



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

—
Dipartimento
di Scienze
della Vita
e dell'Ambiente
DISVA

“DIFENDIAMO IL MARE”

Campagna 2020 promossa da Greenpeace Italia

— “MICROPLASTICHE E MICROFIBRE IN PESCI E INVERTEBRATI CAMPIONATI NEL TIRRENO CENTRO- SETTENTRIONALE”

Report Finale_giugno 2021

Prof.ssa Gorbi Stefania

Dr. Lucia Pittura

Dr. Alessandro Nardi

Dr. Lucia Ventura

Prof. Francesco Regoli

**Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente
Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy**

Premessa

Nell'estate 2020 l'Università Politecnica delle Marche (UNIVPM) insieme al Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per lo studio degli Impatti Antropici e Sostenibilità in Ambiente Marino di Genova (CNR-IAS) ha partecipato alla campagna *Difendiamo il Mare* promossa da Greenpeace, una campagna di documentazione e ricerca per lo studio e il monitoraggio della plastica e delle microplastiche in acqua e organismi marini. L'attività si è svolta dal 16 luglio al 6 agosto 2020 nel Tirreno Centro-Settentrionale e precisamente intorno alle isole dell'Arcipelago Toscano, lungo le coste della Toscana e della Liguria (Figura 1).

In questo report vengono presentati i risultati relativi alla determinazione delle microplastiche (MP) e delle microfibre (MF) in pesci ed invertebrati (mitili *Mytilus galloprovincialis*) campionati con l'ausilio di pescatori locali o dagli allevamenti ittici del Golfo di Follonica.

I risultati sono utili perché forniscono nuove informazioni sui livelli, frequenze di ingestione e sulla caratterizzazione chimica delle microparticelle di plastica e microfibre in diverse specie ittiche, incluse quelle allevate; poiché il tour *Difendiamo il Mare* ha toccato località già monitorate negli anni precedenti, i risultati possono essere messi a confronto con quelli delle campagne precedenti (Tour Greenpeace 2017 *Less Plastic More Mediterranean*; Avio et al., 2017; tour *May day SOS Plastica* del 2019), consentendo di evidenziare eventuali variazioni sui livelli di ingestione delle MP e MF, su scala temporale e spaziale, e di delineare l'evoluzione della situazione dopo il lungo periodo di lockdown dei primi mesi del 2020.

Campionamento di pesci e invertebrati marini

Le aree di campionamento di pesci ed invertebrati sono indicate in Figura 1. Gli organismi sono stati prelevati dalle aree di Cerboli (42° 49.23' N 10°36.169'E), Elba Est (42° 52.084'N 10° 27.128'E), Elba Ovest (42°50'21.00"N10°18'2.68"E), Foce Arno (43°36'50.80"N 10°11'28.32"E) e Camogli (44°19'10.63"N 9° 5'8.76"E). Campioni di spigole (*Dicentrarchus labrax*) e mitili (*Mytilus galloprovincialis*) sono stati ottenuti rispettivamente da due allevamenti nel Golfo di Follonica. I mitili sono stati prelevati in tre siti, identificati uno nella parte esterna dell'impianto allevamento e vicino alla costa, uno al centro dell'impianto ed un altro esterno all'impianto ma più lontano dalla costa: il confronto ha permesso di testare un possibile effetto sito-dipendente nella frequenza di filtrazione-ingestione di microplastiche e microfibre in questi organismi allevati.



Figura 1. Aree di campionamento degli organismi, campagna *Difendiamo il Mare*, condotta nel 2020 nel Tirreno Centro-Settentrionale

In totale sono stati analizzati 142 organismi di cui 116 pesci appartenenti a 13 specie diverse, oltre agli esemplari di mitili, *Mytilus galloprovincialis*. Le specie sono state scelte per il loro valore commerciale ed ecologico, mentre il numero di individui analizzati è stato definito in funzione delle disponibilità. In Tabella 1 sono riportate, per ogni area di campionamento, le specie target e il relativo numero di organismi analizzati, il dominio di appartenenza e i parametri morfometrici registrati *in situ*, prima della dissezione dei tratti gastrointestinali dei pesci e dell'intero tessuto molle dei mitili.

I tessuti sono stati immediatamente dissezionati e conservati -20°C, e trasportati nei laboratori del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche, per le successive analisi di estrazione e di caratterizzazione di MP e MF.

Tabella 1. Specie di pesci e invertebrati raccolte, per ogni sito di campionamento, durante la campagna *Difendiamo il Mare 2020*; indicazione dei domini di appartenenza (www.fishbase.org), parametri morfometrici espressi come media \pm deviazione standard e numero di organismi analizzati per ogni specie.

Sito di campionamento		Specie		Dominio	Lunghezza organismo (cm)	N° organismi analizzati
		nome scientifico	nome comune			
Cerboli		<i>Pagellus erythrinus</i>	Pagello	Bento-pelagico	17,7 \pm 2,6	7
		<i>Scomber scombrus</i>	Sgombro	Pelagico	29,0 \pm 1,0	7
		<i>Trachurus trachurus</i>	Sugarello	Pelagico	21,9 \pm 2,0	16
		<i>Boops boops</i>	Boga	Demersale	20,0 \pm 0,7	4
Elba Est		<i>Oblada melanura</i>	Occhiata	Bento-pelagico	16,17 \pm 1,60	6
		<i>Serranus scriba</i>	Sciarrano/Serrano	Demersale	18,60 \pm 2,02	10
		<i>Trachurus trachurus</i>	Sugarello	Pelagico	27,00 \pm 3,16	4
		<i>Boops boops</i>	Boga	Demersale	18,33 \pm 1,53	3
Elba Ovest		<i>Diplodus sp.</i>	Sarago	Demersale	19,36 \pm 0,90	5
		<i>Scorpaena sp.</i>	Scorfano	Demersale	18,49 \pm 2,78	11
Golfo di Follonica	Allevamento pesci	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Spigola	Demersale	37,8 \pm 1,1	5
	Allevamento mitili_vicino costa	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mitilo	Bentonico	6,02 \pm 0,58	8
	Allevamento mitili_centro	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mitilo	Bentonico	6,13 \pm 0,71	8
	Allevamento mitili_esterno	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Mitilo	Bentonico	7,29 \pm 1,39	10
Foce Arno		<i>Umbrina cirrosa</i>	Ombrina	Demersale	22,0 \pm 1,9	5
		<i>Mullus barbatus</i>	Triglia	Demersale	17,0 \pm 2,2	4
		<i>Mugil cephalus</i>	Cefalo	Bento-pelagico	26,5 \pm 2,4	4
		<i>Diplodus sp.</i>	Sarago	Demersale	14,0 \pm 1,2	5
Camogli		<i>Scomber scombrus</i>	Sgombro	Pelagico	19,3 \pm 0,5	5
		<i>Mullus barbatus</i>	Triglia	Demersale	11,0 \pm 0,9	5
		<i>Engraulis encrasicolus</i>	Acciuga europea	Pelagico	11,2 \pm 0,2	5
		<i>Trachurus trachurus</i>	Sugarello	Pelagico	14,2 \pm 1,4	5
Totale organismi analizzati						142

Estrazione e caratterizzazione delle microplastiche (MP) e delle microfibre (MF)

I campioni sono stati processati seguendo il metodo pubblicato da Avio et al. (2015), validato su vari tipi di campioni biologici e condiviso durante due workshop e training-course internazionali tenuti nell'ambito della collaborazione tra i progetti europei JPI Oceans, EPHEMARE e BASEMAN (https://www.researchgate.net/publication/332157735_Harmonized_protocol_for_monitoring_microplastics_in_biota).

Gli step previsti dal protocollo di estrazione sono rappresentati in Figura 2 e consistono in: una essiccazione dei tessuti a 50°C seguita da una triturazione attraverso un mortaio (A), una risospensione del campione in una soluzione satura di NaCl (1,2 g/cm³) per la separazione delle MP e MF secondo gradiente di densità, successiva decantazione e recupero del sovrantante (B), una filtrazione del campione recuperato attraverso un sistema di pompe sottovuoto utilizzando un filtro in nitrato di cellulosa con porosità 8 µm (C), un recupero del filtro e digestione della materia organica residua in una soluzione di H₂O₂ al 15% a 50°C (D).

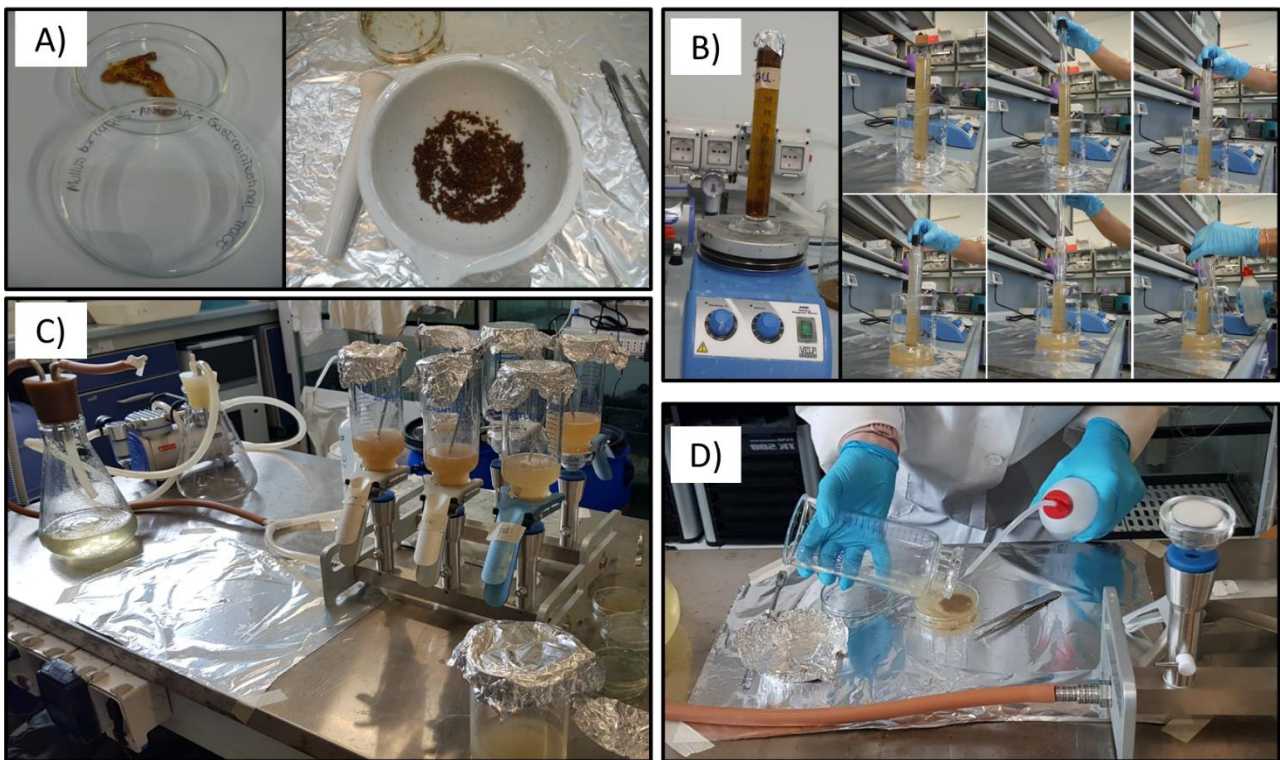


Figura 2. Principali fasi del protocollo utilizzato per l'estrazione delle MP e MF dai tessuti.

Al termine della digestione, i filtri sono stati osservati allo stereomicroscopio (GZ808/810 Optech) dotato di una videocamera Optech IS 4K-8 collegata al software ImageView: le MF e le MP sono state recuperate con pinzetta e ago montato, trasferite su un supporto costituito da un vetrino dotato di un filtro pulito, fotografate e misurate (Figura 3).

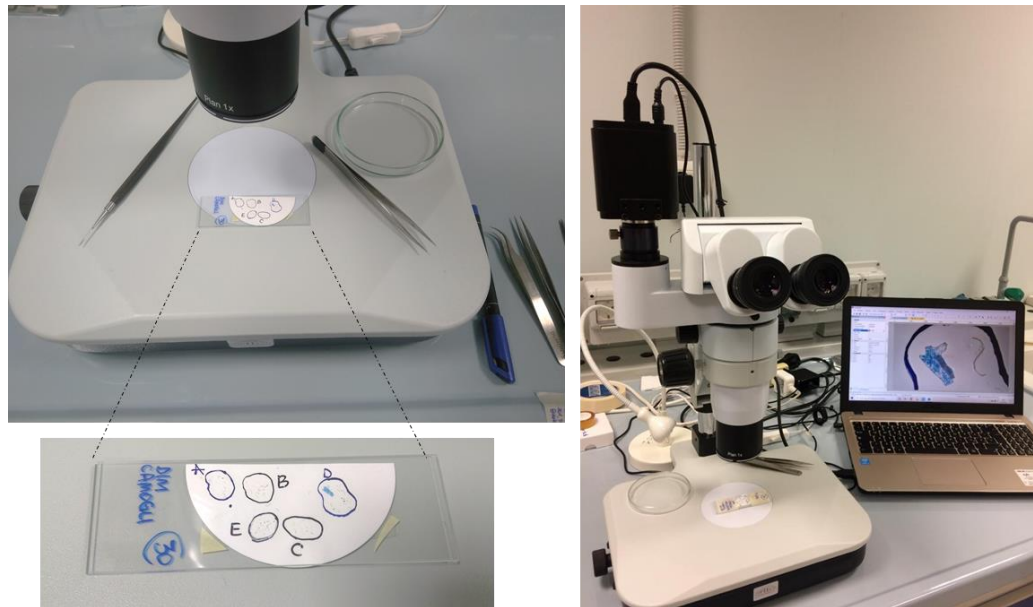


Figura 3. Supporto su cui sono state trasferite le MP e MF durante la fase di sorting allo stereomicroscopio, utilizzo del software per la misurazione delle dimensioni.

Le MF vengono definite tali quando presentano un diametro inferiore ai $50\ \mu\text{m}$, una lunghezza da $1\ \mu\text{m}$ a $5\ \text{mm}$ e un rapporto lunghezza-diametro maggiore di 100, hanno una struttura filiforme, priva di un diametro regolare e con estremità sfilacciate che possono assumere forme trilobate a nastro e a L (Magni et al., 2019; Liu et al., 2019) (Figura 4). Le MP sono state invece definite in funzione di 4 differenti tipologie di forma: le *linee* hanno spessore e lunghezza variabili ma un diametro regolare per tutta la loro lunghezza, con estremità nette e non sfilacciate, a differenza delle fibre; i *frammenti* sono rigidi, spessi, con bordi netti e forma irregolare (Lusher et al., 2017); i *film* sono più sottili e flessibili, di forma irregolare; i *pellet* sono particelle in cui ogni punto della superficie ha la stessa distanza dal centro (Hartmann et al., 2019) (Figura 4). Le particelle estratte sono state inoltre incluse in 4 classi dimensionali ($5-1\ \text{mm}$; $1-0,5\ \text{mm}$; $0,5-0,1\ \text{mm}$; $0,1-0,01\ \text{mm}$).

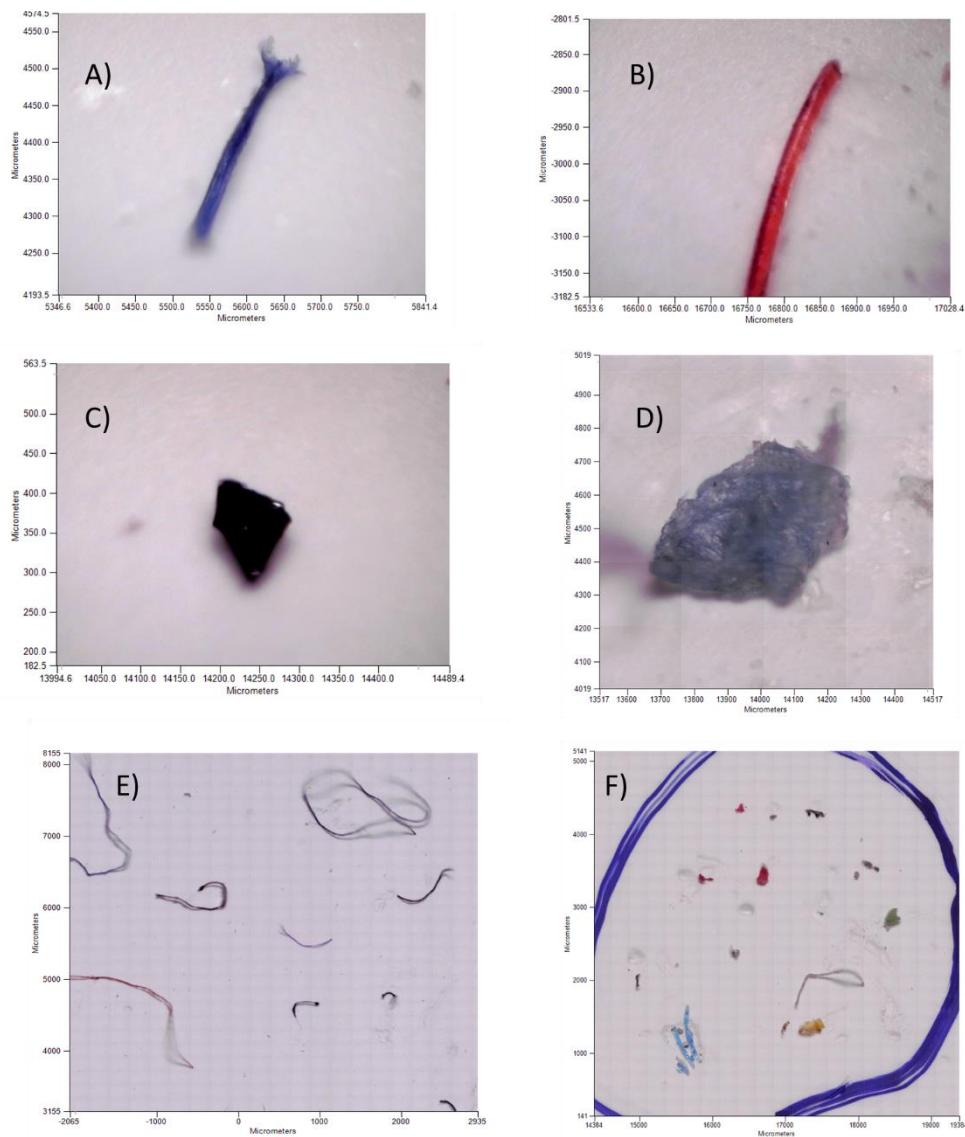


Figura 4. Immagini delle MF e MP estratte dai campioni e acquisite al microscopio FTIR: singola fibra (A), singola particella a forma di linea (B), frammento (C), film (D), esempi di mappe ottiche delle aree del supporto su cui sono state trasferite le MF e MP (E e F).

Per accertarne l'origine sintetica e identificare il tipo di polimero, le MF e le MP sono state caratterizzate chimicamente utilizzando un sistema di microscopia FT-IR (Perkin Elmer Spotlight 200i) accoppiato al banco ottico Spectrum Two, in grado di caratterizzare in modalità micro-ATR particelle di dimensioni fino ai 10 x 10 μm (Figura 5). Per ogni microparticella, a seguito della scansione del background, sono state effettuate 16 scansioni registrate con risoluzione di 4 cm^{-1} . Per identificare il polimero, gli spettri infrarossi ottenuti sono stati confrontati, grazie al software Spectrum TM 10, con librerie di spettri standard della Perkin Elmer, con i database ottenuti all'interno del progetto BASEMAN di JPI-Oceans (Primpke et al., 2018) e con altri database di laboratorio. Per l'elaborazione finale sono stati considerati solo gli spettri con corrispondenza superiore al 70% con lo spettro di riferimento (Avio et al., 2015). Inoltre, basandosi sulle raccomandazioni di Hartmann et al. (2019), sono stati inclusi nella categoria delle plastiche sia i polimeri sintetici (quelli a base di petrolio, a base biologica e i polimeri ibridi), che i copolimeri e i compositi.

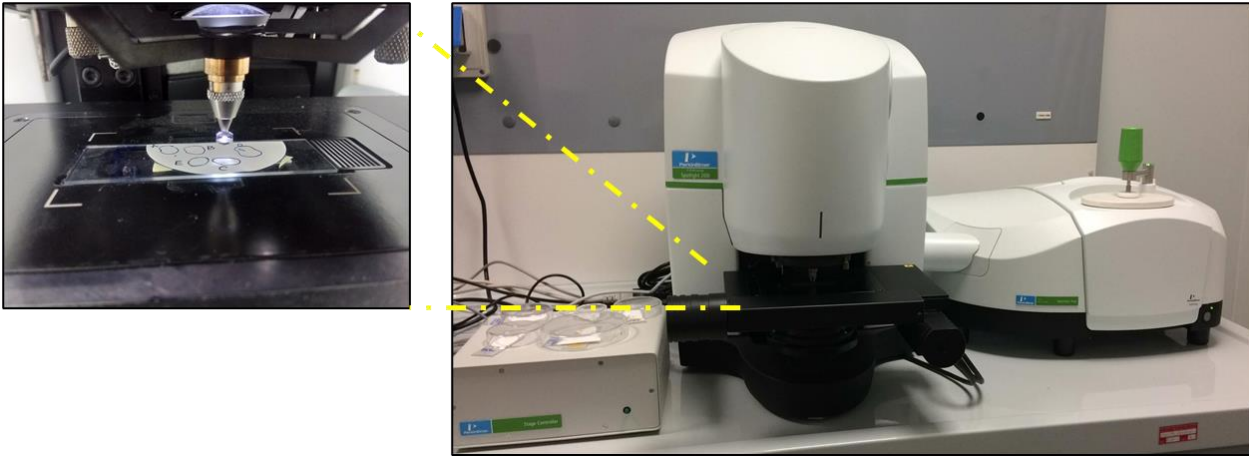


Figura 5. Microscopio FT-IR (Perkin Elmer Spotlight 200i) accoppiato al banco ottico Spectrum Two e particolare dell'accessorio μ ATR per la caratterizzazione delle MF e MP.

Controllo della contaminazione esterna

Le procedure di estrazione e caratterizzazione per l'analisi delle MF e MP sono state eseguite in un laboratorio dedicato, dove la presenza del personale è stata limitata a un massimo di due persone contemporaneamente. Gli operatori hanno indossato guanti in nitrile, abiti e camici da laboratorio di cotone. I banchi da lavoro sono stati puliti con etanolo puro prima di iniziare le attività e tra ogni fase di lavorazione. Sono state utilizzate attrezzature in vetro o metallo, sciacquate prima dell'uso con acqua ultrapura, pulite ulteriormente con aria compressa e coperte con fogli di alluminio; anche gli accessori dell'apparato di filtrazione sono stati sottoposti allo stesso trattamento (Avio et al., 2020). La soluzione di H_2O_2 è stata diluita in acqua ultrapura, mentre la soluzione di NaCl è stata preparata in acqua distillata. Entrambe le soluzioni sono state ulteriormente filtrate su membrane sterili di acetato di cellulosa con dimensioni dei pori di $0,45 \mu m$.

Per controllare il grado di contaminazione esterna da MF presenti nell'aria, durante le fasi di estrazione e sorting in laboratorio sono stati analizzati dei campioni di bianco processati secondo le stesse procedure previste per i campioni biologici e preparati contemporaneamente a questi: in totale sono stati eseguiti 25 campioni di bianco, 1 per ogni batteria di 5/6 campioni biologici.

I risultati dei campioni di bianco hanno rilevato esclusivamente la presenza di MF, mentre nessuna tipologia di MP nella forma di frammenti, film, linee o pellet è stata ritrovata. Nello specifico, il numero di microfibre misurate variava da 0 a un massimo di 15 con una media di $6,4 \pm 5,1$ MF/campione di bianco. Il numero di MF ritrovato in un campione di bianco è stato poi sottratto al numero di MF ritrovate nei campioni biologici processati nella batteria corrispondente, per ottenere il valore finale esatto di microfibre estratte per ogni organismo.

Risultati

In Figura 6 vengono riportati i risultati relativi alla frequenza di ingestione delle MF e numero medio di MF ingerite negli organismi campionati nei diversi siti di indagine. La frequenza di ingestione delle MF nelle specie analizzate risulta sempre piuttosto alta, con variazioni comprese tra circa il 20 e il 60% di individui contenenti queste particelle a seconda del sito di indagine. Solo le spigole provenienti dall'allevamento situato nel Golfo di Follonica non presentano MF nel tratto gastrointestinale. Nel complesso gli organismi analizzati mostrano una frequenza di ingestione media di MF del 40% e una media di $4,6 \pm 4,8$ MF per singolo individuo positivo all'ingestione.

Per quanto riguarda le differenze tra siti, una frequenza di ingestione del 56% è stata evidenziata negli organismi di Cerboli, 44% e 50% in quelli di Elba Est e Ovest rispettivamente, 25% per i mitili campionati presso l'impianto di acquacoltura nella zona vicino costa e al centro, 40% per i mitili campionati nella zona più esterna all'impianto, 22% per la Foce dell'Arno e 30% per l'area di Camogli (Figura 6 A). Il numero medio di microfibre ingerite dagli organismi campionati nei vari siti è risultato essere pari a $3,4 \pm 3,5$ a Cerboli, $9,7 \pm 8,5$ a Elba Est, $3,4 \pm 2,2$ a Elba Ovest, $5 \pm 5,7$ nei mitili vicino costa, $1,5 \pm 0,7$ nei mitili al centro dell'allevamento, $5 \pm 3,2$ nei mitili esterni dell'impianto e lontani da costa, $5,0 \pm 2,5$ nei pesci di Foce Arno, $2,5 \pm 2,0$ nell'area di Camogli (Figura 6 B).

Nella presente indagine sono state contate in totale 1052 MF e le analisi in μ FT-IR sono state effettuate su un sub-campione di 523 MF, il 50% circa di tutte le particelle contate. Il 64% delle MF sono risultate di origine naturale (vegetale, come cellulosa e cotone, o animale, come cashmere e angora), mentre il rimanente 36% di microfibre sintetiche è costituito da poliestere, poliammide e polipropilene (Figura 7).

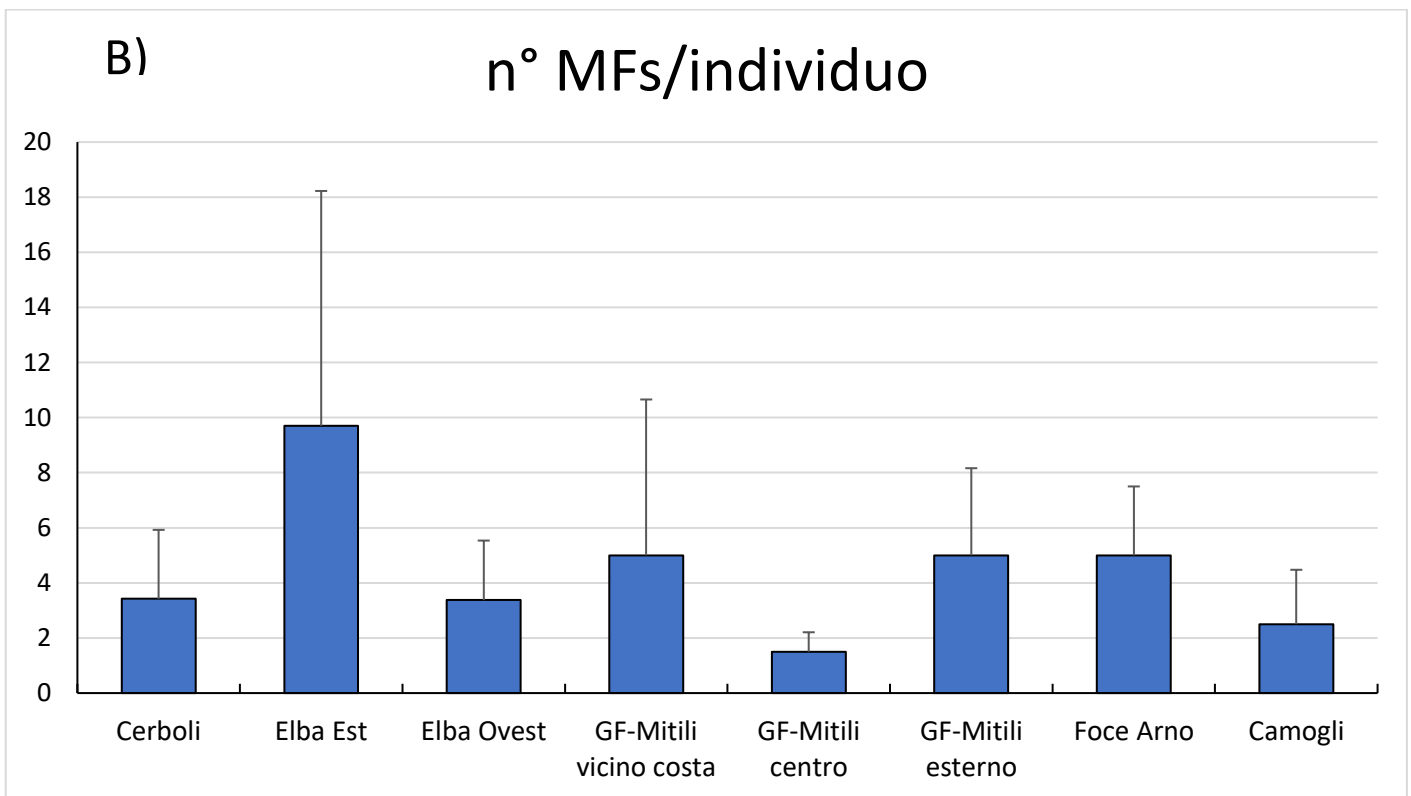
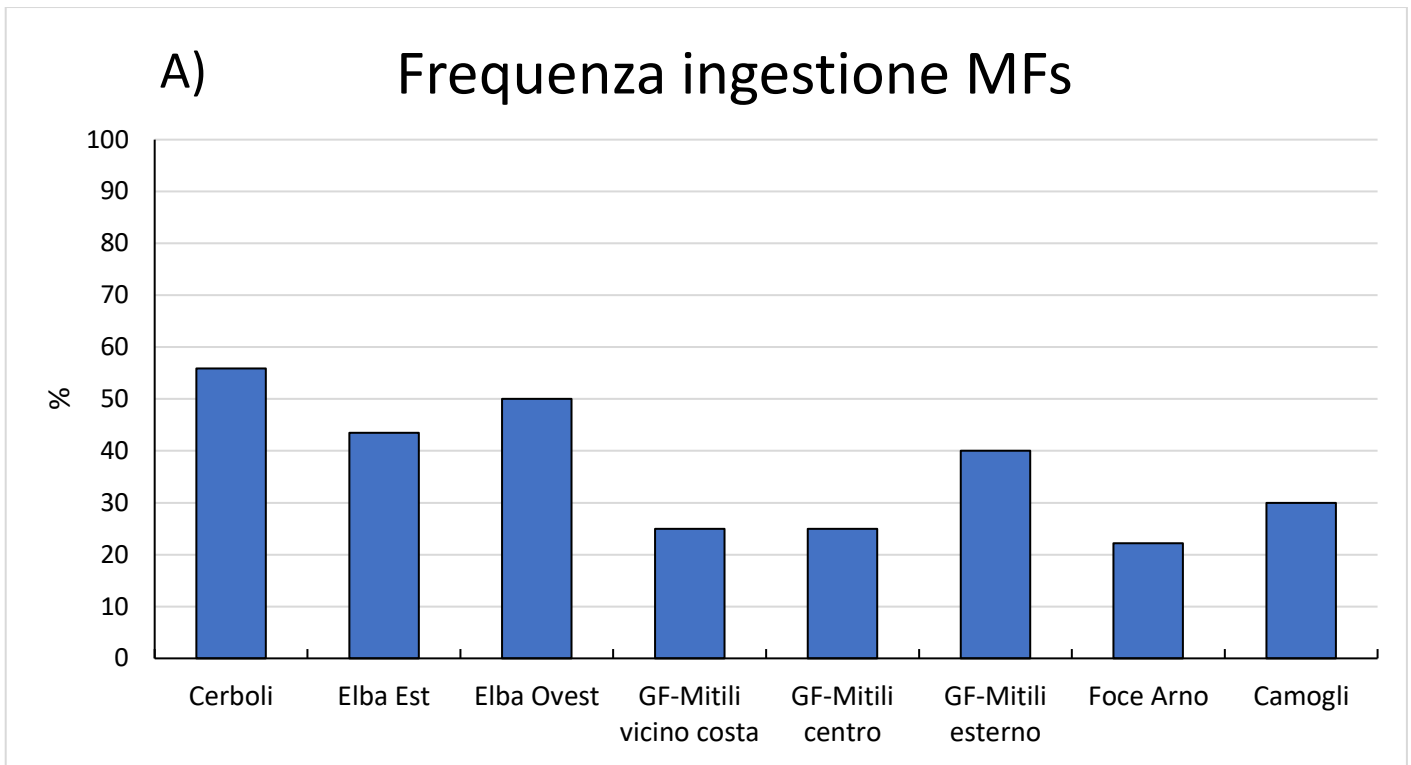


Figura 6. A) Percentuale di organismi positivi all'ingestione di almeno una MF (frequenza di ingestione) e B) numero medio (\pm deviazione standard) delle MF estratte per individuo positivo all'ingestione, in funzione dei diversi siti di campionamento.

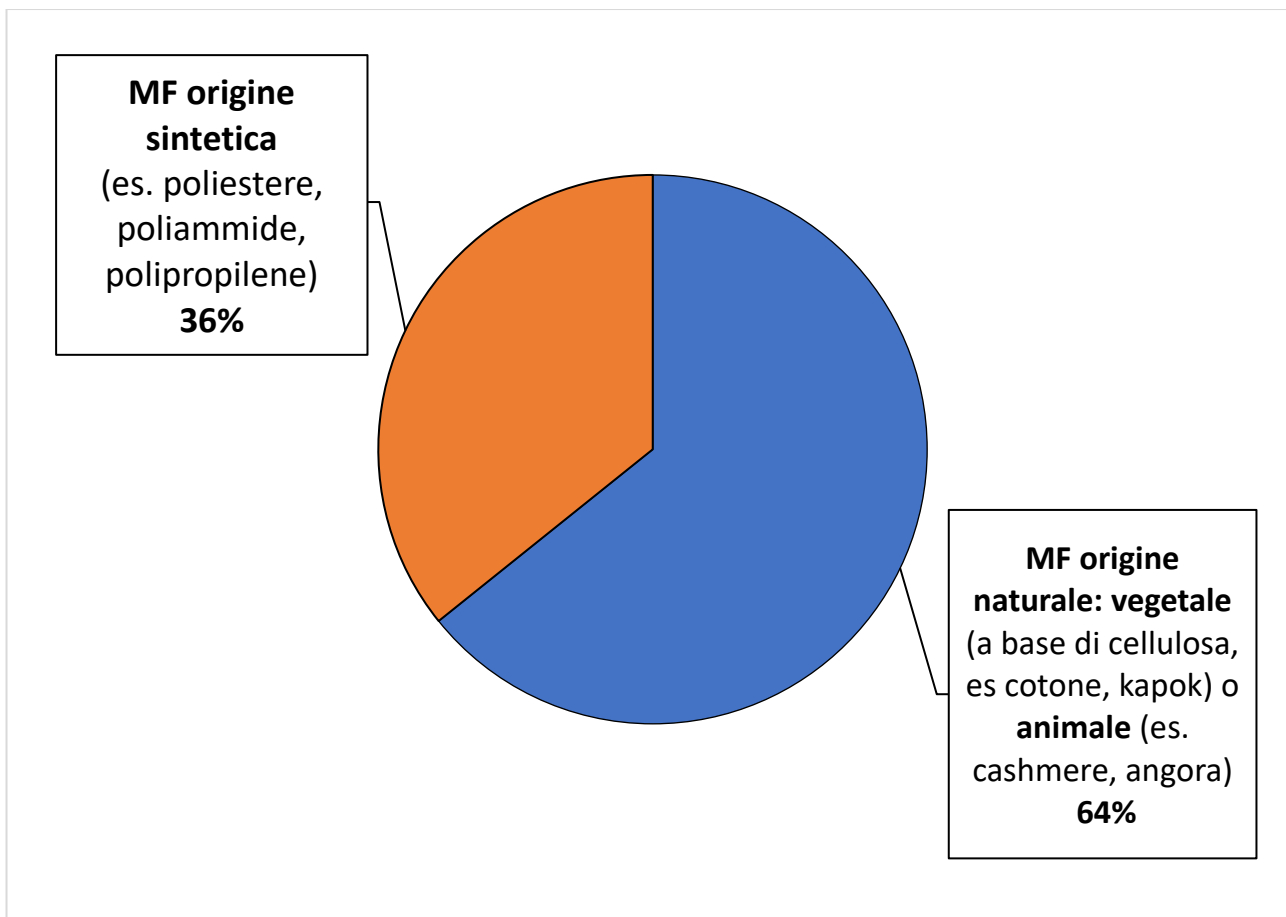


Figura 7. Composizione polimerica delle MF estratte dagli organismi.

Per quanto riguarda le MP, dei 142 organismi analizzati, 23 sono risultati positivi all'ingestione di almeno una MP con una frequenza quindi del 16%. Il numero totale di MP estratte è stato di 44; il 78% degli organismi ha ingerito una sola particella, il 4% ne ha ingerite 2 mentre il 18% ne ha ingerite un numero maggiore di 3 con un picco di 13 particelle rinvenute in uno sgombro *Scomber scombrus* campionato nel sito di Camogli.

Confrontando le diverse aree di campionamento, i pesci dell'area di Camogli, e i mitili delle zone più esterne dell'impianto (sia vicino che distante da costa) hanno mostrato le maggiori frequenze di ingestione di MP (Figura 8 A, Tabella 2), pari al 40%, 25% e 30% rispettivamente. Frequenze di ingestione ben più basse sono state rinvenute nei pesci di Cerboli e di Elba Est (9%), nei pesci di Elba Ovest e nei mitili prelevati al centro dell'impianto del Golfo di Follonica (13%), e nei pesci campionati alla Foce dell'Arno (11%).

Considerando i diversi siti di indagine, il numero medio di particelle ingerite per individuo risulta simile tra le diverse aree (Figura 8 B, Tabella 2), e corrisponde a 1, in tutti i siti tranne che in quello di Cerboli dove questo valore medio è leggermente superiore ($1,7 \pm 1,2$), e in quello di Camogli ($3,4 \pm 4,1$) dove i livelli più alti rilevati sono principalmente dovuti agli esemplari di sgombro che da soli mostrano un numero di particelle pari al 70% di tutte quelle isolate negli organismi di questo sito e una frequenza di ingestione pari all'80% degli organismi analizzati (Tabella 2).

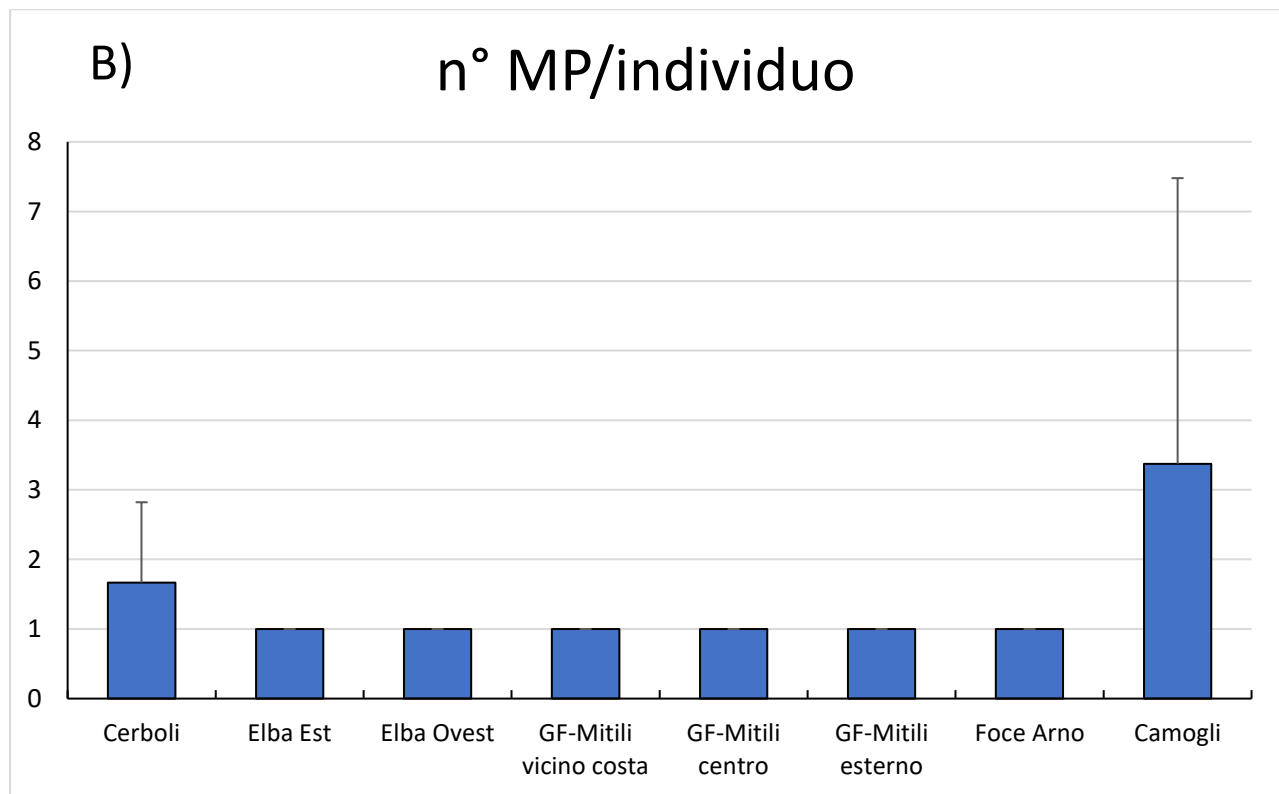
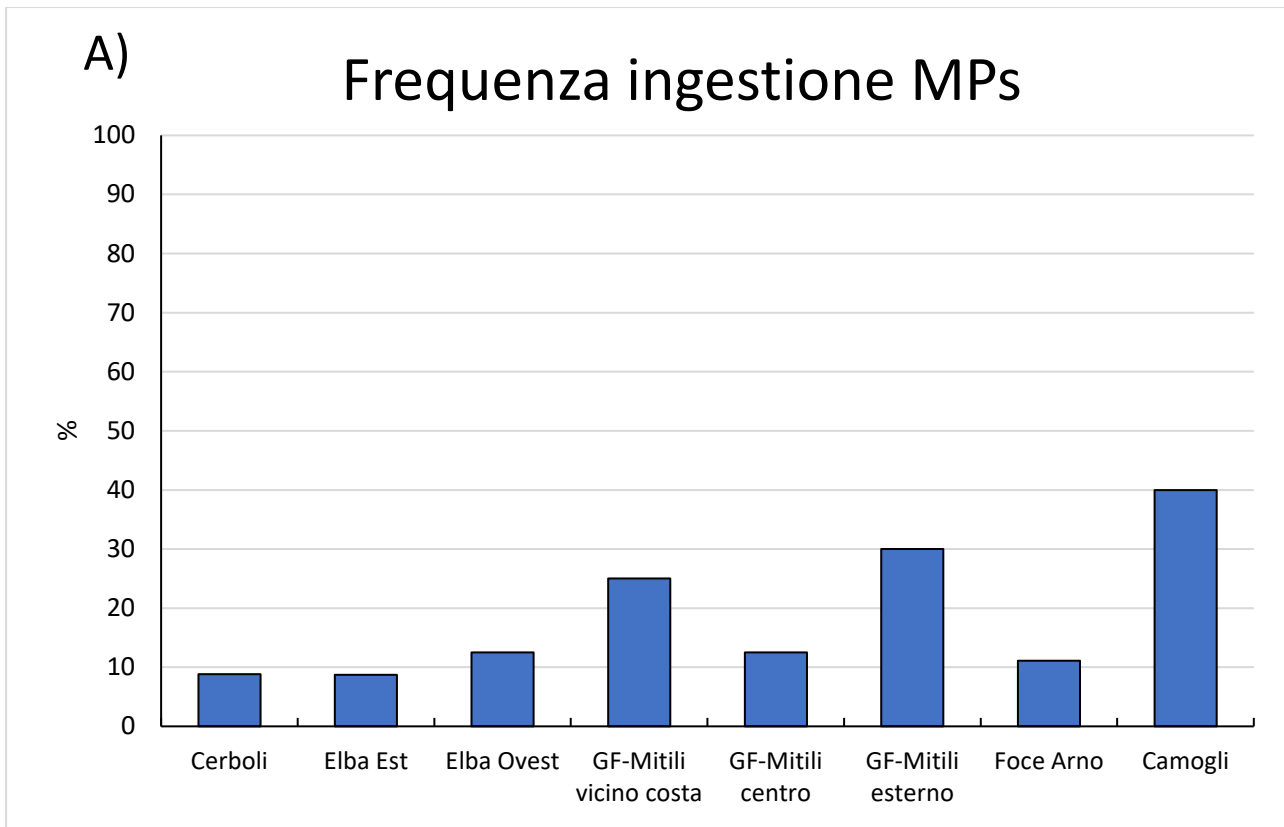


Figura 8. A) Percentuale di organismi positivi all'ingestione di almeno una particella di MP (frequenza di ingestione) e B) numero medio (\pm deviazione standard) delle MP estratte negli individui positivo all'ingestione, in funzione dei diversi siti di campionamento.

In Tabella 2 vengono riportate le frequenze di ingestione e il numero complessivo di MP estratte dalle singole specie analizzate, per ogni sito di campionamento.

Nel sito di Cerboli è stata evidenziata una percentuale del 9% di pesci positivi all'ingestione di almeno una particella (3 dei 34 organismi analizzati in totale); tra le singole specie, *Scomber scombrus* presenta una frequenza di ingestione del 14% con un solo individuo su 7 risultato positivo all'ingestione, mentre la specie *Trachurus trachurus* mostra una frequenza del 13% con 2 esemplari su 16 positivi all'ingestione.

Dei 23 pesci analizzati per il sito di Elba Est due esemplari, appartenenti alle specie *Oblada melanura* e *Serranus scriba*, sono risultati positivi all'ingestione di un microframmento di plastica. Anche nel sito di Elba Ovest, soltanto due organismi, appartenenti alle specie *Diplodus* sp. e *Scorpaena* sp, su un totale di 16 analizzati, risultano positivi all'ingestione di una MP, con una frequenza totale di ingestione del 13%.

Le spigole *Dicentrarchus labrax* ottenute dall'allevamento situato nel Golfo di Follonica non mostrano microparticelle di plastica nei contenuti gastrointestinali.

Frequenze di ingestione del 13, 25 e 30% sono state riscontrate nei mitili raccolti dai filari dell'allevamento del Golfo di Follonica, dove la percentuale più bassa si riferisce agli organismi campionati nei filari centrali dell'impianto. In generale queste percentuali sono simili a quelle già riscontrate in altri studi su mitili dell'Adriatico centrale (frequenza del 15-20%) e meridionale (frequenza di ingestione del 28%) (Avio et al., 2020); la localizzazione del filare di provenienza sembra influenzare in parte la frequenza di ingestione (organismi al centro del filare presentano frequenze di ingestione più basse sia per MF che MP), risultato che dovrà essere confermato con successivi studi.

Nel sito di Foce Arno solo le triglie *Mullus barbatus* sono risultate positive all'ingestione, con 2 organismi positivi su un totale di 4 analizzati mentre tutti gli altri 16 pesci campionati in questa area risultano negativi all'ingestione di MP (frequenza totale di ingestione dell'11%). Considerando il sito di Camogli, sono stati analizzati 20 organismi appartenenti a 4 specie diverse e 8 di questi sono risultati positivi all'ingestione (frequenza totale di ingestione del 40%). Considerando le diverse specie investigate, *Scomber scombrus* ha presentato una frequenza di ingestione particolarmente alta, pari all'80%, con 13 particelle di microplastica rinvenute in un solo organismo; *Trachurus trachurus* mostra una frequenza del 40% mentre *Engraulis encrasicolus* del 20%.

Tabella 2. MP estratte negli organismi campionati: numero totale di organismi analizzati per ogni specie; numero totale di MP estratte; percentuale di organismi positivi all'ingestione di almeno una particella (frequenza di ingestione); numero medio di microplastiche (\pm deviazione standard) calcolato rispetto agli organismi positivi all'ingestione.

Sito di Campionamento		Specie	N° organismi analizzati	Tot MP estratte	Frequenza di ingestione	N°MP/organismi positivi all'ingestione
Cerboli		<i>Pagellus erythrinus</i>	7	0	0	0
		<i>Scomber scombrus</i>	7	1	14%	1 \pm 0
		<i>Trachurus trachurus</i>	16	4	13%	2.0 \pm 1.4
		<i>Boops boops</i>	4	0	0	0
		totale	34	5	9%	1,7 \pm 1,2
Elba Est		<i>Oblada melanura</i>	6	1	17%	1 \pm 0
		<i>Serranus scriba</i>	10	1	10%	1 \pm 0
		<i>Trachurus trachurus</i>	4	0	0	0
		<i>Boops boops</i>	3	0	0	0
		totale	23	2	9%	1 \pm 0
Elba Ovest		<i>Diplodus sp.</i>	5	1	20%	1 \pm 0
		<i>Scorpaena sp.</i>	11	1	9%	1 \pm 0
		totale	16	2	13%	1 \pm 0
Golfo di Follonica (GF)	Spigole	<i>Dicentrarchus labrax</i>	5	0	0	0
	Sottocosta	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	8	2	25%	1 \pm 0
	Centro	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	8	1	13%	1 \pm 0
	Esterno	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	10	3	30%	1 \pm 0
		Totale (<i>M. galloprovincialis</i>)	26	6	23%	1 \pm 0
Foce Arno		<i>Umbrina cirrosa</i>	5	0	0	0
		<i>Mullus barbatus</i>	4	2	50%	1 \pm 0
		<i>Mugil cephalus</i>	4	0	0	0
		<i>Diplodus sp.</i>	5	0	0	0
		totale	18	2	11%	1 \pm 0
Camogli		<i>Scomber scombrus</i>	5	19	80%	4,8 \pm 5,7
		<i>Mullus barbatus</i>	5	0	0	0
		<i>Engraulis encrasicolus</i>	5	1	20%	1 \pm 0
		<i>Trachurus trachurus</i>	5	7	60%	2,3 \pm 1,5
		totale	20	27	40%	3,4 \pm 4,1
Totale organismi analizzati			142	44	16%	1,9 \pm 2,6

In Figura 9 sono riportati i risultati della caratterizzazione delle MP estratte nel totale degli organismi analizzati e, nello specifico, vengono presentate le percentuali relative (%) di ogni forma, classe dimensionale e tipologia polimerica. La forma riscontrata più frequentemente è stata quella dei frammenti (61%), seguita dai film (34%) e dalle linee (5%), mentre non sono state riscontrati pellet (Figura 9 A). Per quanto riguarda le classi dimensionali la maggior parte delle particelle ingerite dagli organismi sono risultate inferiori a 0,5 mm (75%), con un contributo del 50% e del 25% per la classe di taglia 0,5-0,1 mm e 0,1- 0,01 mm, rispettivamente. Considerando le classi di taglia maggiore, sono state riscontrate frequenze del 14% per il range 5-1 mm e dell'11% per la classe 1-0,5 mm (Figura 9 B). L'analisi μ FTIR ha dimostrato la presenza di 12 tipologie diverse di polimeri ingeriti con il contributo maggiore dato dal polipropilene (23%), polietilene (18%), della gomma (14%), del silicone e del copolimero Etilene Vinil Acetato (11%). Altre tipologie polimeriche sono state ritrovate con frequenze minori del 10% come la poliammide, il policarbonato (5%), il poliuretano, il poliestere e il PVC (2%).

In Figura 10 a titolo esemplificativo vengono mostrate alcune immagini degli spettri infrarossi acquisiti in modalità μ ATR-FTIR ed ottenuti dalle microparticelle estratte dagli organismi analizzati; lo spettro ottenuto per ogni microparticella analizzata viene confrontato con quello di riferimento presente in libreria (banca dati) e viene quindi definita con certezza la natura chimica di ogni particella analizzata.

Le caratteristiche morfologiche e chimiche delle MP estratte dagli organismi, in funzione dei diversi siti di campionamento, vengono mostrate in Figura 11. Nella maggior parte dei siti domina la forma dei frammenti (con percentuali dal 50 al 100%), ad esclusione dei siti Elba Ovest e Foce Arno dove il 100% delle particelle estratte si riferisce ai film e al sito dei mitili campionati nell'impianto del Golfo di Follonica (parte centrale) che presenta il 100% di MP a forma di linea (Figura 11 A).

Per quanto riguarda le classi dimensionali, solo i siti di Cerboli e Camogli includono MP appartenenti a tutte le quattro classi di taglia, mentre per tutti gli altri siti i risultati risultano meno eterogenei, anche considerando il basso numero di MP rinvenuto in molti dei siti investigati. Per lo stesso motivo, i siti che riflettono maggiormente l'eterogeneità chimica di polimeri sono di nuovo Cerboli e in particolare Camogli (Figura 11 C), mentre risultati più omogenei in termini di tipologie polimeriche sono stati osservati per gli altri siti di indagine.

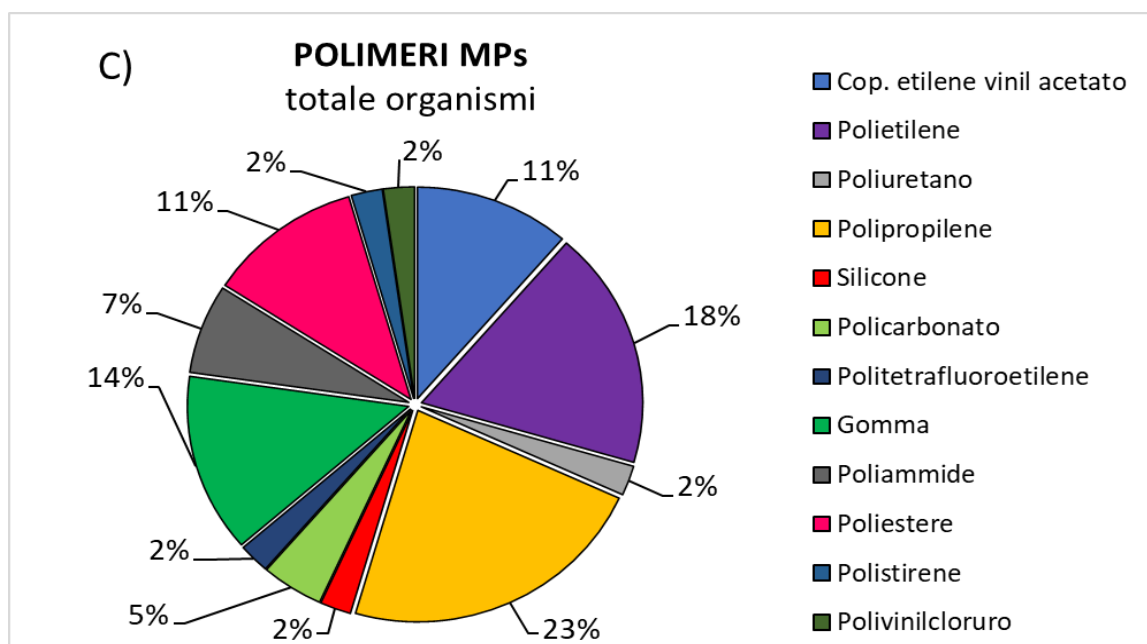
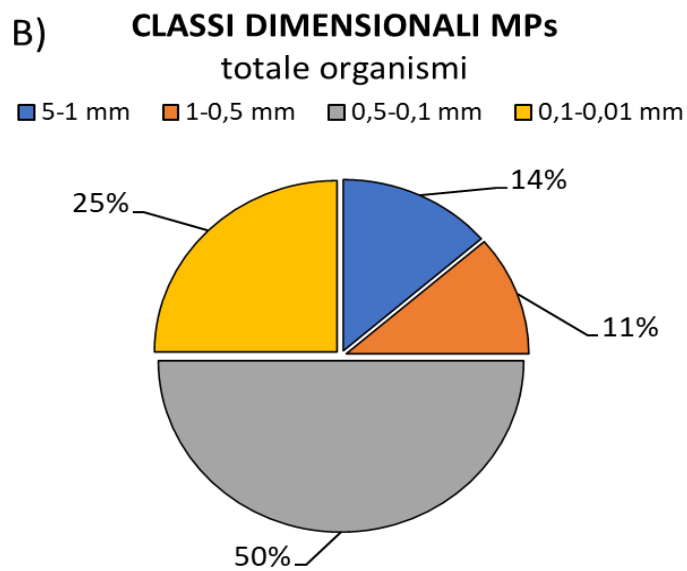
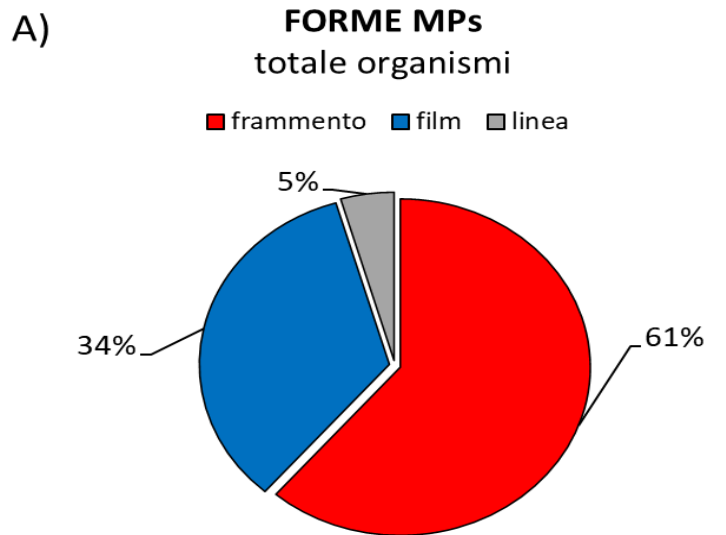


Figura 9. Caratterizzazione delle forme (A), classi dimensionali (B) e tipologia polimerica (C) delle MP totali estratte dagli organismi analizzati.

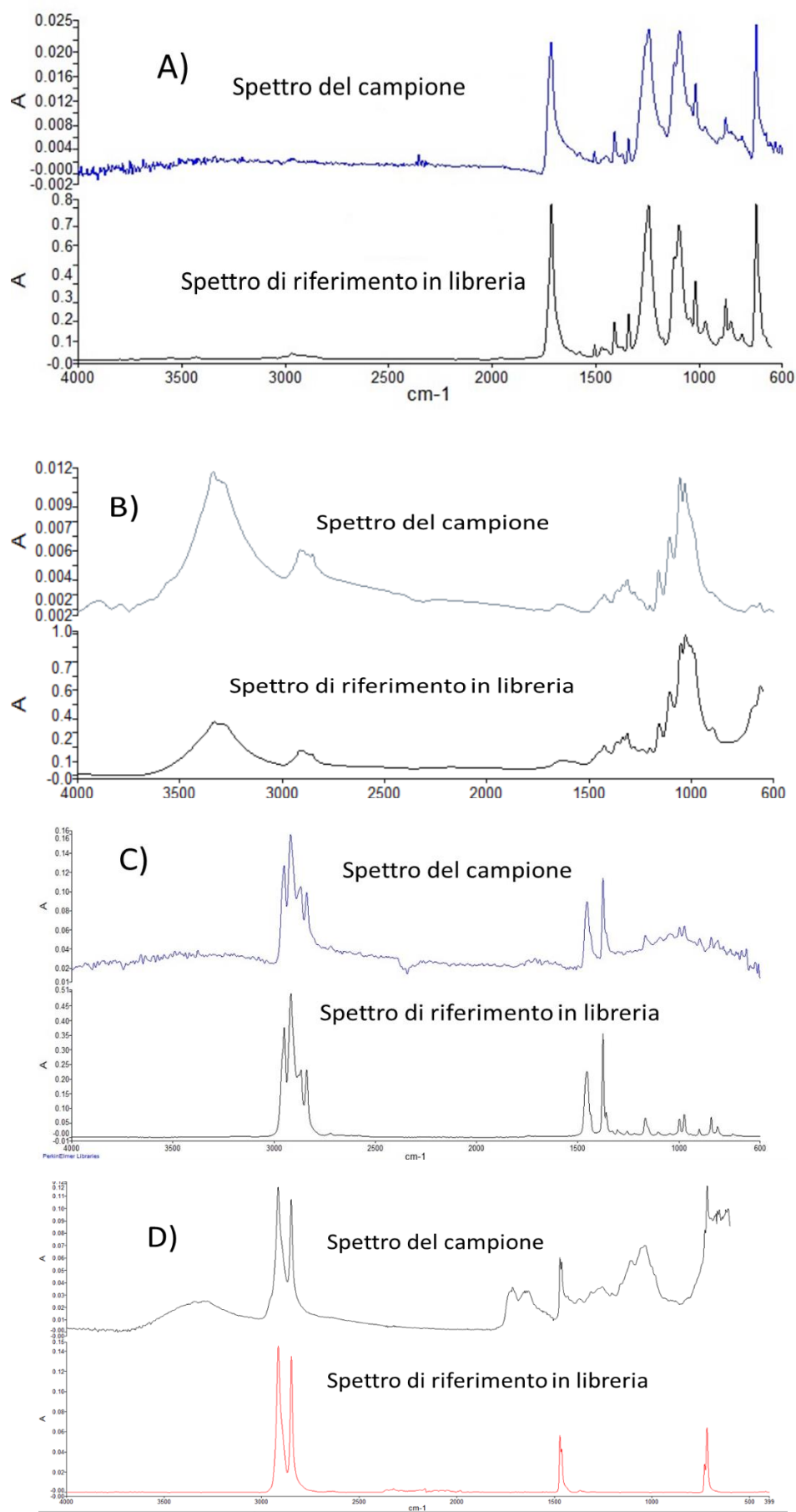


Figura 10. Esempi di spettri IR acquisiti in modalità μ ATR-FTIR ed ottenuti dalle microparticelle estratte dagli organismi analizzati: A) poliestere, B) cellulosa, C) polipropilene, D) polietilene.

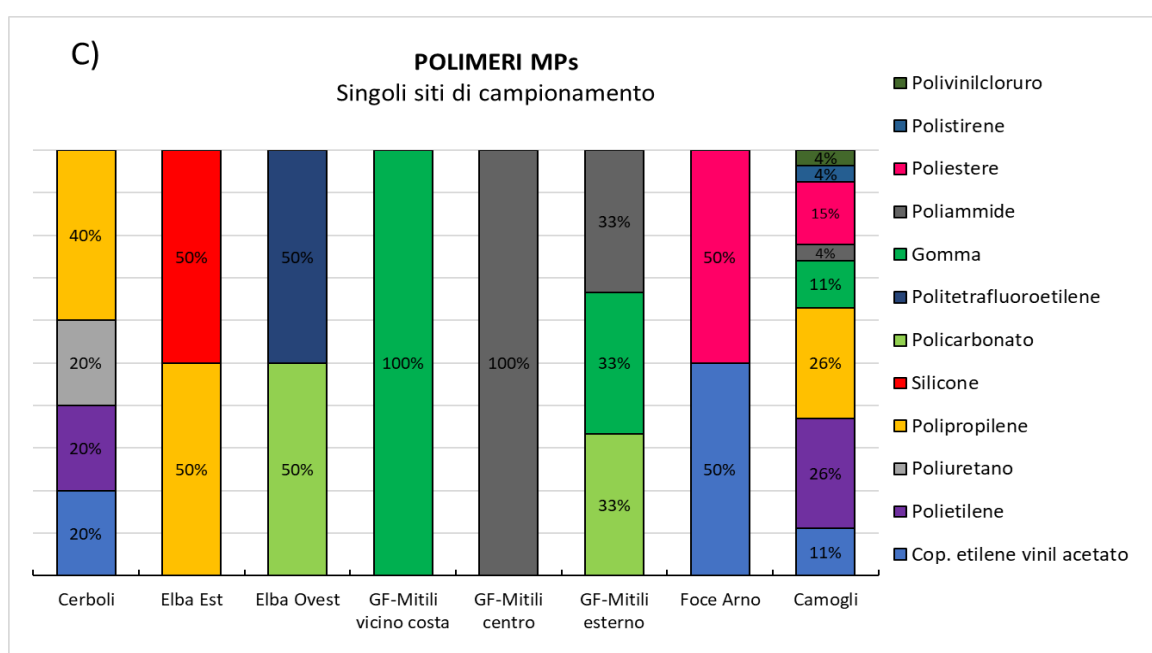
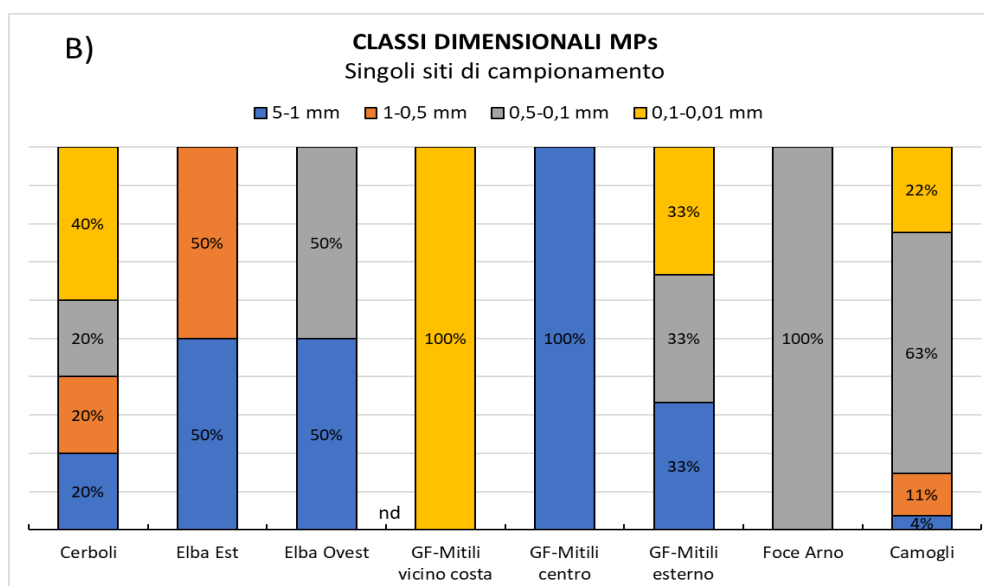
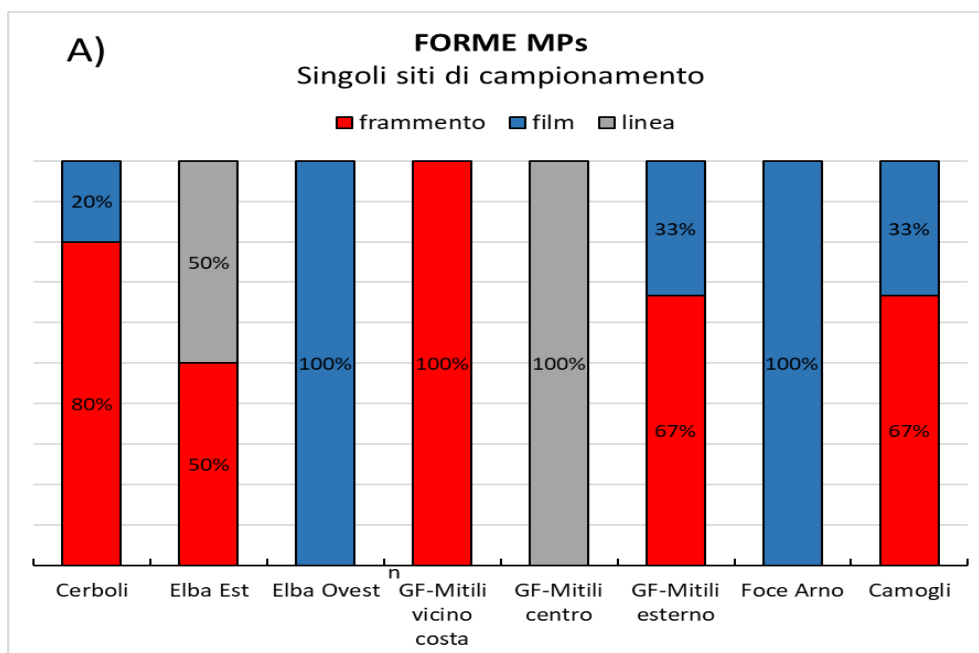


Figura 11. Contributo relativo (frequenza) delle singole forme (A), classi dimensionali (B) e polimeri (C) sulle microparticelle di plastica (MP) totali estratte dagli organismi per ogni sito di indagine.

Conclusioni generali

I risultati sono stati presentati separatamente per le MP e MF poiché queste particelle hanno origini e caratteristiche diverse e sono diversamente influenzate dalle attività antropiche: mentre le prime derivano primariamente dalla frammentazione di oggetti di plastica di uso comune, le seconde hanno un'origine di natura sostanzialmente tessile.

I risultati ottenuti sulle MF mostrano una “frequenza di ingestione” media del 40%, in generale più bassa di quella riscontrata nelle precedenti campagne di indagine (ad esempio durante la campagna *May Day SOS Plastica* la frequenza di ingestione di MF arrivava al 90% e il numero medio di MF per individuo positivo all'ingestione era pari a $7,6 \pm 5,4$) o dai dati di letteratura (Avio et al., 2020). Le MF costituiscono comunque la componente predominante delle microparticelle presenti negli organismi analizzati, dove è stata confermata la predominanza di MF di origine naturale: resta da comprendere la spiegazione di questo fenomeno, vista la maggior produzione di MF di origine sintetica che sono quelle considerate anche più persistenti in ambiente marino (Suaria et al., 2020). Da sottolineare che l'affinamento dei protocolli di estrazione e il corretto utilizzo di strategie di prevenzione della contaminazione ambientale durante le fasi analitiche contribuiscono a prevenire il rischio di sovrastimare il numero di MF presenti nei campioni biologici.

Anche per le MP la frequenza di ingestione negli organismi campionati durante la campagna *Difendiamo il mare* nel 2020, pari a circa il 16%, risulta decisamente inferiore rispetto a quella osservata nelle precedenti campagne condotte nel Tirreno come *May Day SOS plastica* del 2019 (frequenza di ingestione complessiva del 35%), *Less Plastic More Mediterranean* nel 2017 (30%) o a quella riferita agli organismi del Mar Adriatico (27%) (Avio et al., 2020). Campionamenti futuri o in altre zone del Mediterraneo serviranno a chiarire se le più basse frequenze di ingestione del 2020 riflettano una situazione episodica o se possano in qualche modo essere correlate alle particolarmente stabili condizioni meteo e alle più basse pressioni antropiche in mare che hanno caratterizzato il primo semestre del 2020.

Analizzando il “numero” di microplastiche ritrovate negli organismi, i risultati sono in linea con quelli di altre aree del Mediterraneo, evidenziando nella maggior parte dei campioni un'ingestione pari a 1 o 2 particelle. Numeri maggiori di particelle per individuo sono stati ritrovati sporadicamente, senza una chiara relazione specie specifica.

Ai fini di un corretto monitoraggio delle MF e delle MP negli organismi marini, la misura della frequenza di ingestione risulta assumere una valenza maggiore rispetto al numero di particelle ingerite. Infatti, tale parametro meglio di altri è in grado di riflettere la probabilità per gli organismi di entrare in contatto con le microparticelle nel proprio habitat, e fornisce la possibilità di poter discriminare tra aree geografiche diverse o specie diverse.

Bibliografia

Avio C.G., Gorbi S., Milan M., Benedetti M., Fattorini D., D'Errico G., Pauletto M., Bargelloni L., Regoli F., 2015. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution* 198, 211-222. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.021>.

Avio C.G., Gorbi S., Regoli F., 2017. Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat. *Marine Environmental Research* 128, 2-11.

Avio, C. G., Pittura, L., d'Errico, G., Abel, S., Amorello, S., Marino, G., ... & Regoli, F. (2020). Distribution and characterization of microplastic particles and textile microfibers in Adriatic food webs: General insights for biomonitoring strategies. *Environmental Pollution*, 258, 113766.

Hartmann N.B., Hüffer T., Thompson R.C., Hassellöv M., Verschoor A., Dagaard A.E., Rist S., Karlsson T., Brennholt N., Cole M., Herrling M.P., Hess M.C., Ivlevam N.P., Lusher A.L., Wagner M. Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and categorization framework for plastic debris. *Environ. Sci. Technol.*, 5 (2019), pp. 1039-1047

Liu J., Yang Y., Ding J., Zhu B., Gao W., 2019. Microfibers: a preliminary discussion on their definition and sources. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 26(28), 29497-29501.

Lusher A.L., Welden N.A., Sobral P., Cole M., 2017. Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods* 9, 1346-1360. <https://doi.org/10.1039/C6AY02415G>.

Magni S., Binelli A., Pittura L., Avio C.G., Della Torre C., Parenti C.C., Gorbi S., Regoli F. The fate of microplastics in an Italian wastewater treatment plant. *Sci. Total Environ.*, 652 (2019), pp. 602-610

Primpke S., Wirth M., Lorenz C., Gerdt G. Reference database design for the automated analysis of microplastic samples based on Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.*, 410 (2018), p. 5131.

Suaria, G., Achtypi, A., Perold, V., Lee, J. R., Pierucci, A., Bornman, T. G., et al. (2020). Microfibers in oceanic surface waters: A global characterization. *Sci. Adv.* 6(23), eaay8493. [10.1126/sciadv.aay8493](https://doi.org/10.1126/sciadv.aay8493)

- *Less Plastic More Mediterranean* Tour Greenpeace 2017 - "MICROPLASTICS IN FISH AND INVERTEBRATES ALONG THE TYRRHENIAN COAST"
<https://www.greenpeace.org/static/planet4-italy-stateless/2018/11/0c2928a1-0c2928a1-univpmreportgiugno2018.pdf>
- *May day SOS Plastica* Tour Greenpeace 2019 - "MICROPLASTICS IN FISH AND INVERTEBRATES ALONG THE TYRRHENIAN COAST" (campagna 2019)
https://mcusercontent.com/d45446e3f4011115500952642/files/a13df56e-7651-4a09-bea1-c3d2250b7c76/Report_MAY_DAY_SOS_PLASTIC_luglio_2020_DEF.pdf
- *Harmonized protocol for monitoring microplastics in biota*
https://www.researchgate.net/publication/332157735_Harmonized_protocol_for_monitoring_microplastics_in_biota