

Università Politecnica delle Marche

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Triennale in Scienze Ambientali e Protezione Civile

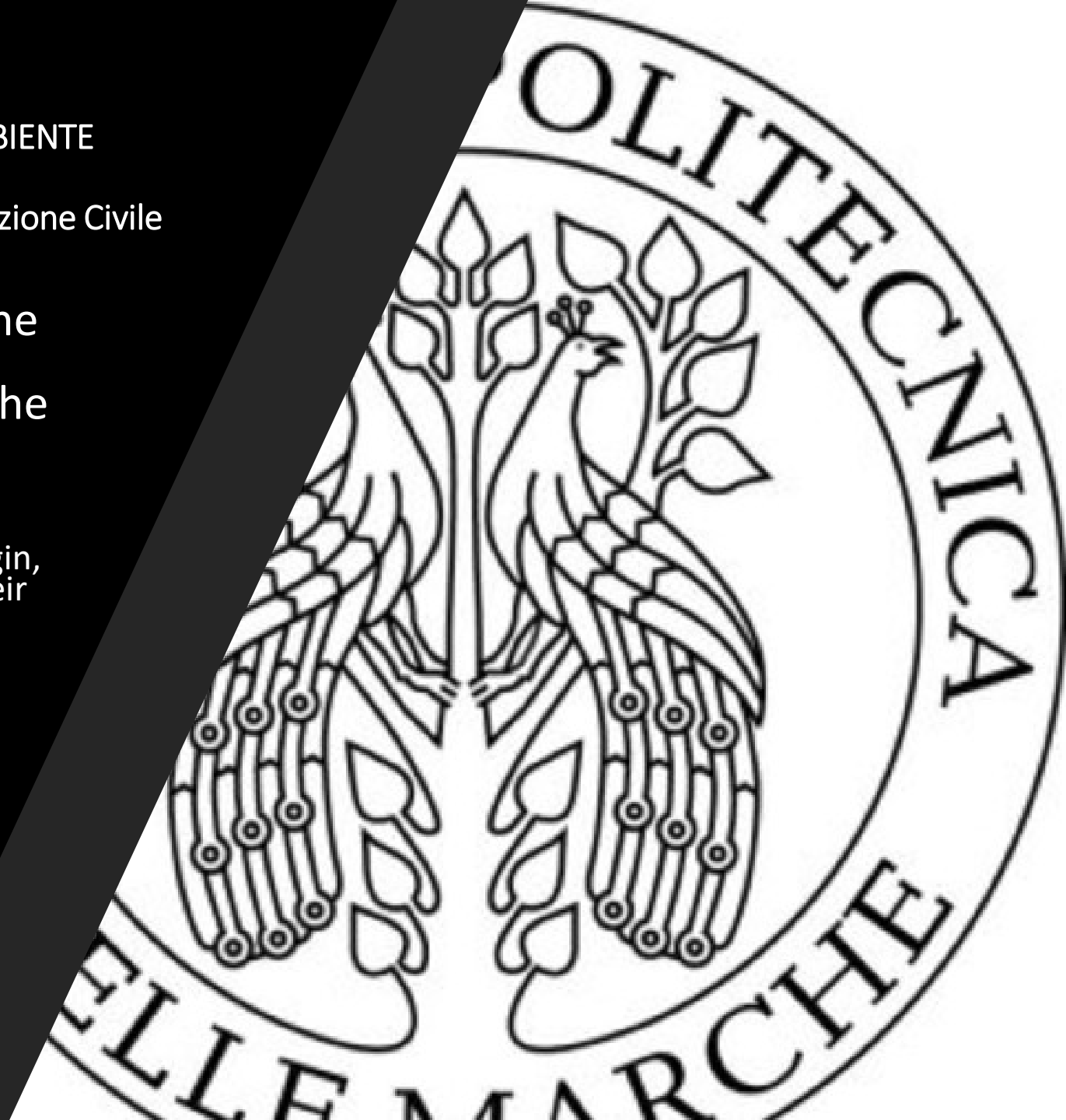
Microplastiche negli impianti di depurazione  
dei reflui urbani: origine, tipologia,  
problematiche e prospettive biotecnologiche  
per la loro rimozione

Microplastics in urban wastewater treatment plants: origin,  
type, problems and biotechnological perspectives for their  
removal

Tesi di Laurea di  
Marco Badiali

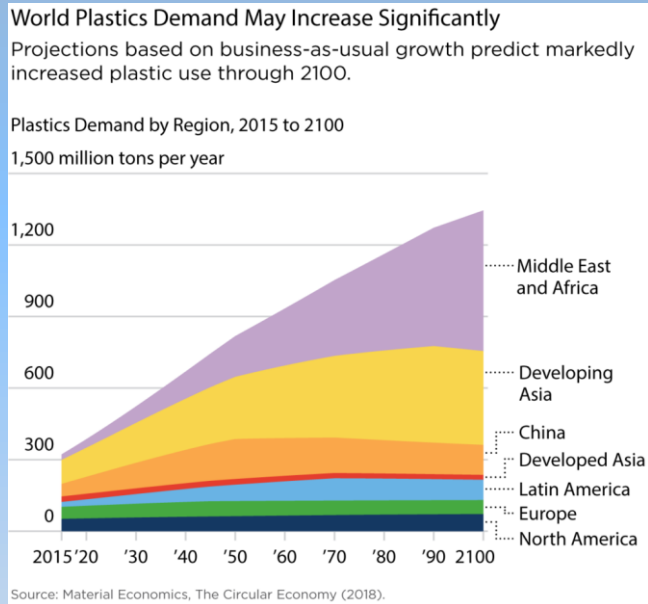
Docente Referente  
Chiar.mo Prof.  
Eugenio Rastelli

Sessione straordinaria Anno Accademico 2019/2020



# INTRODUZIONE

- Si stima che nel 2017 la produzione annua abbia raggiunto le  $347 \times 10^6$  ton . Si prevede un incremento di crescita con andamento lineare, tale da raggiungere il valore di  $1,5 \times 10^9$  ton entro la fine del XXI sec. (*Material economics, circular economy 2018*) soprattutto nei paesi in via di sviluppo o crescere esponenzialmente fino a  $33 \times 10^9$  ton nel 2050 (L. Pittura, et al. 2020, Chemosphere)

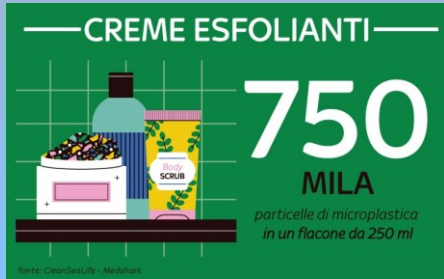


- La presenza della plastica in ambiente è pericolosa , legata non solo ad uno scorretto smaltimento, ma anche a complessi fattori ambientali che ne determinano la frammentazione, il trasporto e l'accumulo.
- Annualmente circa  $8 \times 10^6$  ton raggiungono l'oceano (*wwf.it*) e la loro presenza è stata rilevata anche in profondità più remote come la Fossa delle Marianne.
- Causa di potenziali rischi ambientali per gli organismi viventi, marini e terrestri, esseri umani compresi, attraverso danni fisici diretti e attraverso danni fisici indiretti conseguenti al loro ingresso nella catena trofica.
- Una pericolosità sempre più rilevante deriva dalle classi dimensionali dalle MPs (da 0,1 a 5 mm) e NPs (da 1 a 100 nm), frutto della frammentazione di oggetti più grandi (MPs secondarie) o costituiti da pellets, sfere o granuli sintetizzati in tali dimensioni (MPs primarie) utilizzati nei PCPs e in alcuni processi industriali.
- Le microplastiche (MPs), ubiquitarie sono possibili vettori di agenti patogeni microbici, contaminanti organici persistenti (POPs), PCB, IPA, distruttori endocrini, metalli pesanti, lisciviazione di componenti chimici propri della plastica stessa. (S. Wright et al., 2013 Env. Poll.)
- Oltre nell'intestino dei pesci, ne è stata rilevata la presenza nella placenta umana. (A. Ragusa et al. 2020, Env. Intern.)

# ORIGINE DELLE MICROPLASTICHE NEI REFLUI

- Gli **WWTPs** rappresentano una rilevante fonte di emissione di microplastiche. Ma da dove provengono? Come si presentano e quali sostanze le compongono ?

## 1) PRODOTTI PER LA CURA DELLA PERSONA



## 2) PROCESSI DI LAVAGGIO



## 3) RUNOFF STRADALE

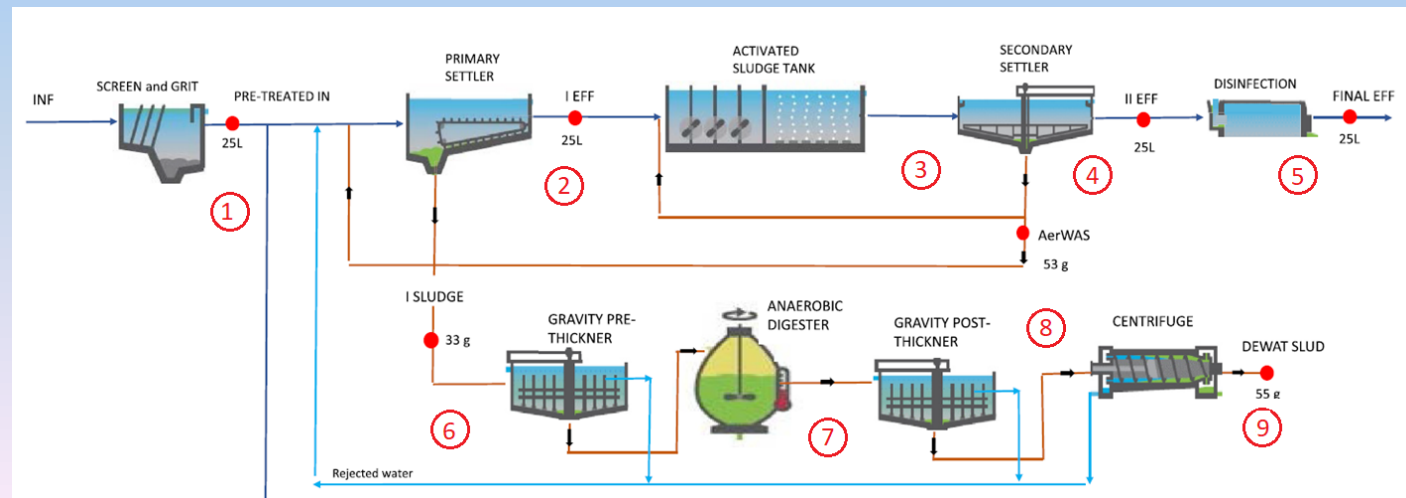


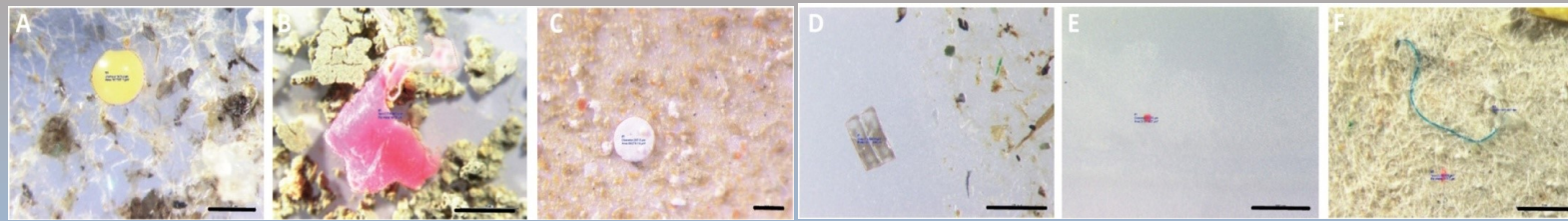
## 4) DETRITI DI VARIA PROVENIENZA



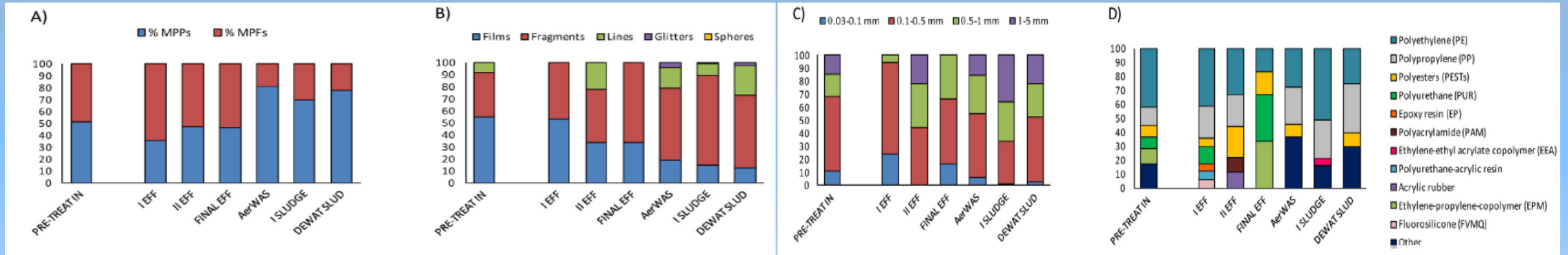
(fonte immagini [TG.SKY24.it](http://TG.SKY24.it), [vestilaturanatura.it](http://vestilaturanatura.it), [sicurauto.it](http://sicurauto.it) )

**Studio sul Depuratore "Vallechiara" di Falconara M.ma (AN)** . Capacità di trattamento 80.000 a.e.,  $Q=18.000 \text{ m}^3\text{d}^{-1}$  . Le Mps in arrivo al WWTP sono state identificate in ogni singola fase di processo differenziandole: in base alla morfologia, in base alla classe dimensionale, in base alla tipologia di polimero. (L. Pittura, et al. 2020, Chemosphere)





**Esempi di MPs riscontrate in un WWTP** (A) pellet barra di scala 500  $\mu\text{m}$ , (B) frammento, barra di scala 1 mm, (C) schiuma, barra di scala 200  $\mu\text{m}$ , (D) film barra di scala 500  $\mu\text{m}$ , (E) granulo barra di scala 500  $\mu\text{m}$  (F) fibra barra di scala 1 mm (E.A. Giesa et al 2018, M. Pollution Bulletin)



Dallo studio preso in esame, i campionamenti effettuati lungo le linee di processo hanno evidenziato una capacità di ritenzione delle **MPs in termini di elementi presenti pari all'86%** (residuo finale 14%).

Treatment scheme	Sampling point	Concentration (MPs·L <sup>-1</sup> )	Load (MPs·h <sup>-1</sup> ·10,000 <sup>-1</sup> )	Distribution (%)
CAS	PRE-TREATED IN	3.64	1217	100
	I EFF	1.9	639	53
	II EFF	0.76	253	21
	FINAL EFF	0.52	173	14

Il WWTP considerato, con una potenzialità di soli 80.000 a.e. ed una portata media trattata di  $18 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$  avremo una immissione nel corpo idrico recettore di  $18 \times 10^6 \times 0,52 = 9,36 \times 10^6 \text{ MPs} \cdot \text{d}^{-1}$

Attualmente non esiste una normativa che imponga la rimozione delle MPs o che ne fissi dei limiti di concentrazione nelle acque reflue prima che esse raggiungano il corpo idrico recettore.

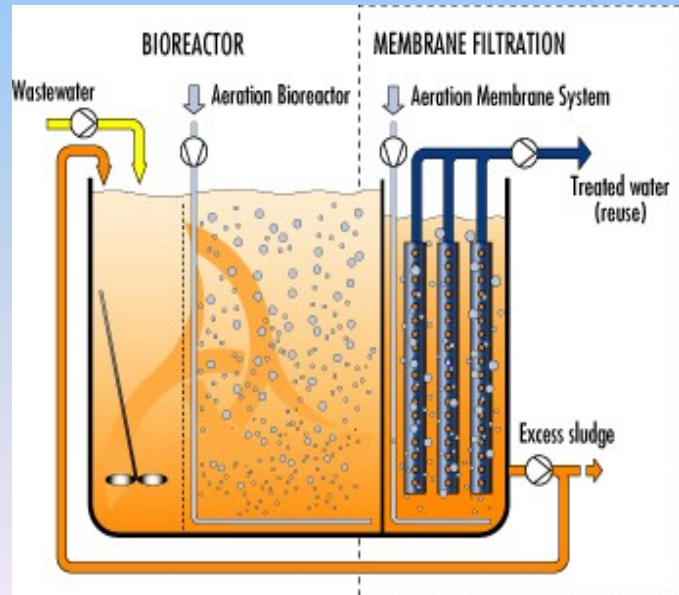
## PROBLEMATICHE CONNESSE ALLA PRESENZA DI MPs NEI FANGHI DI DEPURAZIONE

In un WWTP le MPs, sono trattenute nei fanghi prodotti durante i processi fisico – biologici. **La presenza delle MPs viene trasferita dalle acque ai fanghi di depurazione**, se utilizzati come ammendanti in agricoltura costituiscono fonte di contaminazione con accumulo da MPs nei terreni. (L. Pittura, et al. 2020, Chemosphere)

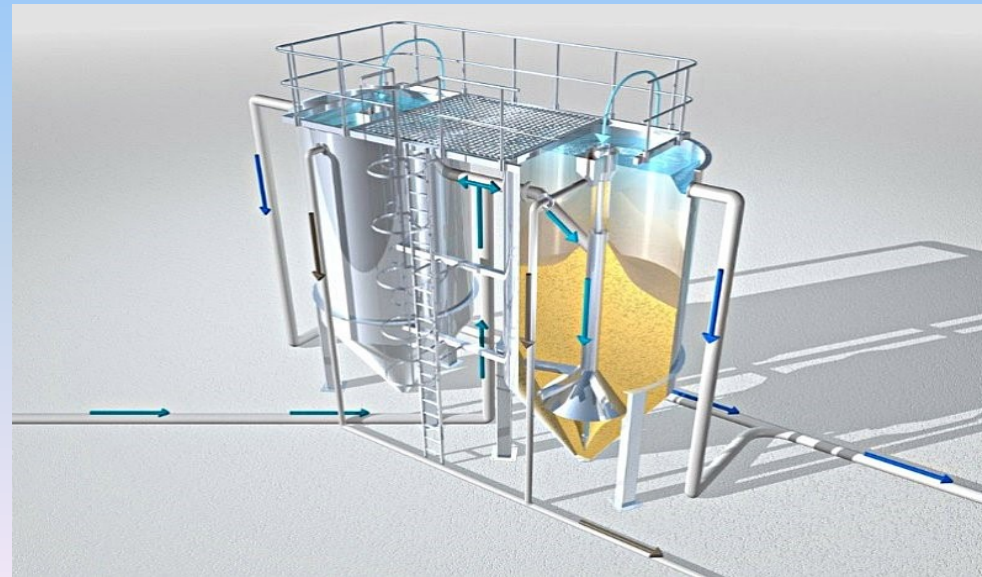


### ALTRI EFFETTI.....

Impianto pilota: reattore anaerobico a letto di fango con flusso ascendente **UASB** + reattore anaerobico a membrana **AnMBR**. All'aumentare della concentrazioni di MPs in PP si ha una riduzione dell'attività metanogenica, in percentuale variabile in funzione della sua concentrazione. (L. Pittura, et al. 2020, Chemosphere) **Interferenza nei normali processi di depurazione anaerobici con evidenti perdite di performance nei processi biologici**



(bioreattore a membrana fonte Lenntech)



(filtro a letto di sabbia fonte Huber Technology)

**Ingegneria:** buoni risultati tramite ultrafiltrazione e bioreattori a membrana, o con trattamenti terziari con filtri a letti di sabbia

Contro: una manutenzione accurata, scarsa efficienza per fouling, valori di portata necessariamente non elevati.

# PROSPETTIVE BIOTECNOLOGICHE PER LA RIMOZIONE DELLE MPs

**1) BIOFILTRI** Uno studio (F.Liu, et al. 2020, Water) in scala pilota le possibilità di ritenzione delle MPs presenti nei reflui mediante l'utilizzo di un biofiltro a flusso verticale. Capacità di ritenzione complessiva delle MPs **del 78,5% in termini di esemplari** e **del 95,6 % in termini di massa**, risultati paragonabili a quelli ottenuti in un altro studio condotto su di un impianto a BIODISCHI (Simon et al 2019, "Water")

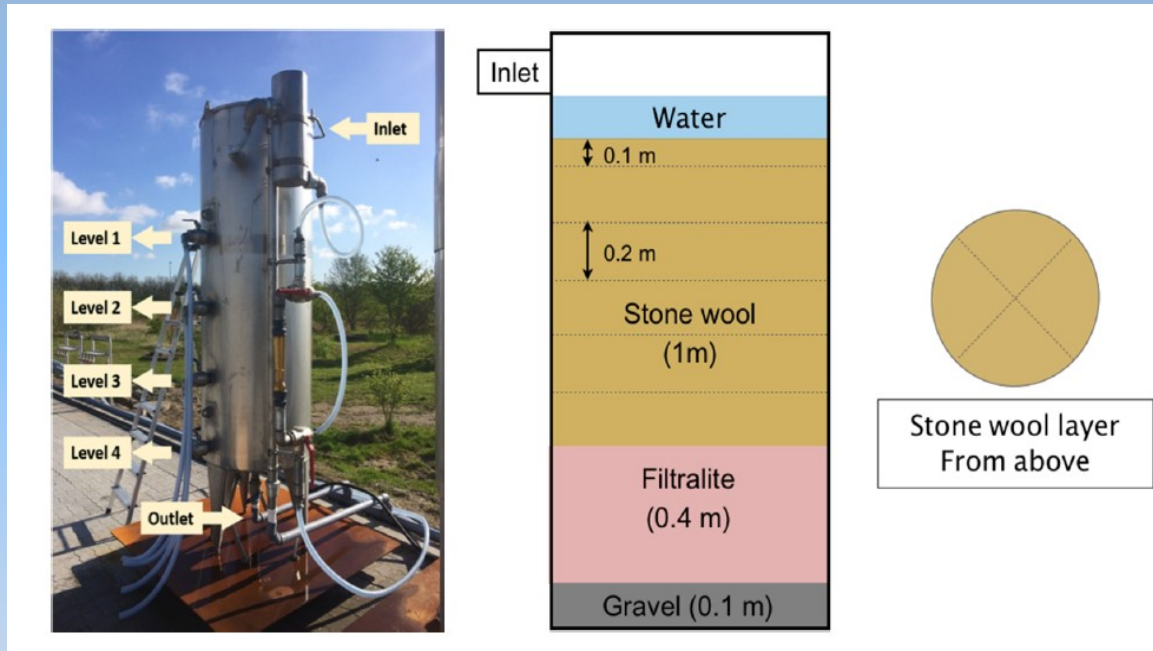
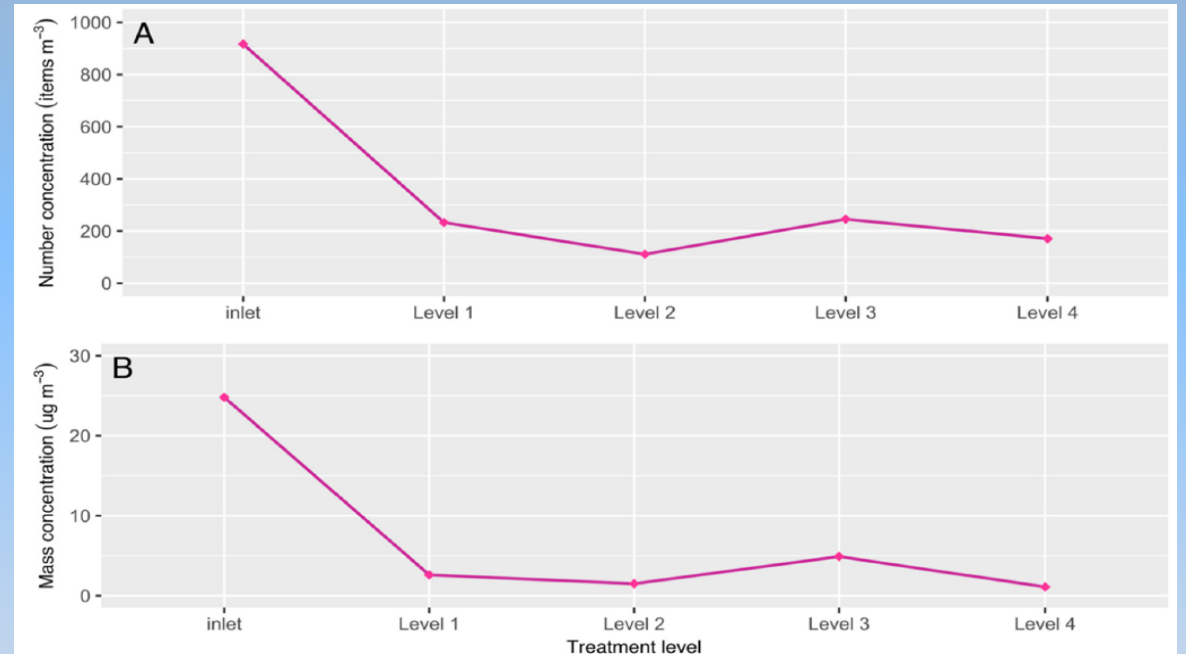
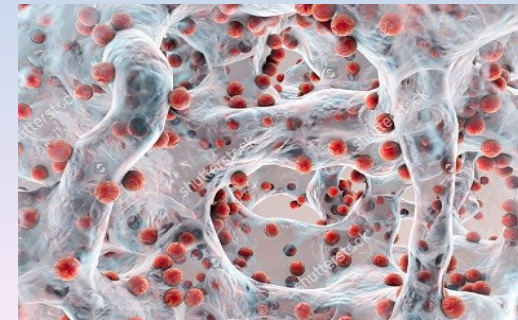


Foto impianto sperimentale e schema biofiltro



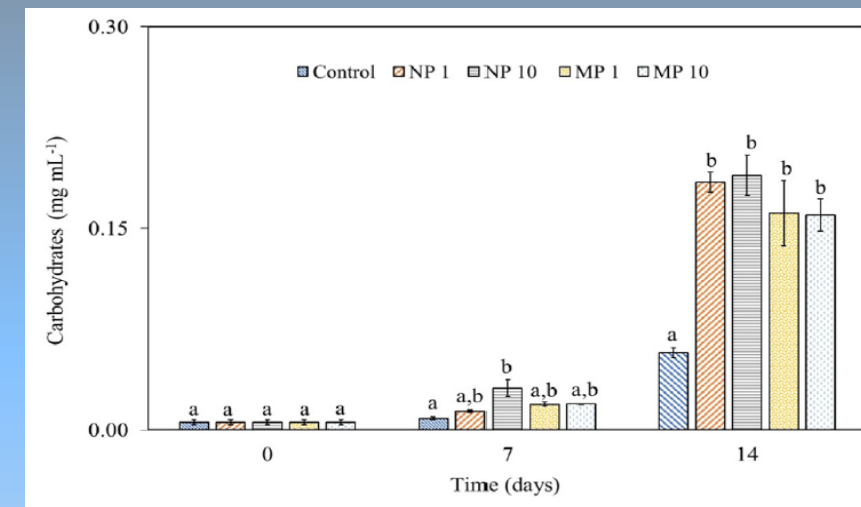
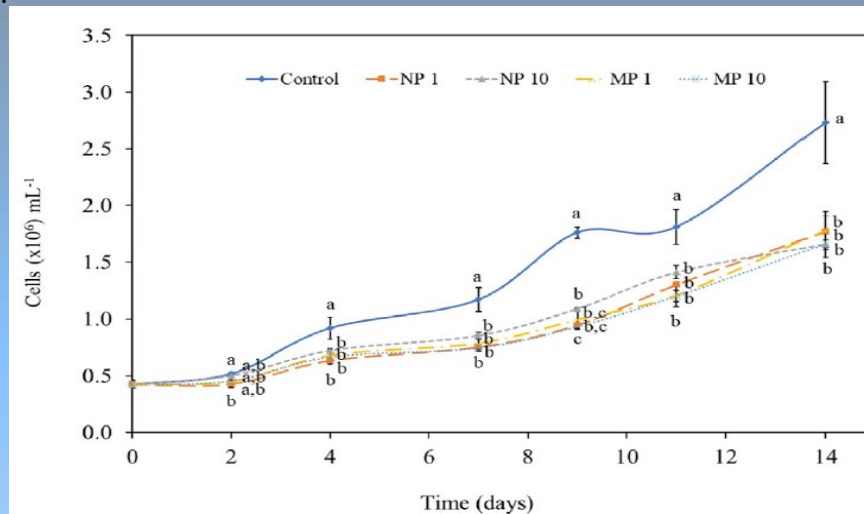
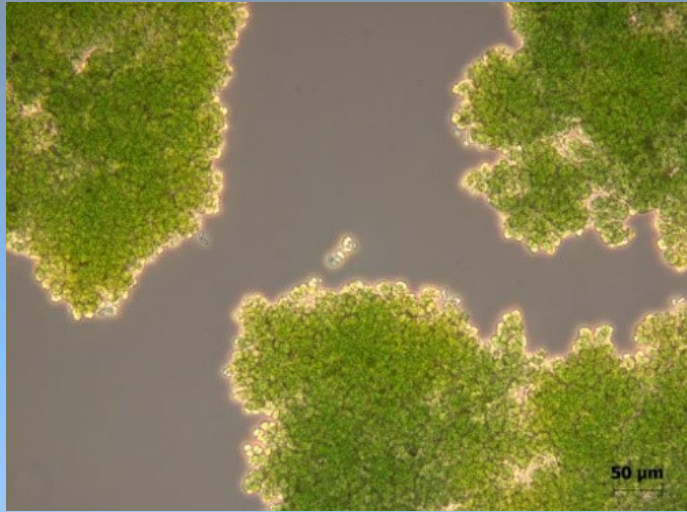
presenza MPs rilevata ai vari livelli del biofiltro

**2) BIOPOLIMERI A BASE MICROALGALICA** Sostanze polimeriche extracellulari, "EPS", costituite prevalentemente da polisaccaridi, proteine, uniti a sostanze umiche, prodotte da attività di secrezione di microrganismi.



esempio di biofilm batterico - fonte sito "lagazzettadelleKoi"

Uno studio (Cunha et al. 2020, Env. Pollution) ha focalizzato la propria attenzione sul comportamento di una microalga unicellulare di acqua dolce *Cianothece* sp., in presenza di micro e nano plastiche a diverse concentrazioni di MPs 10  $\mu\text{m}$  e NPs 0,1  $\mu\text{m}$  di polistirolo, con risultati sorprendenti.



(*Cianothece* sp. - Fonte Culture Collection Yerseke) (grafico crescita colture di *Cianothece* Sp nelle diverse condizioni)

(concentrazione di carboidrati in EPS)

+ carboidrati = maggiore capacità flocculazione  
 cariche negative = cattura metalli pesanti  
**capacità di trattenere MPs**



Alternativa biologica ecocompatibile ai prodotti di sintesi nei processi di un WWTP

**3) EUCARIOTI ACQUATICI SUPERIORI** I microrganismi, possono risultare difficili da contenere all'interno dell'impianto e si potrebbe verificare il loro rilascio indesiderato in ambiente. **Alternativa**: impiego di organismi eucarioti superiori quali macrofite, piante acquatiche, animali (P. Masià et al 2020, Mar. Pol. Bullettin)

- Devono avere origine dall'area in cui vengono utilizzati e la più ampia distribuzione possibile;
- Attuare misure di contenimento all'interno dell'impianto di utilizzo senza immissioni in ambiente durante la coltivazione o allevamento;
- Presentare alta efficienza nella ritenzione, filtrazione ingestione delle MPs;

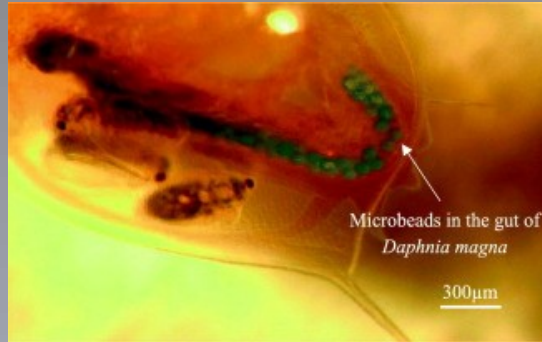
## Animali marini



D.Lgs 4/03/2014 n. 26 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici”.

Ingestione e ritenzione in impianto - Rilascio in tempi differenziati ed in vasche di coltura – Successivo reimpiego

**Quali?** Piccoli crostacei, detritivori, echinodermi, animali bentonici.



*Daphnia magna*



*Arenicola marina*



*Oloturia*

## Piante acquatiche



(*Fucus vesiculosus*)

Alghe superiori come *Fucus vesiculosus* (L. Gutow et al 2015, Env. S. & T.) trattengono le MPs grazie allo strato di polisaccaridi che si forma sulla loro superficie. Pericolo di introduzione delle MPs nella catena trofica. Idonee per coltivazione di specie resistenti in aree controllate adiacenti ad un WWTP, come processo terziario, di trattamento finale degli effluenti.

Obiettivo: riuscire ad individuare alghe che:

- resistano ad un ambiente come quello delle acque reflue;
- possano essere facilmente riproducibili e contenibili all'interno dell'impianto;
- siano di specie autoctone e che si eviti la proliferazione esterna all'impianto per evitare compromissioni alla biodiversità locale.



## CONSIDERAZIONI FINALI

*La presenza di microplastiche è divenuta ubiquitaria e che i problemi ambientali derivanti potranno assumere dimensioni ben più rilevanti con il trascorrere del tempo e con il progredire delle conoscenze sulle conseguenze dipendenti dall'esposizione a tali contaminanti da parte di tutti gli organismi viventi, uomo compreso.*

*Ricerca per indirizzare l'industria verso la **produzione di materiali plastici biocompatili**, mediante uso di polimeri completamente biodegradabili.*

*Le MPs costituiscono un problema prioritario per la loro diffusione in ambiente acquatico di cui i **WWTPs sono tra le principali fonti**.*

*I WWTPs, dovranno essere **implementati di tutte le tecnologie** disponibili per far sì che tale tipologia di contaminanti venga rimossa prima che l'effluente raggiunga il corpo idrico recettore, soluzioni che possono essere ricercate nei processi naturali.*

***Le biotecnologie potenzialmente potrebbero darci le giuste risposte** in termini economici e ambientalmente accettabili.*

*Esistono microorganismi già in grado di **degradare la plastica**, ma l'eterogeneità e la differenziazione di polimeri nei reflui richiedono soluzioni che non siano specie-specifiche.*

*Le attuali prospettive sembrano più indirizzarsi verso biotecnologie che consentano **la rimozione delle microplastiche** dal ciclo idrico per poi procedere allo **smaltimento** in altre forme come l'incenerimento o il conferimento in discarica, piuttosto che verso la loro biodegradazione in composti non pericolosi.*

*Le possibili soluzioni biotecnologiche trattate richiedono tuttavia **ulteriori ricerche affinché si possa passare alla loro migliore applicazione su scala reale** e definire quindi una metodologia che possa eliminare in maniera ecocompatibile la frazione di MPs che gli attuali processi presenti nei WWTPs non sono in grado di trattenerne, al fine di eliminarne l'immissione in ambiente acquatico.*

# RIFERIMENTI

- Cunha, C., Silva, L., Paulo, J., Faria, M., Nogueira, N., & Cordeiro, N. (2020). Microalgal-based biopolymer for nano-and microplastic removal: a possible biosolution for wastewater treatment. "Environmental Pollution", 263, 114385.
- Deng, S., Yu, G., Ting, Y., 2005. Production of a bioflocculant by *Aspergillus parasiticus* and its application in dye removal. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 44 (4), 179e186
- Gies E. A., LeNoble, J. L., Noël, M., Etemadifar, A., Bishay, F., Hall, E. R., & Ross, P. S. (2018). Retention of microplastics in a major secondary wastewater treatment plant in Vancouver, Canada. "Marine pollution bulletin" ,133, 553-561.
- Gutow, L., Eckerlebe, A., Giménez, L., & Saborowski, R. (2015). Experimental evaluation of seaweeds as a vector for microplastics into marine food webs. *Environmental science & technology*, 50(2), 915-923.
- Kavita, K., Singh, V. K., Mishra, A., & Jha, B. (2014). Characterisation and anti-biofilm activity of extracellular polymeric substances from *Oceanobacillus iheyensis*. *Carbohydrate polymers*, 101, 29-35.
- Liu, F., Nord, N. B., Bester, K., & Vollertsen, J. (2020). Microplastics Removal from Treated Wastewater by a Biofilter. "Water", 12(4), 1085.
- Masiá, P., Sol, D., Ardura, A., Laca, A., Borrell, Y. J., Dopico, E., ... & Garcia-Vazquez, E. (2020). Bioremediation as a promising strategy for microplastics removal in wastewater treatment plants. "Marine Pollution Bulletin," 156, 111252.
- Pittura, L., Foglia, A., Akyol, Ç., Cipolletta, G., Benedetti, M., Regoli, F., ... & Fatone, F. (2021). Microplastics in real wastewater treatment schemes: Comparative assessment and relevant inhibition effects on anaerobic processes. "Chemosphere," 262, 128415.
- Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., ... & Giorgini, E. (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. "Environment International," 146, 106274.
- Simon M., Vianello, A., & Vollertsen, J. (2019). Removal of > 10 µm microplastic particles from treated wastewater by a disc filter. *Water*, 11(9), 1935
- Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review."Environmental pollution," 178, 483-492.



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea**

**SCIENZE AMBIENTALI E PROTEZIONE CIVILE**

**"Microplastiche negli impianti di depurazione dei reflui urbani: origine, tipologia, problematiche e prospettive biotecnologiche per la loro rimozione"**

**"Microplastics in urban wastewater treatment plants: origin, type, problems and biotechnological perspectives for their removal"**

Tesi di Laurea di:

Marco Badiali

Docente Referente

Chiar.mo Prof.

Eugenio Rastelli

**Sessione straordinaria Febbraio 2021**

**Anno Accademico 2019 / 2020**

## Sommario

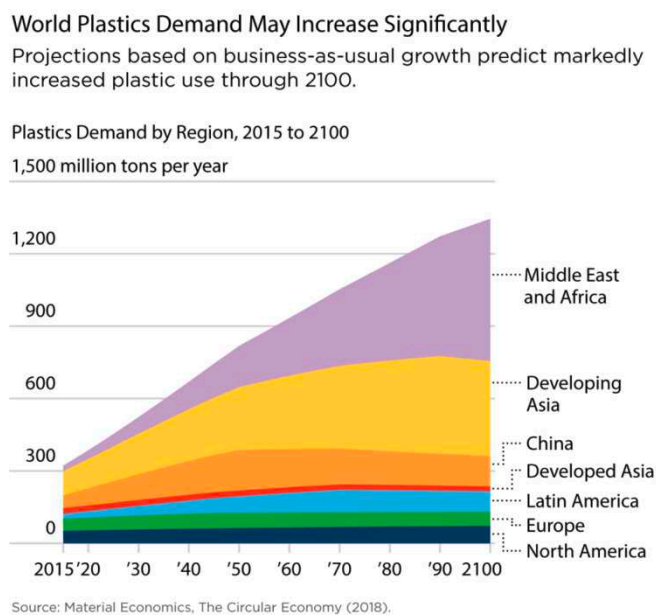
INTRODUZIONE.....	3
ORIGINE DELLE MICROPLASTICHE NEI REFLUI. ....	5
Da dove provengono .....	5
Come si presentano e quali sostanze le compongono.....	6
PROBLEMATICHE CONNESSE ALLA PRESENZA DI MPs NEI FANGHI DI DEPURAZIONE .....	9
PROSPETTIVE BIOTECNOLOGICHE PER LA RIMOZIONE DELLE MPs .....	10
Biofiltri .....	10
Biopolimeri a base microalgale.....	12
Eucarioti acquatici superiori.....	14
Animali marini .....	14
Piante acquatiche .....	15
CONSIDERAZIONI FINALI.....	17
RIFERIMENTI .....	18

## INTRODUZIONE

La produzione di materie plastiche è da decenni in costante aumento e il loro impiego è presente in tutti gli aspetti della vita quotidiana, piccoli oggetti di uso comune, materiali da costruzione, presidi sanitari, bottiglie, parti di automezzi e moltissimi altri impieghi.

Alcune fonti stimano che nel 2017 la produzione annua abbia raggiunto i 347 milioni di tonnellate, destinate ai più svariati usi, grazie alle loro proprietà intrinseche di durabilità, duttilità, resistenza al degrado, leggerezza e basso costo di produzione.

Si prevede che la domanda mondiale di materie plastiche subirà un incremento di crescita con andamento lineare, tale da raggiungere il valore di  $1,5 \times 10^9$  tonnellate entro la fine del ventunesimo secolo, soprattutto nei paesi in via di sviluppo.



(Fonte: report Plastic & Climate, 2019, CIEL)

Previsioni ancor più pessimistiche sostengono invece che il tasso di crescita possa essere esponenziale e che tale valore possa raggiungere addirittura le  $33 \times 10^9$  tonnellate nel 2050 (L. Pittura, et al. 2020, Chemosphere).

Non a caso il termine “plastica” evoca la sensazione di duttile, malleabile, trasformabile a proprio piacimento, resistenza e costituisce il vocabolo con il quale viene identificata una serie di polimeri, prevalentemente di origine sintetica che negli ultimi 50 anni hanno profondamente cambiato il nostro modo di vivere.

Tuttavia alcune di queste caratteristiche ne rendono pericolosa la presenza in ambiente, legata non solo ad uno scorretto smaltimento, ma anche a complessi fattori ambientali che ne determinano la frammentazione (weathering, erosione meccanica), il trasporto (fluviale, correnti marine, dispersione eolica) ed infine l’accumulo.

Si stima che ogni anno circa 8 milioni di tonnellate raggiungano l’oceano e la loro presenza è stata rilevata anche nelle profondità più remote come la Fossa delle Marianne.

La loro presenza in ambiente non pone solo problemi legati ad aspetti paesaggistici, ma costituisce una causa di potenziali rischi ambientali per gli organismi viventi, marini e terrestri, essere umani compresi, sia attraverso danni fisici diretti (es. pesci, tartarughe marine impigliati in reti ed in altri oggetti di plastica), sia attraverso danni fisici indiretti conseguenti al loro ingresso nella catena trofica.

A destare preoccupazione della loro presenza in ambiente acquatico non sono solo gli oggetti di dimensioni maggiori, ma assumono una pericolosità sempre più rilevante anche le classi dimensionali delle microplastiche (da 0,1 a 5 mm) e nanoplastiche (da 1 a 100 nm), frutto della frammentazione di oggetti più grandi (*microplastiche secondarie*) o costituiti da pellet, sfere o granuli sintetizzati in tali dimensioni (*microplastiche primarie*) utilizzati nei prodotti per la cura della persona ed in alcuni processi industriali (fonte EFSA).



(Mps in sabbia)

La pericolosità delle microplastiche (MPs), ubiquitarie e con periodi di degradazione di centinaia di anni, diventa un ulteriore problema per gli organismi, poiché possibili vettori di contaminanti derivanti da agenti patogeni microbici presenti sulla loro superficie, contaminanti organici persistenti (POPs), PCB, IPA, distruttori endocrini, metalli pesanti, lisciviazione di componenti chimici propri della plastica stessa (S. Wright et al., 2013 Env. Poll.).

In alcuni Stati quali Gran Bretagna, Stati Uniti, Canada e anche in Italia con la Legge 27 dicembre 2017, n. 205 (Legge di Bilancio 2018) è stato vietato o comunque limitato il loro impiego nei prodotti cosmetici, mentre l'Unione Europea non ha ancora definito una normativa comunitaria, nonostante le indicazioni già fornite dall'ECHA.

Oltre che dai prodotti per la cura personale, la maggioranza delle MPs presenti in ambiente deriva dal degrado dei rifiuti plastici più grandi e dal lavaggio dei tessuti sintetici.

Oltre alla ormai nota presenza nell'intestino degli animali acquatici, studi recenti ne hanno identificato la presenza nel fegato, reni ed intestino dei topi, accertato effetti di stress ossidativo e confermate come causa di alterazioni al metabolismo energetico. (Deng et al. 2017)

Solo di recente ne è stata dimostrata la preoccupante presenza nella placenta umana (A. Ragusa et al. 2020, Env. Intern.).

## ORIGINE DELLE MICROPLASTICHE NEI REFLUI.

Focalizziamo la nostra attenzione sulla presenza delle MPs in ambiente acquatico, che costituisce il sistema ecologico dove esse possono diffondersi più rapidamente e altrettanto rapida ne è l'interazione con gli organismi viventi.

Gli impianti di trattamento delle acque reflue urbane (WWTPs) rappresentano una rilevante fonte di emissione di microplastiche, soprattutto in virtù degli importanti volumi di acqua trattata.

Nei corpi idrici recettori, in punti di prelievo posti a valle del luogo di emissione degli effluenti provenienti dai WWTPs sono state rilevate concentrazioni di MPs superiori rispetto a quanto sia stato rilevato a monte degli impianti stessi, indice della loro presenza nell'effluente in uscita dal WWTP

### Da dove provengono

Pur essendone stato vietato o limitato l'impiego in alcuni paesi, un importante contributo proviene dall'impiego di prodotti per la cura della persona.



(Fonte: TG.SKY24.it)

Un'altra importante fonte di MPs è costituita di processi di lavaggio di tessuti sintetici di uso comune e di tipo tecnico, durante i quali avviene il rilascio di centinaia di migliaia di fibre, le più difficili da rimuovere proprio per le loro caratteristiche morfologiche.



(fonte:vestilana.tura.it)

In Italia la maggior parte delle reti di drenaggio urbano è costituita da sistemi di "acque miste" dove vengono convogliati sia i reflui domestici o assimilabili, industriali e agricoli (previo trattamento preliminare), sia le acque piovane proveniente dal runoff di strade piazze, tetti, superfici impermeabilizzate in genere.

Questa caratteristica fa sì che un'altra importante fonte di MPs sia costituita dalle particelle derivanti dall'usura degli pneumatici dei veicoli depositatisi sulle strade in tempo asciutto e incanalate nelle fognature in tempo di pioggia, a loro volta associate a contaminanti di vario tipo inclusi i metalli pesanti.



(Polvere di pneumatici - fonte sicurauto.it)



(Detriti di varia provenienza)

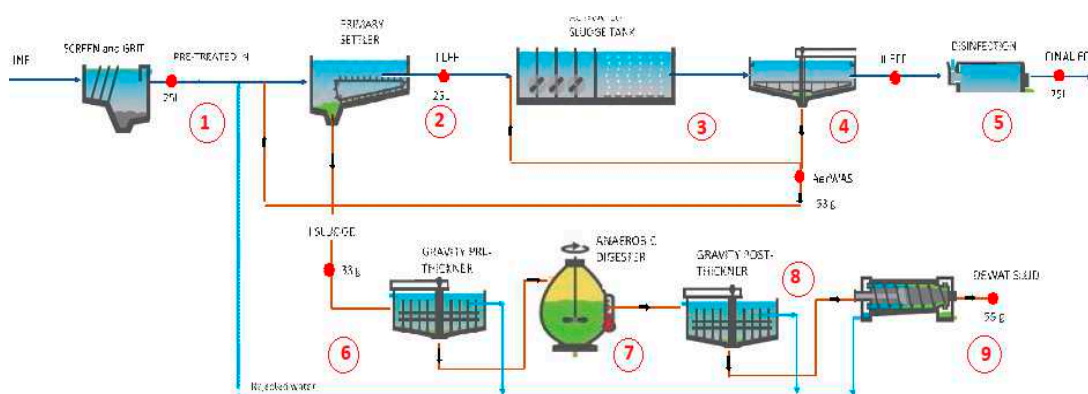
Oltre a queste MPs, nelle acque piovane si possono trovare detriti plastici di varie dimensioni nonché MPs derivanti dalla lisciviazione di vernici additate con polimeri plastici.

Pertanto, una combinazione di MPs primarie e secondarie entra giornalmente nei WWTPs, in concentrazioni diverse, ed i polimeri più frequentemente rilevati includono frammenti di polietilene (PE), polipropilene (PP), poliestere (PEST), polivinilcloruro (PVC), poliuretano (PUR) ed altri.

#### Come si presentano e quali sostanze le compongono.

Per identificare la possibile composizione, nonché forma delle MPs in arrivo in un WWTP prendiamo a riferimento uno studio condotto dall'Università Politecnica delle Marche, in collaborazione con altri Atenei, sulla base dei dati ottenuti dall'attività di monitoraggio dell'impianto di depurazione intercomunale "Vallechiara", situato a Falconara M.ma (AN), la cui potenzialità di trattamento è pari a circa 80.000 abitanti equivalenti, con una portata media trattata di  $18.000 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ . (L. Pittura, et al. 2020)

Per capire meglio i dati che verranno forniti ricordiamo con uno schema di processo come avviene il trattamento dei reflui in un WWTP come quello oggetto dello studio.



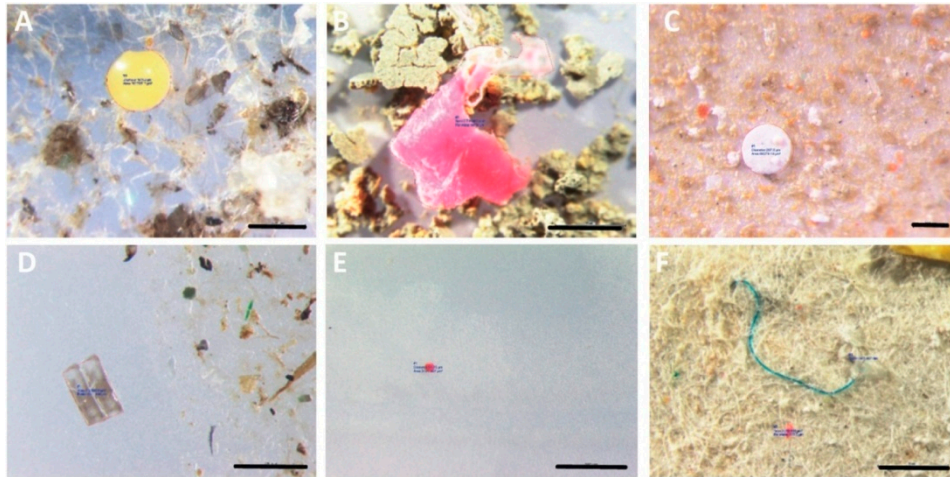
(elaborazione schema grafico tratto da Chemosphere - Pittura, Foglia, C.Akyol et al. 2020)

- Linea acque** 1= grigliatura, dissabatura, disoleatore 2=sedimentatore primario 3=vasca di ossidazione  
4=sedimentatore secondario 5=disinfezione
- Linea fanghi** 6=ispessitore primario 7=digestore anaerobico 8=ispessitore secondario 9=separatore centrifugo



Qui si è provveduto ad identificare le Mps in arrivo all'impianto di depurazione e in ogni singola fase di processo differenziandole:

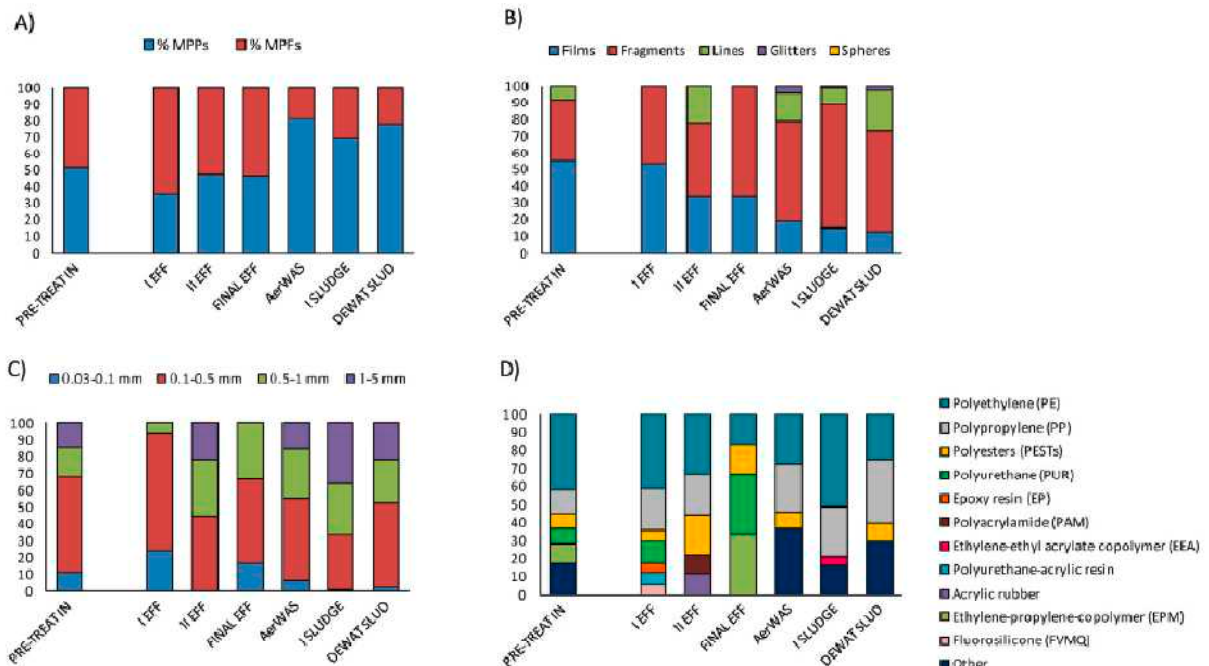
- in base alla morfologia: suddividendole in materiale fibroso MPFs, o in materiale particolato MPPs a sua volta costituito da frammenti, linee, films, sfere;
- In base alla classe dimensionale;
- In base alla tipologia di polimero.



Esempi di MPs riscontrate in un impianto di depurazione (A) pellet barra di scala 500  $\mu$ m, (B) frammento, barra di scala 1 mm, (C) schiuma, barra di scala 200  $\mu$ m, (D) film barra di scala 500  $\mu$ m, (E) granulo barra di scala 500  $\mu$ m (F) fibra barra di scala 1 mm (Fonte E.A. Giesa et al 2018, M. Pollution Bulletin)

Nel grafici seguenti vediamo riportate rispettivamente per ogni singolo processo:

- ripartizione tra MPPs e MPFs dove riscontriamo una sostanziale equa distribuzione tra le due tipologie dimensionali in ingresso all'impianto, mentre nelle successive fasi si ha una prevalenza delle MPPs.
- frequenza delle forme delle MPPs, suddivise in fili, frammenti, sfere e glitters
- le relative classi dimensionali dove in ciascuna fase di processo risulta prevalere la frazione di dimensioni comprese tra 0,1 e 0,5 mm
- tipologia dei polimeri, dove da un iniziale eterogeneità in ingresso si passa ad una successiva diversificazione finale tra la "linea acque" e la "linea fanghi"



(schema grafico tratto da Chemosphere - Pittura, Foglia, C.Akyol et al. 2020)

Il valore unitario di concentrazione in ingresso risulta in linea con quello rilevato in altri studi condotti sia a livello nazionale che europeo.

Eventuali variazioni dipendono dalla tipologia della rete fognaria, dal periodo del campionamento e dalla presenza di attività agricole o industriali.

I dati sintetizzati dai grafici ci danno le informazioni relative alle ripartizioni delle varie forme, tipologia dei materiali, dimensioni ma l'informazione più importante è capire se un WWTP sia in grado o meno di rimuovere le MPs dai reflui, prima di restituire le acque nei corpi idrici ricettori.

Le diverse tecnologie adottate dalla quasi totalità dei WWTP esistenti non sono state concepite con l'obiettivo di abbattere tale categoria di contaminanti emergenti, tuttavia i processi fisici e biologici già implementati sembrano fornire una prima risposta alla nostra esigenza di ridurre la presenza di MPs nell'effluente finale.

Dallo studio preso in esame, i campionamenti effettuati lungo le linee di processo hanno evidenziato una capacità di ritenzione delle MPs in termini di elementi presenti pari all'86% (residuo finale 14%).

Sampling point	Concentration (MPsL <sup>-1</sup> )	Load (MPsh <sup>-1</sup> 10,000 <sup>-1</sup> )	Distribution (%)
PRE-TREATED IN	3.64	1217	100
I EFF	1.9	639	53
II EFF	0.76	253	21
FINAL EFF	0.52	173	14

Altri studi hanno tuttavia evidenziano una efficienza di rimozione con valori superiori al 90% (*Bayo et al. 2020, Blair et al. 2019, Edo et Al. 2020*) in funzione dei parametri normalmente monitorati quali portata in ingresso in tempo asciutto e in caso di pioggia, tempo di ritenzione e della tipologia di processo impiegato (aerobico, anaerobico, eventuali trattamenti terziari appositamente dedicati).

Nonostante le percentuali di rimozione mostrino un indice di valore elevato, bisogna tenere conto che i volumi di reflui trattati dai WWTPs sono importanti.

Se consideriamo il WWTP preso in esame, con una potenzialità di soli 80.000 a.e. ed una portata media trattata di  $18 \times 10^6$  l/d avremo una immissione nel corpo idrico recettore di

$$18 \times 10^6 \times 0,52 = 9,36 \times 10^6 \text{ MPs/d.}$$

Questi dati evidenziano quindi l'estrema importanza di tenere sottocontrollo le MPs e di promuovere l'adozione di validi sistemi di contenimento e rimozione.

Tuttavia attualmente non esiste una normativa che imponga la rimozione delle MPs o che ne fissi dei limiti di concentrazione nelle acque reflue prima che esse raggiungano il corpo idrico recettore.

## PROBLEMATICHE CONNESSE ALLA PRESENZA DI MPs NEI FANGHI DI DEPURAZIONE

Abbiamo visto come una gran parte delle MPs venga in ogni caso trattenuta nel normale processo di depurazione dei reflui in un WWTP, ma qual è il loro destino?

La risposta è semplice in quanto le MPs, separate dalle acque che verranno reintrodotte in ambiente, sono trattenute nei fanghi di depurazione ottenuti dai processi fisico – biologici di sedimentazione primaria, formazione dei fanghi attivi e sedimentazione secondaria.

La diretta conseguenza è che il problema della presenza delle MPs viene trasferito dalle acque ai fanghi prodotti, i quali, dopo i processi di stabilizzazione biologica, potrebbero essere utilizzati come ammendanti in agricoltura e quindi costituire una fonte di contaminazione con accumulo da MPs nei sistemi agricoli e con possibili ulteriori diffusioni nei sistemi acquatici per effetto del dilavamento da piogge dei terreni.



Tale prospettiva pone l'attenzione sulla reale possibilità di utilizzare i fanghi per scopi agricoli, suggerendone un destino diverso in impianti di incenerimento, cementifici o in discariche controllate.

Lo studio condotto su un impianto pilota costituito da un reattore anaerobico a letto di fango con flusso ascendente **UASB**, associato ad un reattore anaerobico a membrana **AnMBR** (L.Pittura, A. Foglia et al. 2020) ha inoltre evidenziato che all'aumentare della concentrazione di MPs in polipropilene si ha una riduzione dell'attività metanogenica, in percentuale variabile proporzionalmente alla concentrazione di MPs

Altri studi condotti con MPs derivanti da polimeri diversi hanno evidenziato tassi di inibizione fino al 90% in presenza di MPs in PVC con concentrazioni di oltre 60 MPs\*gr<sup>-1</sup> di solidi totali.

Ne deriva quindi una evidente interferenza nei normali processi di depurazione anaerobici con evidenti perdite di performance nei processi biologici.

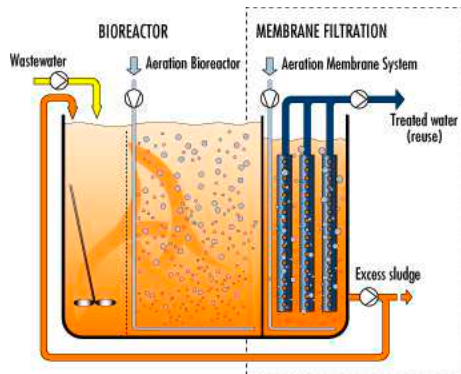
Di seguito una tabella riassuntiva dei risultati degli studi citati.

Type of MPs/ NPs	Concentration	Process	Inhibition on methanogenesis	Inhibition note	Reference
PESTs-MPs	1000-200,000 MP kg WAS <sup>-1</sup>	Lab-scale AD of WAS	88.53%-95.08%	-	Li et al. (2020)
PET-MPs	15-300 MPs L <sup>-1</sup>	Lab-scale UASB treating simulated wastewater	17.2%-28.4%	Suppression of the production of extracellular polymeric substances	Zhang et al. (2020b)
PE-MPs	10-200 MPs gTS <sup>-1</sup>	Lab-scale AD of WAS	12.4%-27.5%	Induction of reactive oxygen species	Wei et al. (2019a)
PVC-MPs	10-60 MPs gTS <sup>-1</sup>	Lab-scale AD of WAS	75.8%-90.6%	BPA leaching	Wei et al. (2019b)
PS-NPs	0.2 NPs gTS <sup>-1</sup>	Lab-scale AD of sewage sludge	14.4%-40.7%	-	Fu et al. (2018)
PP-MPs	18-50 MPs gTS <sup>-1</sup>	Pilot-scale UASB treating municipal wastewater	4%-58%	-	L.Pittura, A.Foglia et al. 2020

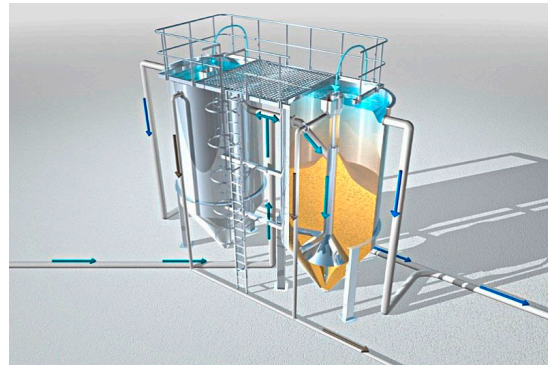
## PROSPETTIVE BIOTECNOLOGICHE PER LA RIMOZIONE DELLE MPs

Preso atto che la presenza di MPs nelle acque reflue sia un problema con importanti conseguenze ambientali, la sfida che la comunità tecnico scientifica dovrà sostenere riguarda lo studio e l'adozione di processi che consentano la rimozione di tali contaminanti dagli effluenti in uscita dai WWTPs, senza però spostare il problema verso altri comparti ecologici.

Dal punto di vista ingegneristico sono stati raggiunti soddisfacenti risultati con l'adozione di trattamenti di ultrafiltrazione con bioreattori a membrana, o con trattamenti terziari con filtri a letti di sabbia, ma tali sistemi richiedono una manutenzione accurata per evitare fouling e scarsa efficienza, ed inoltre essi lavorano con valori di portata necessariamente non elevati.



(bioreattore a membrana fonte Lenntech)



(filtro a letto di sabbia fonte Huber Technology)

In ogni caso con entrambe le tecnologie ci troviamo di fronte al problema di fanghi contaminati e comunque non utilizzabili in agricoltura senza incorrere nei problemi già visti.

Se volessimo invece adottare una **biotecnologia**, quali sono le conoscenze acquisite e le tecnologie disponibili?

Ad oggi non ci risultano realizzati impianti in scala reale appositamente dedicati al trattamento delle microplastiche presenti nei reflui, tuttavia grazie al crescente interesse collettivo, il problema è stato affrontato in via sperimentale mediante la realizzazione di impianti in scala pilota che sfruttano le opportunità offerte da diversi organismi a partire da quelli unicellulari, fino ad arrivare a quelli più complessi.

Andremo ad analizzare qualcuna di queste tecnologie per capirne le caratteristiche e le eventuali possibilità di sviluppo.

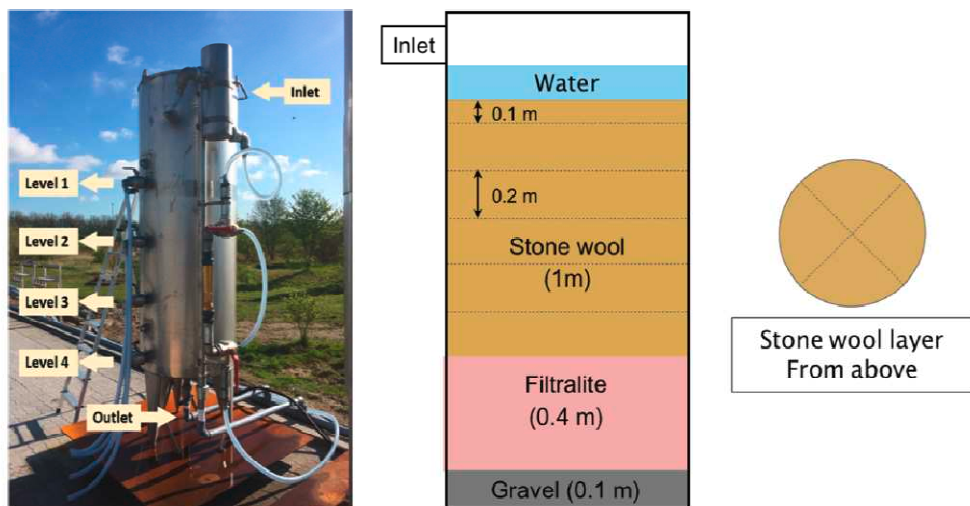
### **Biofiltri**

Un biofiltro è costituito da un supporto sulla superficie del quale si sviluppa una comunità di microrganismi sufficientemente coesa fino a formare un vero e proprio biofilm che ne riveste tutta la superficie.

La massa di microrganismi, che cresce su tale supporto, irrorata in vari modi con i reflui, viene utilizzata per degradare biologicamente il carico organico presente.

È un processo che avviene in condizioni aerobiche e i microrganismi utilizzano il carico organico come fonte di carbonio e di energia per trasformarlo in biomassa.

Uno studio danese degli atenei di Aalborg e Aarhus (F.Liu, N.B. Nord et al. 2020) ha voluto verificare in scala pilota le possibilità di ritenzione delle MPs presenti nei reflui mediante l'utilizzo di un biofiltro a flusso verticale che vediamo di seguito rappresentato sia in fotografia che sintetizzato nello schema di impianto.



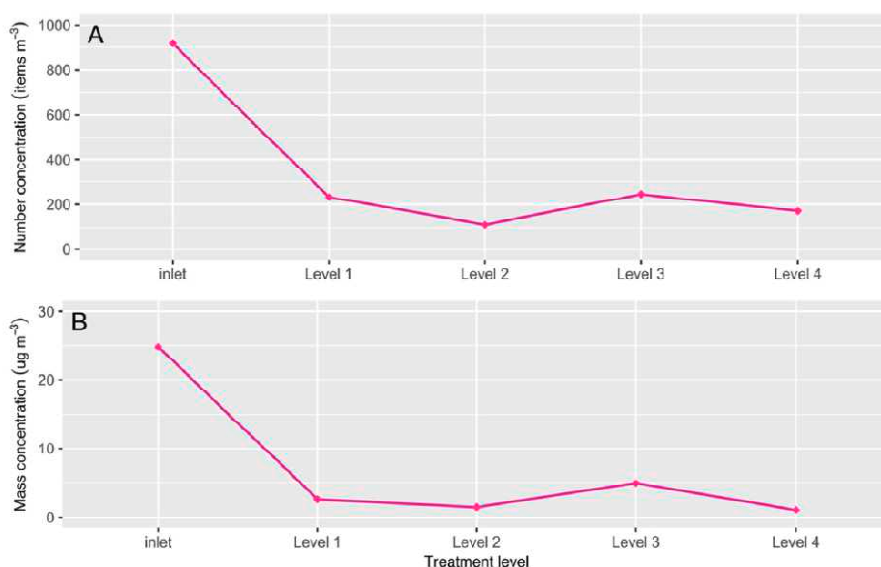
(foto impianto sperimentale e schema biofiltro)

Il biofiltro è stato inizialmente alimentato in immersione per alcune settimane con effluenti grezzi affinché si sviluppasse la comunità microbica necessaria e giunta a maturazione è stato messo in esercizio.

I campionamenti sono stati eseguiti su quattro livelli successivi della sezione filtrante allo scopo di verificare l'andamento della capacità di ritenzione delle MPs su ciascun livello.

Dopo la necessaria preparazione dei campioni prelevati, l'identificazione e la quantificazione delle microplastiche presenti sono avvenute mediante spettroscopia infrarossa.

La capacità di rimozione del biofiltro può essere sintetizzata con i seguenti grafici dove sono stati riportati i risultati dei campionamenti



(presenza MPs rilevata ai vari livelli del biofiltro)

Si può apprezzare subito a prima vista che nella prima parte del biofiltro si è riscontrata la capacità di rimozione più alta di tutto il sistema, risultato probabilmente dovuto alla ritenzione delle MPs con dimensioni maggiori.

Complessivamente è stata valutata una capacità di ritenzione delle MPs del **78,5%** in termini di esemplari e del **95,6 %** in termini di massa, risultati paragonabili a quelli ottenuti in un altro studio danese (Simon et al. 2019) condotto su un impianto a biodischi.

I buoni risultati ottenuti derivano dalla capacità del biofilm di trattenere le MPs. Tale capacità a sua volta

viene ulteriormente incrementata dal materiale trattenuto, sulle superficie del quale si sviluppa ulteriormente uno strato di biofilm che aumenta la capacità di cattura di fibre e particelle.

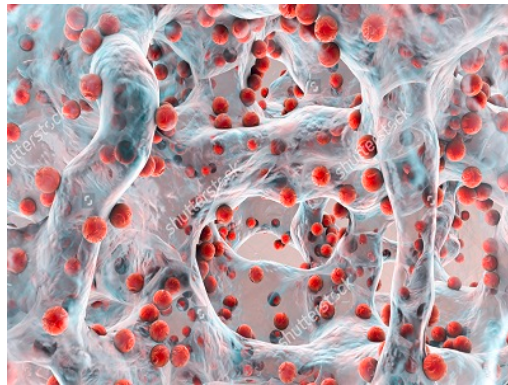
### ***Biopolimeri a base microalgolica***

Quando parliamo di biopolimeri ci riferiamo a quelle sostanze polimeriche extracellulari, brevemente denominate “EPS”, costituite prevalentemente da polisaccaridi, proteine, uniti a sostanze umiche, prodotte da attività di secrezione di microrganismi.

Gli EPS sono presenti nei fiocchi dei fanghi attivi e nei biofilm nei quali svolgono attività di protezione della comunità microbica presente, ne regolano gli scambi con l'esterno, contribuiscono all'adesione alle superfici.

Sono sostanze completamente biodegradabili che hanno suscitato grande interesse dal punto di vista industriale in molteplici applicazioni e date le loro proprietà di gelificazione, viscosità, creazione di una vera e propria rete di polimeri legati covalentemente, le loro capacità di stabilire interazioni elettrostatiche, forze di Van Der Waals, ne consentirebbero un impiego quali agenti flocculanti sostitutivi dei prodotti di sintesi impiegati nei processi di depurazione dei reflui.

Tali proprietà ne suggeriscono un possibile impiego anche per la rimozione di micro e nanoplastiche presenti nelle acque reflue in ingresso in un WWTP.



(esempio di biofilm batterico - fonte sito "lagazzettadelleKoi")

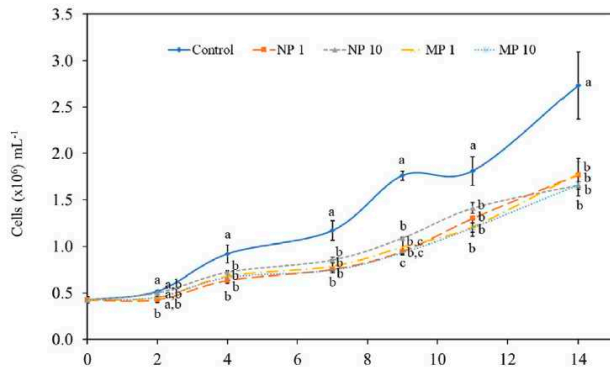
Uno studio portoghese (*Cunha et al. 2020*) ha focalizzato la propria attenzione sul comportamento di una microalga unicellulare di acqua dolce *Cianothece sp.* (5-10  $\mu\text{m}$ ), in presenza di micro e nano plastiche.

La microalga era stata già utilizzata in processi di risanamento ambientale per la sua capacità di produrre EPS.

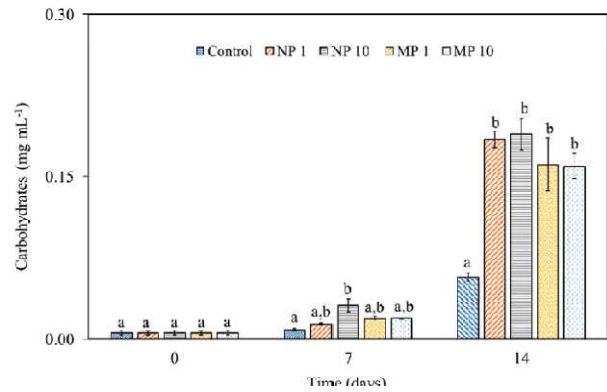


(*Cianothece sp.* - Fonte Culture Collection Yerseke)

Durante la ricerca la microalga è stata sottoposta a coltura in esposizione a diverse concentrazioni di MPs 10  $\mu\text{m}$  e NPs 0,1  $\mu\text{m}$  di polistirolo, con risultati sorprendenti.



(grafico crescita colture di *Cyanotheca Sp* nelle diverse condizioni)

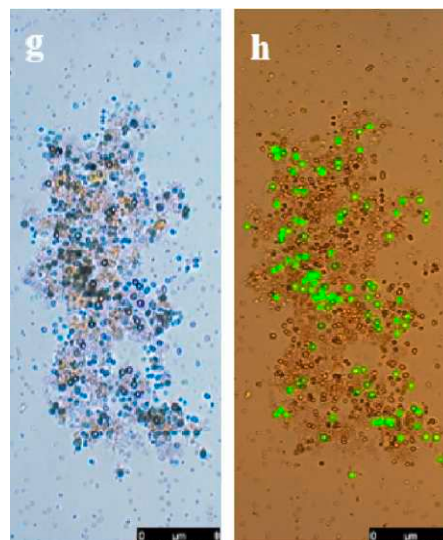


(concentrazione di carboidrati in EPS)

Come evidenziato nel grafico di sinistra i campioni contenenti MPs e NPs hanno mostrato un rallentamento nella proliferazione fin dal terzo giorno di osservazione.

Come invece riportato nel grafico di destra, dopo 14 giorni, i campioni esposti alle micro e nano plastiche hanno prodotto un quantitativo di carboidrati presenti nell'EPS molto superiore rispetto ai campioni di controllo, evidenziando una reazione tipica di un meccanismo di autodifesa messo in atto dalle microalghe.

E' stata inoltre rilevata l'eterogeneità degli aggregati presenti nei campioni costituiti da microalghe, EPS, micro e nano plastiche, dimostrando la capacità di *Cyanotheca sp.* di formare colonie in grado di assorbire le MPs morfologicamente irregolari ed in un ampio campo dimensionale, grazie anche all'aumentata viscosità degli EPS prodotti a seguito della variazione dell'espressione dei geni coinvolti nella sintesi dei carboidrati costituenti l'EPS stesso che risulta altamente stabile.



(Micrografia in condizioni di concentrazione di  $10 \text{ mg L}^{-1}$  con eteroaggregati di *Cyanotheca sp.* a destra le MPs evidenziate in fluorescenza)

Altri studi (Deng et al 2005 e Kavita et al. 2014) hanno dimostrato che gli EPS con una elevata frazione di carboidrati presentano una maggiore capacità di flocculazione e la presenza di aminoacidi caricati negativamente conferisce agli EPS proprietà anioniche tali da renderli idonei in processi di ritenzione dei metalli pesanti.

Tutte queste caratteristiche rendono interessante l'impiego nelle diverse fasi di trattamento delle acque reflue dimostrando che le sostanze polimeriche extracellulari prodotte da *Cyanotheca sp.* possono costituire una alternativa biologica altamente eco-compatibile all'impiego di sostanze di sintesi, con la capacità di ridurre anche l'inquinamento da MPs degli ambienti acquatici, intervenendo

positivamente sulla frazione di MPs che i processi attualmente impiegati nei WWTPs non riescono a trattenerne.

### ***Eucarioti acquatici superiori.***

Il biorisanamento da MPs negli impianti di trattamento delle acque reflue offre interessanti possibilità, ma i microrganismi che potrebbero essere impiegati e fino ad ora più studiati, quali batteri, funghi e microalghe, in alcuni casi possono risultare difficili da contenere all'interno dell'impianto e si potrebbe verificare il loro rilascio indesiderato in ambiente.

Uno studio dell'Università di Oviedo (E) (Masiá, Sol et al. 2020) ha voluto considerare la possibilità di impiegare organismi eucarioti superiori quali animali, macrofite e piante acquatiche, in quanto specie alle quali è stata fino ad ora prestata minore attenzione.

Tuttavia occorre tener conto che l'utilizzo di specie animali deve rispettare quanto dettato dalla Direttiva europea 2010/63/UE, recepita in Italia con DLgs 4 marzo 2014, n. 26 "Attuazione della Direttiva n. 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici".

In particolare vengono esclusi quelli di cui sono riconosciute le capacità di sofferenza.

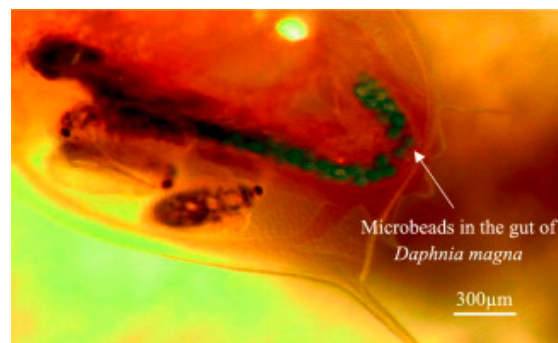
Altre caratteristiche che devono essere soddisfatte per il loro impiego:

- avere origine dall'area in cui vengono utilizzati per non compromettere la biodiversità con l'introduzione di specie aliene;
- avere la più ampia distribuzione possibile;
- rispettare le misure di contenimento all'interno dell'impianto di utilizzo senza immissioni in ambiente durante la coltivazione o allevamento;
- alta efficienza nella ritenzione, filtrazione ingestione delle MPs;
- non subire danni dall'interazione con le MPs

### **Animali marini**

Tutti gli animali marini ingeriscono microplastiche, da quelli più semplici costituenti lo zooplancton a quelli più complessi, ma ciò che li differenzia e che costituisce una qualità fondamentale per essere dei possibili candidati all'impiego quali strumenti di ritenzione delle microplastiche è appunto la capacità di trattenerle senza rilasciarle rapidamente in ambiente.

In alcuni casi questa capacità può anche dipendere dalla forma delle MPs, infatti è noto che un piccolo crostaceo ampiamente utilizzato in ricerche eco tossicologiche, la *Daphnia magna*, li espelle o li trattiene in base alla loro forma.



Fonte Patrick M.Canniff, Tham C.Hoang

In altri casi questa capacità dipende dal modo di alimentarsi dell'animale.



E' stato infatti accertato che animali detritivori come alcuni echinodermi o filtratori come i mitili hanno capacità di ritenzione più alte ma per tempi ridotti.

Tra gli abitanti del bentos marino vale la pena di citare l'arenicola marina che presenta buone capacità di ritenzione e le oloturie che invece sembrano prediligere selezionate particelle di plastica.



(*Arenicola marina* fonte Researchgate)



(*Oloturia* fonte LaStampa.it)

Tuttavia, un loro impiego è subordinato all'esecuzione di ulteriori accertamenti sui possibili danni alla salute o sulla sofferenza delle due specie in condizioni di trattamento in rispetto della sovra citata normativa.

Come sfruttarne le potenzialità?

Le specie idonee in grado di trattenere le MPs nel loro apparato digestivo, potrebbero essere esposte alle MPs per il tempo massimo prima dell'insorgenza di eventuali fenomeni nocivi, successivamente posizionate in vasche di acqua coltura per consentirne lo spurgo ed infine ricollocate nel WWTP per un nuovo ciclo.

Le MPs espulse potranno poi essere raccolte e smaltite.

### Piante acquatiche

Se la possibilità di causare sofferenza costituisce un ostacolo all'impiego di specie animali, tale aspetto non pone limite nell'utilizzo di specie vegetali.

Abbiamo visto che l'utilizzo di microalghe può costituire un interessante prospettiva e alcune specie di alghe superiori come il *Fucus vesiculosus* riescono a trattenere sulla loro superficie le MPs, capacità che appartiene anche altre specie di alghe anche grazie allo strato di polisaccaridi che si forma sulla loro superficie. (L. Gutow et al 2015, Env. S. & T.)



(*Fucus vesiculosus* – fonte algaebase)

In natura ciò potrebbe costituire un problema in quanto gli organismi marini erbivori, cibandosi di tali alghe, potrebbero introdurre le MPs all'interno della rete trofica.

Tuttavia, la coltivazione di specie resistenti in aree controllate adiacenti ad un WWTP, come un vero e proprio processo terziario, potrebbe favorirne l'uso come trattamento finale degli effluenti prima dell'immissione nel corpo idrico recettore in acque marine o salmastre.

Per quanto riguarda invece le macrofite di acqua dolce ancora non si hanno sufficienti studi a riguardo sebbene alcune di esse abbiano già dimostrato la propria utilità in altri processi di biorisanamento.

In ogni caso la strada da seguire è quella di riuscire ad individuare alghe che:

- resistano ad un ambiente come quello delle acque reflue;
- possano essere facilmente riproducibili e contenibili all'interno dell'impianto;
- siano di specie autoctone e che si eviti la proliferazione esterna all'impianto per evitare compromissioni alla biodiversità locale.

A seconda dei meccanismi di ritenzione utilizzati, dopo il loro impiego, le piante acquatiche intere o le sole parti di esse che hanno trattenuto le MPs, saranno poi avviate a smaltimento nelle dovute forme.

## CONSIDERAZIONI FINALI

I dati oggi in nostro possesso ci evidenziano come la presenza di microplastiche sia divenuta ubiquitaria e che i problemi ambientali da essa derivanti possano assumere dimensioni ben più rilevanti con il trascorrere del tempo e con il progredire delle conoscenze sulle conseguenze dipendenti dall'esposizione a tali contaminanti da parte di tutti gli organismi viventi, uomo compreso.

La diffusione della plastica dispersa in ambiente è tale che se anche oggi smettessimo di produrla, ne rileveremmo la presenza in tutti gli ecosistemi e ne subiremmo gli effetti per centinaia di anni.

Prioritariamente, la ricerca deve poter indirizzare l'industria verso la produzione di materiali plastici biocompatibili, mediante uso di polimeri completamente biodegradabili.

Attualmente le microplastiche costituiscono un problema prioritario soprattutto per la loro diffusione in ambiente acquatico di cui i WWTPs sono tra le principali fonti.

Tali impianti, non progettati per trattare le MPs, in futuro dovranno essere implementati di tutte le tecnologie che saranno disponibili per far sì che tale tipologia di contaminanti venga rimossa prima che l'effluente raggiunga il corpo idrico recettore.

L'ingegneria ha messo a disposizione soluzioni avanzate, ma come spesso accade è dai processi naturali e quindi nelle biotecnologie che potremmo trovare la soluzione che potenzialmente possa darci le giuste risposte in termini economicamente e ambientalmente accettabili.

Esistono microorganismi già in grado di degradare la plastica, ma l'eterogeneità e la differenziazione di polimeri nei reflui richiedono soluzioni che non siano specie-specifiche.

Oltre agli esempi già visti, è noto che alcune larve di insetto (es. *Tenebrio molitor*, *Plodia interpunctella*) possiedono enzimi digestivi e microbiomi in grado di degradare anche miscele di polimeri come polietilene e polistirolo (*Brandon, et al 2019*), ma in ogni caso la difficoltà rimane quella di individuare processi di degradazione che possano essere utilizzati all'interno dei WWTPs e siano in linea con i tempi di ritenzione dei reflui all'interno degli impianti stessi.

Non si esclude che ulteriori progressi biotecnologici potrebbero portare a interessanti scoperte per selezionare consorzi microbici in grado di procedere con la biodegradazione delle MPs nelle acque reflue.

Quindi le attuali prospettive sembrano più indirizzarsi verso biotecnologie che consentano la rimozione delle microplastiche dal ciclo idrico per poi procedere allo smaltimento in altre forme come l'incenerimento o il conferimento in discarica, piuttosto che verso la loro biodegradazione in composti non pericolosi.

Le possibili soluzioni biotecnologiche trattate richiedono tuttavia ulteriori ricerche affinché si possa passare alla loro migliore applicazione su scala reale e definire quindi una metodologia che possa eliminare in maniera ecocompatibile la frazione di MPs che gli attuali processi presenti nei WWTPs non sono in grado di trattare, al fine di eliminarne l'immissione in ambiente acquatico.

## RIFERIMENTI

- Brandon, A. M., & Criddle, C. S. (2019). Can biotechnology turn the tide on plastics?. *Current opinion in biotechnology*, 57, 160-166.
- Cunha, C., Silva, L., Paulo, J., Faria, M., Nogueira, N., & Cordeiro, N. (2020). Microalgal-based biopolymer for nano-and microplastic removal: a possible biosolution for wastewater treatment. *“Environmental Pollution”*, 263, 114385.
- Deng, S., Yu, G., Ting, Y., 2005. Production of a bioflocculant by *Aspergillus parasiticus* and its application in dye removal. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 44 (4), 179e186
- Deng, Y., Zhang, Y., Lemos, B., & Ren, H. (2017). Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
- Gies, E. A., LeNoble, J. L., Noël, M., Etemadifar, A., Bishay, F., Hall, E. R., & Ross, P. S. (2018). Retention of microplastics in a major secondary wastewater treatment plant in Vancouver, Canada. *“Marine pollution bulletin”* ,133, 553-561.
- Gutow, L., Eckerlebe, A., Giménez, L., & Saborowski, R. (2015). Experimental evaluation of seaweeds as a vector for microplastics into marine food webs. *Environmental science & technology*, 50(2), 915-923.
- Kavita, K., Singh, V. K., Mishra, A., & Jha, B. (2014). Characterisation and anti-biofilm activity of extracellular polymeric substances from *Oceanobacillus iheyensis*. *Carbohydrate polymers*, 101, 29-35.
- Liu, F., Nord, N. B., Bester, K., & Vollertsen, J. (2020). Microplastics Removal from Treated Wastewater by a Biofilter. *“Water”*, 12(4), 1085.
- Masiá, P., Sol, D., Ardura, A., Laca, A., Borrell, Y. J., Dopico, E., ... & Garcia-Vazquez, E. (2020). Bioremediation as a promising strategy for microplastics removal in wastewater treatment plants. *“Marine Pollution Bulletin,”* 156, 111252.
- Pittura, L., Foglia, A., Akyol, Ç., Cipolletta, G., Benedetti, M., Regoli, F., ... & Fatone, F. (2021). Microplastics in real wastewater treatment schemes: Comparative assessment and relevant inhibition effects on anaerobic processes. *“Chemosphere,”* 262, 128415.
- Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., ... & Giorgini, E. (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *“Environment International,”* 146, 106274.
- Simon, M., Vianello, A., & Vollertsen, J. (2019). Removal of > 10 µm microplastic particles from treated wastewater by a disc filter. *Water*, 11(9), 1935.
- Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *“Environmental pollution,”* 178, 483-492.