOD: 0,18-3,40 ng/g (PCBs) 0,50-1,00 ng/g (PAHs) (valutati dalla deviazione standard per intervallo di confidenza del 99% con sette replicati) 	[28]
DDT PCBs HCHs	/	2-10 pellet (massa non riportata)	Macerazione (x2 per 72h)	HEX	/	<ul style="list-style-type: none"> GC-ECD (DDT e HCHs) GC-MS/MS (PCBs) Colonna J&W Scientific Durabond HP-5 (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione EI (70 eV) (?) Analizzatore trappola ionica (?) ECD Modalità SRM (?) 	<ul style="list-style-type: none"> >95% (valutati con standard interno) 	<ul style="list-style-type: none"> LOQ: 0,07-0,40 ng/g (Identificati come 3 volte il valore del bianco) 	[29]
PFAS	PE, PP 2-6 mm	1,0 g	UAE (1h)	MeOH	<ul style="list-style-type: none"> Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> LC-MS/MS Fase mobile H₂O/MeOH 80:20 v/v (0,5 mL min⁻¹) Colonna Hypersil GOLD PFP Ionizzazione ESI Analizzatore quadrupole linear ionic trap (Qq-LIT) (4000 QTRAP Applied Biosystems) Modalità SRM 	<ul style="list-style-type: none"> 50-126% (valutati con matrix-spiked blanks) 	<ul style="list-style-type: none"> LOD: 0,3-150 ng/kg LOQ: 1,1-500 ng/kg (Identificati come il segnale minimo pari ad almeno 3(LOD) o 10 (LOQ) volte il rapporto segnale rumore negli spiked blanks) 	[30]

Analiti	Tipologia di campione	Quantità di campione	Metodo di estrazione	Solvente	Preconcentrazione/ Clean-up	Tecnica di separazione e determinazione	Recupero %	LOD/ LOQrp	Riferimento
PAHs PCBs PBDEs	/	massa non riportata	Soxhlet	Pentano/ DCM 1:1 v/v	<ul style="list-style-type: none"> • Rotoevaporazione • Gel di silice e allumina 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS (PCBs e PBDEs) • Colonna HT8 (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) (PCBs) • Colonna CPsil8 (50 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) (PBDEs) • Ionizzazione EI (PCBs) CI (PBDEs) • Analizzatore quadrupolo (Shimadzu GCMS-QP2010) (PCBs) • Analizzatore quadrupolo (Agilent HP5973) (PBDEs) • Modalità / • HPLC-FD (PAHs) • Fase mobile acetonitrile/ H2O gradiente da 52% a 100% in 16 minuti • Colonna Pursuit 5 PAH REPL3 HPLC • Analizzatore a fluorescenza (Shimadzu RF-10A XL) ($\lambda=250/500$ nm) 	<ul style="list-style-type: none"> • 70-120% (valutati con standard interno) 	<p>LOQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,71-1.04 µg/kg (PAHs) • 0,10 - 0,44 µg/kg (PCBs e PBDEs) (Identificati come la somma del valore medio del bianco e 3 volte la deviazione standard del bianco) 	[34]
PAHs OCPs PCBs Opanoidi	PE, PP, altri non identificati	2-10 pellet (massa non riportata)	Macerazione (x2 per 72h)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> • Gel di silice 	<ul style="list-style-type: none"> • GC-MS (PAHs, PCBs e opani) GC-ECD (OCPs) • Colonna / • Ionizzazione / • Analizzatore trappola ionica • Modalità / 	<ul style="list-style-type: none"> • >74% (dati recupero per i soli PAHs) (valutati con standard interno) 	<p>LOQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,04-50 ng/g (Identificati come 3 volte il valore del bianco) 	[31]

OCPs PCBs	PE, PP altri non identificati	2-10 pellet (massa non riportata)	Macerazione (x2 per 72h)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> Gel di silice 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS (PCBs) GC-ECD (OCPs) Colonna / Ionizzazione / Analizzatore trappola ionica Modalità / 	<ul style="list-style-type: none"> >95% (valutati con standard interno) 	<ul style="list-style-type: none"> LOQ: 0,04-0,40 ng/g (Identificati come 3 volte il valore del bianco) 	[32]
OCPs PCBs	PE	2-10 pellet (massa non riportata)	Macerazione (x2 per 72h)	HEX	<ul style="list-style-type: none"> Rotoevaporazione Gel di silice eluente esano e esano/DCM 3:1 v/v 	<ul style="list-style-type: none"> GC-MS (PCBs) GC-ECD (OCPs) Colonna HP-5 (30 m x 0,25 mm, film 0,25 µm) Ionizzazione / Analizzatore trappola ionica (PolarisQ) Modalità / 	<ul style="list-style-type: none"> >80% (valutati con standard interno) 	<ul style="list-style-type: none"> LOQ: 0,1-0,9 ng/g (Identificati come 3 volte il valore del bianco) 	[33]
HBCD	EPS 2-3 mm	0,03 g	Lavaggi con agitazione (1min)	DCM	<ul style="list-style-type: none"> Flussazione con azoto 	<ul style="list-style-type: none"> HPLC-MS/MS Fase mobile H2O/ MeOH 90:100 H2O/ MeOH 15:85 MeOH 100 MeOH/acetonitrile 70:30 Colonna Zorbax Eclipse C18 (4,6 x 150 mm, particelle 3µm) Ionizzazione APCI (negativa) Analizzatore triplo quadrupolo (API 3200 Applied BioSystems) Modalità MRM 	<ul style="list-style-type: none"> 92-110% (valutati con matrix-spiked blanks) 	<ul style="list-style-type: none"> LOQ: 0,07 ng/g (Identificato come 10 volte il rapporto segnale rumore negli spiked blanks) 	[35]

3.8 Metodologie di quantificazione e validazione

Il metodo di calibrazione più comunemente utilizzato per l'analisi dei contaminanti emergenti è la calibrazione esterna con correzione per lo standard interno. In questo tipo di calibrazione la retta di taratura è costruita come nella normale calibrazione esterna, ma il segnale strumentale dell'analita è normalizzato per il segnale dello standard interno, addizionato alla stessa concentrazione in tutti i campioni.

Tipici standard interni usati nella tecnica GC-MS sono gli analiti stessi marcati con due o più isotopi stabili o molecole della stessa classe di appartenenza. Gli isotopi usati sono quelli poco o non presenti in natura, quali deuterio, ^{13}C o ^{15}N . Gli analiti marcati avranno in prima approssimazione comportamento cromatografico e resa di ionizzazione uguali (o simili) a quelli degli analiti in esame, e pertanto avranno eguali tempi di ritenzione e simile risposta strumentale, ma diversa massa.

La necessità di ricorrere all'uso di standard interni affonda le sue motivazioni nella complessità dei campioni analizzati. Infatti, visto l'elevato numero di analiti da considerare e la potenziale presenza di interferenti, si rende necessario considerare e valutare la presenza e l'entità di un eventuale effetto matrice e dei recuperi per ottenere dei dati quantitativi accurati. Inoltre, lo standard interno permette di valutare la riproducibilità e la robustezza del metodo analitico ed è importante per la correzione di un'eventuale irriproducibilità del volume di iniezione (specialmente nella gas cromatografia), e per compensare variazioni non prevedibili della resa di ionizzazione e dalla stabilità della risposta del detector.

Nei lavori presi in esame e presentati in Tabella 4 la calibrazione esterna con standard interno è la metodica di quantificazione più utilizzata, previa valutazione dei recuperi e dell'effetto matrice, sia mediante l'utilizzo degli standard interni, sia mediante la valutazione di *matrix-spiked-blanks* ovvero tramite l'estrazione di uno standard aggiunto in matrici vergini. In alcuni casi specialmente nell'analisi dei PAHs la semplice calibrazione esterna è usata come metodo di calibrazione [10,23,28].

Il dato quantitativo, infine, deve essere supportato dalla validazione del metodo analitico, ovvero dalla valutazione dell'intervallo di linearità delle misure, della precisione e accuratezza del metodo, del recupero e dei limiti di rilevabilità (LOD) e quantificazione (LOQ).

Per quanto riguarda i lavori esaminati, generalmente sono forniti in dettaglio i dati relativi a LOD, LOQ, recupero e più di rado informazioni relative alla precisione, accuratezza e all'intervallo di linearità delle misure. Le scarse informazioni relative all'accuratezza sono parzialmente attribuibili all'assenza o difficoltà di reperire materiali di riferimento certificati o alle difficoltà di produzione di campioni di microplastiche contaminati con quantità note di analita; informazioni su precisione e intervallo di linearità delle misure, invece, vengono semplicemente omessi in parte. L'assenza di materiali di riferimento certificati è un aspetto di particolare importanza nell'analisi degli inquinanti correlati alle microplastiche perché complica il processo di valutazione della qualità del dato analitico; dato l'interesse emergente per questo ambito di ricerca il numero di

materiali di riferimento sta crescendo, anche se attualmente sono disponibili principalmente riferimenti per PE e PVC con pochi analiti quali alcuni ftalati [9].

Per rimediare in parte all'assenza parziale o totale di materiali di riferimento, si ricorre spesso a comparazioni interlaboratoriali: campioni omogenei di prova sono distribuiti tra vari laboratori, quindi i dati raccolti dalle analisi vengono processati dagli organizzatori e i risultati comunicati ai partecipanti [9].

I dati raccolti in Tabella 4 mostrano che nella quasi totalità degli studi il recupero è stato valutato mediante l'uso di standard interni aggiunti alla matrice dei campioni prima del processo di estrazione, così da poter valutare non solo il recupero, ma anche l'effetto matrice in modo combinato [10,20,21,23-29,31-34]; in altri lavori il recupero è stato invece calcolato mediante *matrix spiked samples* e assunto equiparabile con il recupero che si verifica nei campioni ambientali [10,22,30]. La precisione invece è stata valutata dalla deviazione standard di iniezioni ripetute; in genere per ogni campione vengono effettuate tra le 3 e le 5 iniezioni. Nella valutazione di LOD e LOQ si osserva invece una modesta varietà di approcci. In alcuni casi il LOD è fatto coincidere con il punto più basso della curva di calibrazione [10,20], mentre in altri casi si effettua una valutazione del segnale del bianco, definendolo come 3 volte la deviazione standard del bianco o 3 volte il valore minimo del bianco [23,24,27,29,31-34] o anche come 3 volte il rapporto segnale rumore del bianco [26,30,35]. Analogamente sono stati calcolati i LOQ, definiti con gli stessi parametri dei LOD ma corretti per un fattore 10. Seppur calcolati in modo differente i valori di LOD e LOQ riportati sono generalmente simili tra loro. Tutti i lavori presi in considerazione ricorrono all'uso di bianchi procedurali per valutare le contaminazioni. In alcuni casi non è riportata contaminazione in quanto le concentrazioni degli analiti nel bianco risultano essere inferiori al LOD [21], in altri casi invece le contaminazioni si sono verificate. In quest'ultimo caso i risultati quantitativi relativi ai campioni reali sono stati corretti sottraendo opportunamente il contributo del bianco [10,22-24,26,34].

3.10 Zone di studio e risultati

Le zone di campionamento indagate nei lavori considerati sono distribuite in tutto il globo, con una spiccata predilezione per il campionamento dei sedimenti provenienti dalle spiagge e solo secondariamente per le plastiche galleggianti nello strato superficiale delle acque, principalmente marine (elencate brevemente in Tabella 5).

Tabella 5: Aree di campionamento nei lavori presi in considerazione

Zona di raccolta	Metodo di raccolta	Riferimento
Fiume (Sud Italia) (acque superficiali)	<ul style="list-style-type: none"> • Reti per plancton (maglia 0,33 mm) • Smistamento con setacci in acciaio e pinza (maglie 5 mm e 0,30 mm) 	[10]
Spiaggia (Uruguay) (sabbia primi 2 cm)	<ul style="list-style-type: none"> • Setacciamento in situ • Smistamento con separazione per densità (NaCl) 	[20]
Acque marine ed estuarine (Taiwan) (acque superficiali)	<ul style="list-style-type: none"> • Rete Manta (maglia 0,33 mm) • Smistamento con setaccio in acciaio (maglia 5 mm) 	[21]
Spiaggia (Spagna, costa mediterranea) (sabbia primo cm)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale 	[22]
Spiaggia (Hong Kong) (sabbia primi 2-3 cm)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale con pala • Smistamento con separazione per densità (NaCl) e filtraggio (maglia 0,25 mm) 	[23]
Spiaggia (Cina, baia di Bohai) (sabbia primi 2 cm)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale con pala • Smistamento con separazione per densità (NaCl) 	[24]
Acqua marina (Oceano Pacifico, Pacific Garbage Patch)	<ul style="list-style-type: none"> • Rete Manta (maglia 0,33 mm) • Smistamento manuale con pinza 	[25]
Spiaggia (Cile)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale 	[26]
26 nazioni	-	[27]
Spiaggia (Brasile, stato del Paraná)	-	[28]
Spiaggia (Nord del Vietnam)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale 	[29]
Spiaggia (Grecia)	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale dei sedimenti • Smistamento con pinza 	[30]
Spiaggia (Portogallo)	-	[31]
Spiagge di 15 nazioni	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale con pinza 	[32]
Spiagge di 30 nazioni	<ul style="list-style-type: none"> • Raccolta manuale con pinza 	[33]
Acqua marina (Oceano Pacifico, Pacific Garbage Patch)	<ul style="list-style-type: none"> • Rete Manta (maglia 0,50 mm) • Smistamento con setacci e separazione per densità 	[34]
Spiagge (Corea del sud e altre 12 nazioni affacciate sull'oceano Pacifico)	-	[35]

Il monitoraggio degli inquinanti nelle microplastiche provenienti da numerose nazioni del mondo consente di avere una panoramica del livello di inquinamento delle acque e della salute degli ecosistemi locali nonché di osservare tendenze e fluttuazioni temporali grazie agli screening periodici. Un esempio di studio che ha portato alla costruzione di una mappa dell'inquinamento globale registrato nelle microplastiche è il progetto *International Pellet Watch* [36] che da più di 10 anni ha come scopo il monitoraggio degli inquinanti associati ai pellets raccolti nelle spiagge di tutto il mondo.

Eventualmente è possibile risalire anche alle cause e agli eventi che possono aver causato un picco nella misura degli inquinanti come nel lavoro di Yeo et. al. [27], dove una concentrazione anomala di PAHs è stata ricondotta ad uno sversamento petrolifero avvenuto nella zona di studio (Fig. 8).

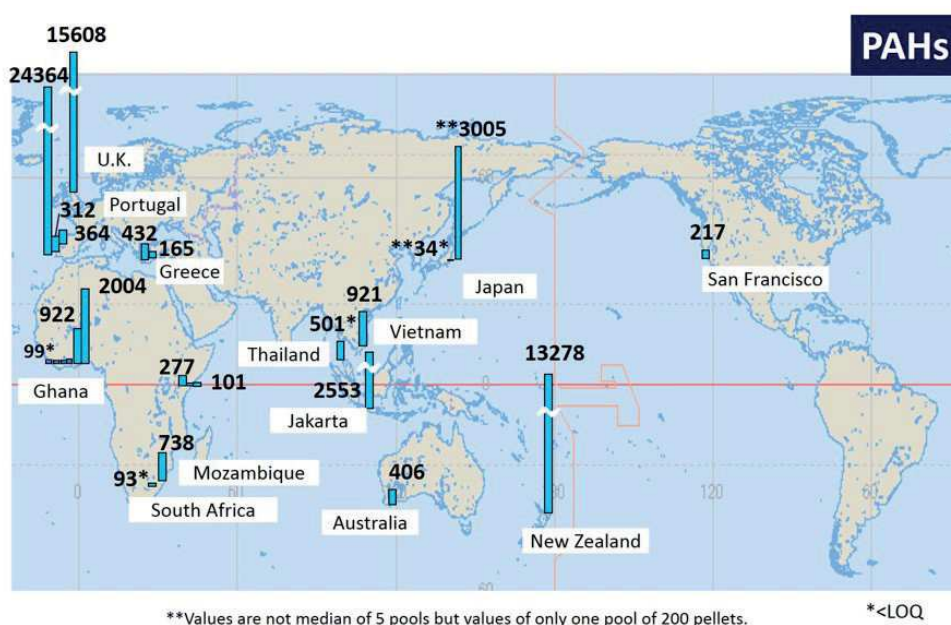


Figura 8: concentrazione dei PAHs in varie zone del mondo (ng/g-pellet) [36, 27]

Tra gli studi presi in considerazione vengono riportati tra i risultati le concentrazioni dei contaminanti rilevati che seppur assai variabili da zona a zona e nel tempo sembrano essere in accordo perlomeno in alcuni punti comuni. Gli autori sono infatti concordi nell'affermare che nei campioni provenienti da zone rurali e scarsamente antropizzate, quali le isole remote, i livelli di inquinanti sono nettamente inferiori a quelli misurati in zone fortemente antropizzate e urbanizzate [21,22,27,32]; forniscono valore a questa affermazione le concentrazioni degli PCBs (tra i contaminanti più presenti e studiati nella letteratura utilizzata) dove si osserva una netta differenza tra i 0,1-9,9 ng/g misurati nelle isole remote [32] rispetto

ai 13-1083 ng/g [23] misurati sulle coste di Hong-Kong situata all'estuario del Fiume delle Perle che attraversa una tra le zone più densamente abitate nel pianeta.

Un altro punto che accomuna gli autori è il timore dei rischi che le microplastiche rappresentano per gli ecosistemi (specialmente marini) in relazione alla loro elevata mobilità dovuta alla loro ridotta dimensione e densità che consente loro di galleggiare e percorrere lunghe distanze grazie alle correnti marine; unitamente alla loro elevata mobilità e all'ormai noto fenomeno di ingestione delle particelle plastiche da parte della fauna marina, le microplastiche hanno il potenziale di agire non solo come punto di adsorbimento ma anche come fonte di composti pericolosi per la salute animale e umana.

4. CONCLUSIONI

In questo lavoro si è cercato di raccogliere e organizzare le informazioni e i dati dei più recenti protocolli analitici per lo studio dei contaminanti emergenti associati alle microplastiche. Si sono indagate e discusse le metodiche di campionamento, trattamento e analisi dei campioni di microplastiche, entrando brevemente nel dettaglio di ciascun passaggio. A fronte della modesta quantità di studi presenti in letteratura sull'argomento data la sua innovatività, si sono ricercati i lavori più pertinenti e completi, cercando di fornire al lettore tutti i dati essenziali degli stessi, ponendo l'attenzione sulle particolarità dei vari metodi proposti ed utilizzati, così come sulle loro differenze.

Generalmente i lavori trovati eseguono analisi targeted di contaminanti prioritari noti, il cui effetto sulla salute dell'uomo e dell'ambiente è noto; le indagini non-targeted, invece, sono ancora limitate in numero. I metodi analitici descritti prevedono innanzitutto un'attenta procedura di campionamento e di separazione della frazione di microplastiche di interesse. I contaminanti associati sono quindi estratti e in molti casi concentrati per raggiungere i limiti di quantificazione richiesti (dell'ordine dei nanogrammi per grammo di campione). Le procedure di validazione e analisi sono quasi sempre riportate in modo dettagliato, valutando recuperi, effetto matrice, linearità, LOD e LOQ. Visti i limiti di quantificazione da raggiungere e la specificità richiesta dall'analisi, la tecnica strumentale principalmente usata è la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] Andrady, A.L. *Mar. Pollut. Bull.* **2017**, 119, 12-22.
- [2] Xi, M.; Yuchen, X.; Zhong, C.; Yunbo, Y.; Zetang, G.; Lu, J.; Kai, T. *Front. Biosci.* **2022**, 27(2), 1-7.
- [3] Liu, W.; Zhao, Y.; Shi, Z.; Li, Z.; Liang, X. *CBPD.* **2020**, 36, 100713.
- [4] Atwood E.C.; Falcieri F.M.; Piehl S.; Bochow M.; Matthles M.; Franke J.; Carniel S.; Sclavo M.; Laforsch C.; Slegert F. *Mar. Pollut. Bull.* **2019**, 138, 561-574.
- [5] Santana-Viera S.; Montesdeoca-Esponda S.; Guedes-Alonso R.; Sosa-Ferrera Z.; Santana-Rodríguez J.J. *TrAC* **2021**, 29, e00114.
- [6] Wu J.; Lu J.; Wu J. *Front. Environ. Sci. Eng.* **2022**, 16(8), 104
- [7] González-Ortegón E.; Sendra M.; Sparaventi E.; Sánchez Leal R.F.; de los Ríos I.; Baldó F.; González-Fernández D.; Pilar Yeste M. *Mar. Pollut. Bull.* **2022**, 174, 113292.
- [8] Cole M.; Lindeque P.; Halsband C.; Galloway T.S. *Mar. Pollut. Bull.* **2011**, 62, 2588-2597.
- [9] Hong S.H.; Shim W.J.; Hong L.; *Anal. Methods* **2017**, 9, 1361-1368.
- [10] Campanale C.; Dierkens G.; Massarelli C.; Bagnuolo G.; Uricchio V.F.; *Toxics* **2020**, 8, 100.
- [11] Chen Q.; Allgeier A.; Yin D.; Hollert H.; *Environ. Int.* **2019**, 130, 104938.
- [12] Liu X.; Shi H.; Xie B.; Dionysiou D.D.; Zhao Y.; *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53, 10188-10196.
- [13] Mato Y.; Isobe T.; Takada H.; Kanehiro H.; Ohtake C.; Kaminuma T.; *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 318-324.
- [14] Campanale C.; Stock F.; Massarelli C.; Kochleus C.; Bagnuolo G.; Reifferscheid G.; Uricchio V.F.; *Environ. Pollut.* **2020**, 258, 113284.
- [15] Prata J.C.; da Costa J.P.; Duarte A.C.; Rocha-Santos T.; *TrAC* **2019**, 110, 150-159.
- [16] Razeghi N.; Hamidian A.H.; Wu C.; Zhang Y.; Yang M.; *Environ. Chem. Lett.* **2021**, 19, 4225-4252
- [17] Masura J.; Baker J.; Foster G.; Arthur C.; Herring C.; NOAA *Technical Memorandum NOS-OR&R-48.*
- [18] Rios L.M.; Moore C.; Jones P.R.; *Mar. Pollut. Bull.* **2007**, 54, 1230-1237.
- [19] Skoog D.A.; Holler F.J.; Crouch S.R.; *Chimica Analitica Strumentale – II ed.*; Edises, Città di Castello, **2009**; pp 580-584.
- [20] Rodríguez C.; Fossatti M.; Carrizo D.; Sánchez-García L.; Teixeira de Mello F.; Weinstein F.; Lozoya J.P.; *Sci. Total environ.* **2020**, 721, 137734.
- [21] Chen C.; Ju Y.; Cheng L.Y.; Hsu N.; Lu K.; Hsieh S.; Dong C.; Chen C.; *Chemosphere* **2020**, 254, 126818.
- [22] León V.M.; García-Agüera I.; Moltó V.; Fernández-González V.; Llorca-Pérez L.; Andrade J.M.; Muniategui-Lorenzo S.; Campillo J.A.; *Sci. Total environ.* **2019**, 670, 672-684.
- [23] Lo H.; Wong C.; Tam N.F.; Cheung S.; *Chemosphere* **2019**, 219, 418-426.
- [24] Zhang H.; Zhou Q.; Xie Z.; Zhou Y.; Tu C.; Fu C.; Mi W.; Ebinghaus R.; Christie P.; Luo Y.; *Sci. Total environ.* **2018**, 616-617, 1505-1512.
- [25] Rios L.M.; Jones P.R.; Moore C.; Narayan U.V.; *J. Environ. Monit.* **2010**, 12, 2226-2236.
- [26] Pozo K.; Urbina W.; Gómez V.; Torres M.; Nuñez D.; Příbylová P.; Audya O.; Clarkee B.; Ariasf A.; Tombesig N.; Guidah Y.; Klánová J.; *Mar. Pollut. Bull.* **2020**, 151, 110786.
- [27] Yeo B.G.; Takada H.; Hosoda J.; Kondo A.; Yamashita R.; Saha M.; Maes T.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2017**, 73, 196-206.

- [28] Gorman D.; Moreira F.T.; Turra A.; Fontenelle F.R.; Combi T.; Bicego M.C.; de Castro Martins C.; *Chemosphere* **2019**, 223, 608-615.
- [29] Le D.Q.; Takada H.; Yamashita R.; Mizukawa K.; Hosoda J.; Tuyet D.A.; *Mar. Pollut. Bull.* **2016**, 100, 320-324.
- [30] Llorca M.; Farré M.; Karapanagioti H.K.; Barceló D.; *Mar. Pollut. Bull.* **2014**, 87, 286-291.
- [31] Mizukawa K.; Takada H.; Ito M.; Geok Y.B.; Hosoda J.; Yamashita R.; Saha M.; Suzuki S.; Miguez C.; Frias J.; Antunes J.C.; Sobral P.; Santos I.; Micaelo C.; Ferreira A.M.; *Mar. Pollut. Bull.* **2013**, 70, 296-302.
- [32] Heskett M.; Takada H.; Yamashita R.; Yuyama M.; Ito M.; Geok Y.B.; Ogata Y.; Kwan C.; Heckhausen A.; Taylor H.; Powell T.; Morishige C.; Young D.; Patterson H.; Robertson B.; Bailey E.; Mermoz J.; *Mar. Pollut. Bull.* **2012**, 64, 446-448.
- [33] Ogata Y.; Takada H.; Mizukawa K.; Hirai H.; Iwasa S.; Endo S.; Mato Y.; Saha M.; Okuda K.; Nakashima A.; Murakami M.; Zurcher N.; Booyatumanondo R.; Zakaria M.P.; Dung L.Q.; Gordon M.; Miguez C.; Suzuki S.; Moore C.; Karapanagioti H.K.; Weerts S.; McClurg T.; Burrese E.; Smith W.; Van Velkenburg M.; Lang J.S.; Lang R.C.; Laursen D.; Danner B.; Stewardson N.; Thompson R.C.; ; *Mar. Pollut. Bull.* **2009**, 58, 1437-1446.
- [34] Chen Q.; Reisser J.; Cunsolo S.; Kwadijk C.; Kotterman M.; Proietti M.; Slat B.; Ferrari F.F.; Schwarz A.; Levivier A.; Yin D.; Hollert H.; Koelmans A.A.; *Environ. Sci. Technol.* **2018**, 52, 446-456.
- [35] Jang M.; Shim W.J.; Han G.M.; Rani M.; Song Y.K.; Hong S.H.; *Environ. Pollut.* 2017, 231, 785-794.
- [36] <http://pelletwatch.org/> ; accesso in rete 25/08/2022.
- [37] Baird C.; Cann M.; *Environmental Chemistry Fifth Edition*; W. H. Freeman and Company, U.S.A. 2012; pp 577-659.
- [38] Rani M.; Shim W.J.; Han G.M.; Jang M.; Al-Odaini N.A.; Song Y.K.; Hong S.H.; *Arc. Environ. Contam. Toxicol.* **2015**, 69, 352-366.
- [39] Barber, L.B. "Emerging contaminants" in *Comprehensive Water Quality and Purification*, Ahuja, S.; Larsen, M.C.; Eimers, J.L. (Eds); Elsevier: U.S.A., **2014**; pp 245-246.

