



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Magistrale
Biologia marina

**CARATTERIZZAZIONE DI MICROPLASTICHE E MICROFIBRE IN
ACQUA E IN MITILI DELLA RIVIERA DEL CONERO
(MARE ADRIATICO)**

**CHARACTERIZATION OF MICROPLASTICS AND MICROFIBERS
IN WATER AND MUSSELS OF CONERO RIVIERA
(ADRIATIC SEA)**

Tesi di Laurea Magistrale di:

Lorenzo Di Fazio

Relatore:

Prof.ssa Maura Benedetti

Correlatore:

Dott.ssa Lucia Pittura

Sessione luglio 2022

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1 <i>Microplastiche (MPs) e microfibre (MFs) come contaminanti emergenti in ambiente marino</i>	1
1.2 <i>Distribuzione delle MPs in ambiente marino</i>	8
1.3 <i>Biodisponibilità delle MPs e impatti per gli organismi</i>	12
1.4 <i>Monitoraggio delle microplastiche in ambiente marino</i>	17
2. SCOPO DELLA TESI	24
3. MATERIALI E METODI	26
3.1 <i>Area di studio e campionamento di acqua superficiale e mitili per l'analisi delle MPs</i>	26
3.2 <i>Analisi delle MPs in acqua superficiale e nei mitili</i>	31
3.3 <i>Controllo della contaminazione esterna</i>	34
4. RISULTATI	37
4.1 <i>Abbondanze e caratteristiche delle MPs nelle acque superficiali della zona del Conero</i> ..	37
4.2 <i>Abbondanze e caratteristiche delle MPs nei mitili della zona del Conero</i>	46
5. DISCUSSIONE	55
6. CONCLUSIONI	68
7. BIBLIOGRAFIA	70

1. INTRODUZIONE

1.1 Microplastiche (MPs) e microfibre (MFs) come contaminanti emergenti in ambiente marino

Negli ultimi 50 anni l'inquinamento dovuto alle plastiche, nei mari di tutto il mondo, ha subito una drastica ascesa (Vital et al., 2021). Lo "United Nations Environment Program" (UNEP) definisce i rifiuti marini come "ogni materiale solido persistente, prodotto o processato che sia stato scartato, smaltito o abbandonato in ambiente costiero o marino" (Deudero et al., 2015) e si stima che l'80% dei rifiuti presenti nel mare sia costituito da plastica (Vital et al., 2021). Il basso costo, la versatilità e la durabilità hanno fatto sì che la quantità di plastica prodotta dal settore industriale aumentasse a dismisura passando da 360 milioni di tonnellate prodotte nel 2018 alla stima del raggiungimento di 1800 milioni di tonnellate entro il 2050 (Vianello et al., 2018). Ogni anno finiscono in mare da 4,6 a 12,7 milioni di tonnellate di plastica di cui l'80% proviene da fonti terrestri (Vital et al., 2021) che successivamente vengono trasportate dalle correnti in tutto il mondo, comprese aree remote come i Poli (Vianello et al., 2018).

Le microplastiche presenti nell'ambiente marino possono avere un'origine primaria o secondaria. Le MPs primarie sono sottoprodotti rilasciati dalla produzione industriale, che comprendono le polveri di plastica utilizzate come

materiale vergine per la produzione di manufatti (Laskar et al., 2019). Fanno parte di questo gruppo anche le microplastiche aggiunte intenzionalmente nei prodotti per la cura personale (dentifrici, esfolianti, saponi per le mani e per il viso, cosmetici) (Yang et al., 2021) e per la pulizia della casa o dei tessuti (detergenti) (Adamopoulou et al., 2021). Le MPs secondarie sono quelle che derivano dalla frammentazione delle plastiche più grandi (Laskar et al., 2021) causata da processi fisici (moto ondoso, abrasione), chimici (fotolisi, idrolisi) e biologici (biodegradazione) che subentrano durante la permanenza in mare (Mercogliano et al. 2021). Dallo studio di Coyle e collaboratori (2020), è emerso che circa l'80% delle MPs che troviamo in mare, ha origine da fonti terrestri e in un secondo tempo raggiunge il mare, mentre il restante 20% deriva da attività condotte direttamente in mare. Tra le principali fonti terrestri ci sono gli pneumatici, gli involucri usati nel packaging ed i sacchetti di plastica monouso, i quali usurandosi e subendo la degradazione da parte del moto ondoso e dei raggi UV, rilasciano frammenti plastici in acqua (Coyle et al., 2020). Le fonti marine sono principalmente la pesca, il trasporto marittimo, le trivellazioni e l'acquacoltura, che causano il rilascio accidentale o voluto di reti, fili ed altri materiali plastici (Yang et al., 2021). Le MPs provenienti dalla terraferma, raggiungono il mare attraverso gli apporti fluviali, le acque piovane e le acque reflue (Coyle et al., 2020). Infatti, gli impianti di trattamento delle

acque reflue possono raccogliere sia gli scarichi provenienti dalla rete industriale che quelli provenienti dalla rete domestica e l'efficienza con cui eliminano la plastica dipende da diversi fattori, tra cui il volume delle acque trattate e la tipologia di trattamento (Kazour et al., 2019). Nonostante il trattamento secondario e terziario all'interno degli impianti riesca a catturare tra il 70 ed il 99,4% delle MPs totali presenti nelle acque trattate, si stima che un buon numero di queste finisca ugualmente in mare (Kazour et al., 2019). Input più estesi di MPs sono rappresentati dalle zone costiere in prossimità di aree urbanizzate e le zone turistiche, dove la plastica tende ad accumularsi in grandi quantità a causa dell'elevato afflusso umano (Vital et al., 2021). In misura minore, i frammenti plastici raggiungono le acque marine anche attraverso il trasporto aereo (Yang et al., 2021).

Da un punto di vista dimensionale, le microplastiche includono materiali compresi nel range 1 μm - 5 mm, mentre quelli più piccoli sono definiti nanoplastiche (<1000 nm) e gli oggetti più grandi mesoplastiche (5-20 mm) e macroplastiche (>20mm) (Mistri et al., 2017). Tra le MPs è presente una elevata eterogeneità di forma oltre che di dimensione, sulla base della fonte da cui provengono e dei processi degradativi che hanno subito; le forme più diffuse sono i frammenti, seguite da microsferi, pellet, scaglie (film). Oltre alla forma, le MPs hanno anche una diversa consistenza: i film tendono ad essere

piatti, flessibili e a non rompersi o deformarsi se vengono premuti con un ago da dissezione, i frammenti sono particelle di differenti colori che possono essere duri o flessibili, non si rompono e non si frantumano se vengono premuti con un ago da dissezione (Mercogliano et al., 2021).

Una ulteriore proprietà delle MPs presenti in ambiente marino è la densità, determinata dalla composizione polimerica delle particelle: si identificano in generale polimeri ad alta densità (HD) ($> 1,02 \text{ g/cm}^3$) e a bassa densità (LD) ($< 1,02 \text{ g/cm}^3$) (Eo et al., 2021) (Tabella 1). Attualmente le materie plastiche sintetiche più diffuse sono il polietilene a bassa ed alta densità (LDPE e HDPE), la poliammide (PA) conosciuto come nylon, il propilene (PP) usato per le buste e per i packaging, il polivinilcloruro (PVC) usato ad esempio nei tappi di bottiglia, il polistirene (PS), il polietilene tereftalato (PET) usato nelle bottiglie ed il poliuretano termoplastico (TPU) (Gomiero et al., 2019; Mercogliano et al., 2021). Durante i processi produttivi, sono spesso usate sostanze chimiche in qualità di additivi, per conferire al prodotto speciali caratteristiche quali flessibilità, durezza, stabilità, resistenza alla combustione e colore (Bajt et al., 2021), mentre altre servono al mantenimento della stabilità del polimero nel tempo (Fauser et al., 2022); tra queste vi sono il bisfenolo A (BFA), gli ftalati, le nanoparticelle di diossido di titanio (TiO_2 -NPs), antimicrobici ed emollienti, che vengono rilasciati in acqua durante i processi degradativi, costituendo un

rischio aggiunto per gli ecosistemi (Guzzetti et al., 2018). Non tutte le sostanze chimiche contenute nella plastica sono aggiunte volontariamente poiché alcune sono by-products formati durante la lavorazione dei manufatti. Un esempio è dato dai monomeri che si formano quando la reazione di polimerizzazione che viene usata per la formazione di un manufatto plastico non si completa al 100% (es. vinilcloruro e stirene) ed è stato dimostrato che molti di questi sono mutageni, cancerogeni e potenzialmente tossici per la salute dell'uomo e degli organismi marini in proporzione alla loro concentrazione nel manufatto plastico (Fauser et al., 2022). Vi è poi una classe di contaminanti chimici che prende il nome di “additivi residui” costituiti da sostanze chimiche che non sono né aggiunte intenzionalmente né si formano durante i processi di lavorazione bensì si formano durante l'uso, come avviene nei prodotti organici rinvenuti nei filtri di sigaretta ad avvenuta combustione del tabacco (Fauser et al., 2022).

Un'altra classe di contaminanti emergenti che sta ricevendo particolare attenzione da parte della comunità scientifica per la loro presenza costante in tutti i comparti marini, sono le microfibre (MFs), cioè fibre piccolissime, di diametro <10 micron e lunghezza variabile, con un caratteristico rapporto tra le due dimensioni nell'ordine di 10^3 . Le microfibre possono avere origine naturale

o sintetica e vengono usate nel settore industriale per la realizzazione ad esempio di vestiario, corde e tessuti (Liu et al. 2019).

Le fibre di origine naturale più diffuse sono cotone, lino, lana, seta, ma il mercato del settore tessile è dominato dalle fibre sintetiche, di cui fanno parte nylon, poliestere, poliolefina ed acrilico (Liu et al., 2019). Vi sono poi le “fibre cellulosiche rigenerate” (fibre semi-sintetiche) derivate da fibre naturali che sono ricostruite o riformate (Gago et al., 2019) di cui fanno parte la viscosa, il rayon, le fibre di bamboo e le fibre di diacetato e triacetato (Liu et al., 2019). Proprio come avviene con le MPs, anche i processi produttivi delle fibre utilizzano additivi chimici (ritardanti di fiamma, coloranti, ecc..) per conferire al prodotto finale specifiche caratteristiche, sollevando preoccupazioni sul ruolo delle fibre come vettori di sostanze pericolose per l’ambiente (Suaria et al., 2020).

Come evidenziato nello studio di Gago et al. (2018), le MFs sono considerate un inquinante emergente perché quelle di origine sintetica costituiscono la frazione maggiore di MPs presenti negli ecosistemi marini. Tuttavia, quelle di origine naturale o le semi-sintetiche sono la componente predominante delle microfibre riscontrate in ambiente; infatti, solo circa l’8% delle MFs che si trovano in mare sono di origine sintetica mentre l’80% è di origine vegetale ed il 12% di origine animale (Suaria et al. 2020). Si stima che 2 milioni di

tonnellate di microfibre finiscano ogni anno negli oceani e che ne siano attualmente presenti circa 1,5 milioni di trilioni nelle acque di tutto il mondo (Liu et al., 2019). Tuttavia, a causa del larghissimo impiego di fibre naturali e sintetiche, ad oggi è ancora difficile stimare ed indicare precisi input di MFs (Gago et al., 2018). I possibili input di microfibre in mare potrebbero essere acque di scarico industriali e domestiche (lavaggi), seguite da input diretti dall'abbigliamento (Gago et al., 2018). Nonostante i sistemi di depurazione delle acque di scarico rimuovano fino al 95% del totale delle microfibre, si stima che in 1 m³ di acqua siano presenti fino a 10⁴ microfibre (Liu et al., 2019). Lo studio di Gago et al. (2018), considera come fonti di immissione di MFs anche le aree densamente urbanizzate e le industrie cartiere e tessili. Molte MFs sono trasportate dal vento e possono accumularsi nelle nuvole, per poi essere ridistribuite nell'ambiente attraverso la pioggia (Suaria et al., 2020).

Tabella 1. Densità dei polimeri plastici più comuni.

Polimero	Abbreviazione	Densità (g/cm³)
Polistirene (espanso)	PS	0.01 – 1.06

Polipropilene	PP	0.85 – 0.92
Polietilene a bassa densità	LD-PE	0.89 – 0.93
Etilene vinil acetato	EVA	0.93 - 0.95
Polietilene ad alta densità	HD-PE	0.94 – 0.98
Polistirene	PS	1.04 – 1.09
Acrilonitrile butadiene stirene	ABS	1.06 – 1.08
Poliammide	PA	1.12 – 1.15
Nylon 6,6	PA 66	1.13 – 1.15
Polimetilmetacrilato	PMMA	1.16 – 1.20
Policarbonato	PC	1.20 – 1.22
Poliuretano	PU	1.20 – 1.26
Polietilene tereftalato	PET	1.38 – 1.41
Polivinilcloruro	PVC	1.38 – 1.41
Poliestere	PES	1.4
Politetrafluoroetilene	PTFE	2.10 – 2.30

1.2 Distribuzione delle MPs in ambiente marino

La distribuzione delle MPs negli ecosistemi marini dipende dalla combinazione di parametri che ne determinano la ripartizione nella colonna d'acqua e nei sedimenti e la biodisponibilità (Gomiero et al., 2019). Questi parametri includono le sorgenti di input delle MPs, le proprietà chimico-fisiche del polimero (densità, dimensione e forma), ma anche caratteristiche dell'ambiente marino (vento, onde e correnti) e processi legati all'aggregazione tra MPs, al biofouling e alla degradazione in particelle più piccole che possono variarne la distribuzione verticale durante la loro permanenza in acqua (Tsiaras et al., 2022). Il primo fattore da tenere in considerazione è costituito dalle sorgenti e dalla variazione temporale con la quale queste immettono rifiuti plastici nel

mare (Liubartseva et al., 2016). Le MPs più pesanti non raggiungono distanze elevate dalla sorgente di input mentre quelle meno dense sono trasportate dalle correnti molto lontano (Eo et al., 2020); inoltre le particelle piccole e quelle ad alta densità (poliestere) tendono ad accumularsi negli strati inferiori della colonna d'acqua e nel sedimento, aiutate anche dalla pressione e dalle forze di attrito dell'acqua (Adamopoulou et al., 2021) mentre le particelle di dimensioni maggiori e quelle a bassa densità (polietilene e polistirene) tendono a rimanere in superficie. Il lasso di tempo in cui queste ultime rimangono nei primi strati d'acqua è variabile in funzione della forma e dalla dimensione che a sua volta è influenzata dal fenomeno del biofouling che ne varia la densità e la galleggiabilità (Fytianos et al., 2020). La velocità di affondamento dei polimeri ad alta densità può diminuire quando si trovano aggregati con materiali meno densi ma allo stesso tempo, MPs all'interno degli aggregati possono essere trasportate più lontano delle singole particelle (Perumal et al., 2022).

La formazione di biofilm può portare all'aumento della densità del polimero e conseguentemente alla diminuzione delle sue proprietà galleggianti a causa dell'adesione di invertebrati colonizzatori (cirripedi, anellidi, idroidi, mitili) e microalghe (Coyle et al., 2020), che ne influenzano sia la sedimentazione che il trasporto verso l'alto (Tsiarias et al., 2022).

Strumenti utili per studiare l'accumulo e la distribuzione in ambiente marino di microplastiche provenienti da fonti note (come fiumi effluenti degli impianti di depurazione) sono i modelli numerici che simulano i percorsi ed individuano zone potenziali dove è possibile trovarne ad elevate concentrazioni; queste simulazioni possono essere applicate su diverse scale spaziali: da livello globale, regionale e locale (Liubartseva et al., 2016). I modelli sono considerati strumenti essenziali per ottenere una migliore comprensione e previsione di accumulo dei detriti plastici ma attualmente non sono ancora in grado di sostituire le analisi in situ bensì rappresentano un implemento di tali studi (Tsiarias et al., 2022). La conoscenza delle caratteristiche idrodinamiche della zona oggetto di studio permette di seguire il percorso ipotetico dei rifiuti plastici e di individuare le zone preferenziali di accumulo (Liubartseva et al., 2016). Le correnti trasportano le MPs nelle aree più remote del pianeta, comprese le zone polari (Vianello et al., 2018) e ne causano l'accumulo in zone ridossate o in zone di convergenza quali i gyres oceanici (Tsiaras et al., 2022). Come dimostrato nello studio di Schmidt et al. (2018), la concentrazione di MPs va diminuendo a partire dalle aree costiere in prossimità degli input verso il mare aperto, in accordo con i modelli di circolazione delle specifiche aree. Segue questo pattern anche la dimensione dei rifiuti plastici, che diminuisce progressivamente con l'aumentare della distanza dalla costa: gli oggetti più

grandi ($> 5\text{mm}$) vengono rinvenuti spesso nei pressi della sorgente di input, mentre quelle di dimensioni più piccole ($< 5\text{mm}$) si allontanano molto da queste. Ciò è dovuto sia alla diminuzione degli input in mare aperto che all'affondamento indotto dal biofouling (Tsiarias et al., 2022). Se non ci fosse il biofouling, le particelle più grandi non sedimenterebbero facilmente e questo permetterebbe loro di essere trasportate lontano dalla costa con le correnti perché rimarrebbero flottanti (Tsiarias et al., 2022). La concentrazione di MPs nella colonna d'acqua cambia continuamente sotto l'influenza dei movimenti verticali (upwelling e downwelling) (Schmidt et al., 2020). Questi hanno un effetto più forte sulle particelle di piccole dimensioni, le quali sono caratterizzate da una galleggiabilità relativamente debole; a spostare verso il largo le particelle plastiche più grandi sono più spesso onde ed il vento, considerati i principali "motori" dello strato di acqua superficiale (Tsiarias et al., 2022). Vanno sempre tenute in considerazione le caratteristiche locali delle zone investigate poiché fenomeni locali di upwelling, vento o correnti possono variare la distribuzione delle MPs sia lungo la colonna d'acqua che l'accumulo spaziale in una data area (Schmidt et al., 2018).

Altri fattori che influenzano la sedimentazione sono la formazione di aggregati contenenti MPs e l'emivita delle MPs in acqua. Gli aggregati sono costituiti da pellet fecali, fitoplancton, materia organica particolata (POM) e microrganismi

(Coyle et al., 2020) che inglobano MPs e sedimentano velocemente; vengono originati sia dalla collisione tra particelle che rimangono poi adese tra loro oppure come prodotti di scarto di zooplancton e pesci (Liubartseva et al., 2016). Circa il 70% degli aggregati presenti nel range di profondità che va da 0,5 a 3 m contiene MPs (Eo et al., 2021). Tali aggregazioni, localizzate solitamente negli strati superficiali, non sono però permanenti ma vengono influenzate anch'esse dai venti che possono aumentare l'effetto drift della corrente o addirittura deviarne la direzione (Schmidt et al., 2018). L'emivita delle particelle plastiche galleggianti è una caratteristica importante del trasporto del bacino e deriva dalla sua geometria e dalle caratteristiche idrodinamiche. Per emivita si intende il valore espresso in giorni che vede il 50% delle MPs ancora galleggianti sulla superficie del mare; in media questo valore risulta essere di 43,7 giorni circa (Liubartseva et al., 2016).

1.3 Biodisponibilità delle MPs e impatti per gli organismi

La biodisponibilità delle MPs varia a seconda della dimensione, della tipologia del polimero, della concentrazione di queste nell'ecosistema, della posizione nella colonna d'acqua o nel sedimento ed in base alla strategia di nutrimento dei singoli organismi (Coyle et al., 2020). In base a quest'ultimo parametro, gli organismi che più spesso vengono a contatto con le MPs sono i detritivori, i

filtratori, i pascolatori ed i planctivori che non hanno la capacità di selezionare la tipologia di nutrimento quindi si nutrono indistintamente di tutto ciò che rientra nel range di alcuni micron, MPs comprese (Coyle et al., 2020). Le particelle plastiche con una bassa densità sono biodisponibili per gli organismi che vivono negli strati d'acqua superiori, inclusi i filtratori sospensivori, mentre le MPs con una densità maggiore sono biodisponibili per i filtratori bentonici e per i detritivori (Coyle et al., 2020). Anche i vertebrati possono ingerire i detriti plastici: tra questi vi sono pesci, tartarughe, uccelli e mammiferi marini che sono particolarmente sensibili al colore ed alla forma dei detriti plastici così da scambiargli per un alimento commestibile. Ad esempio, le tartarughe (*Caretta caretta*) scambiano spesso buste di plastica per meduse e i pesci bentonici come le triglie (*Mullus barbatus*) confondono filamenti e particelle plastiche per anellidi e detriti di cui si cibano abitualmente (Kurtela et al., 2019). Inoltre, le MPs possono essere ingerite indirettamente quando gli organismi si nutrono di prede che a loro volta hanno ingerito microplastiche (Guzzetti et al., 2018).

Una volta ingerite, le MPs possono essere eliminate attraverso le escrezioni o venire accumulate nei tessuti e negli organi: invertebrati e vertebrati marini non hanno dei pathways enzimatici in grado di scindere e digerire i polimeri sintetici della plastica, per questo se non vengono escreti, rimangono confinati

nell'apparato digerente o talvolta trasportati dai fluidi corporei verso altri tessuti (Gedik et al., 2020).

La presenza di MPs nell'organismo che le ha ingerite, causa problemi di due tipologie: stress meccanici legati alla permanenza in organi e tessuti e danni tossicologici dovuti alle sostanze chimiche veicolate dalle plastiche (Guzzetti et al., 2018). Gli stress fisici portano a lesioni interne ed esterne, occlusioni del tratto gastroesofageo, senso di sazietà, stress fisiologico, impossibilità a nutrirsi, alterazioni del tasso di crescita, riduzione della fertilità, fecondità e tasso di mortalità aumentato nella progenie over produzione di muco, e infiammazione dei tessuti (Guzzetti et al., 2018; Vital et al., 2021).

Un'altra conseguenza dell'ingestione di MPs negli organismi marini è quella dei danni tossicologici causati dalle sostanze chimiche che di frequente sono rinvenute nella matrice polimerica delle MPs presenti in mare (Vital et al., 2021). Le microplastiche hanno un'ampia superficie rispetto al volume, di conseguenza possono fungere da spugne ed assorbire sostanze tossiche e contaminanti antropogenici presenti in acqua (Garaventa et al., 2020) e rilasciarle all'interno degli organismi che le hanno ingerite (Bajt, 2021). Le sostanze chimiche rinvenibili nelle MPs sono: inquinanti organici persistenti (POPs) e non persistenti, metalli (sia pesanti che non), idrocarburi policiclici aromatici (PAHs), bifenili policlorinati (PCBs), diossine (es. DDTs e PFOs),

bisfenolo A (BFA), ftalati, eteri polibrominati (PBDEs); molte di queste sostanze sono note per avere effetti tossici, mutagenici e carcinogenici sul sistema endocrino (Vital et al., 2021). Oltre ai contaminanti chimici ambientali le MPs potrebbero rilasciare le sostanze chimiche aggiunte in fase di produzione dell'oggetto plastico.

La permanenza all'interno degli organismi fa sì che le MPs possano essere trasferite nella rete trofica marina fino ai livelli più alti, costituendo di fatto un potenziale rischio anche per la salute dell'uomo (Garaventa et al., 2020).

Tra gli organismi invertebrati che hanno una elevata probabilità di interagire/entrare in contatto con le MPs vi sono i mitili, poiché, essendo filtratori, filtrano grandi volumi di acqua (7-8 L/h) (Bajt, 2020), risultando di conseguenza particolarmente esposti all'ingestione di questa classe di contaminanti (Mercogliano et al., 2021). Nei mitili è stato dimostrato che l'ingestione delle microplastiche causa la riduzione della capacità nutritiva dell'animale, l'inibizione della crescita e la diminuzione della loro capacità riproduttiva (Gedik et al. 2020). Inoltre, gli studi di Pittura et al. (2018) e Avio et al. (2015) evidenziano come l'esposizione di *Mytilus galloprovincialis* a microplastiche di polietilene e polistirene causi anche alterazione dei lisosomi, proliferazione dei perossisomi, alterazione delle vie metaboliche, stress ossidativi, decrescita della risposta immunitaria, citotossicità, genotossicità,

diminuzione delle riserve energetiche ed alterazioni del tasso di respirazione. Nei mitili, le microplastiche vengono accumulate soprattutto nelle cavità digestive nell'arco delle 12 ore post ingestione ed è stato dimostrato che entro 3 giorni riescono ad entrare nell'emolinfa e negli emociti, confermando la possibilità del loro trasferimento dal sistema gastrointestinale a quello circolatorio (Anbumani et al., 2018). Una volta entrate nel sistema circolatorio, possono indurre la formazione di granulocitomi (risposta infiammatoria), un incremento degli emociti e un decremento sensibile della stabilità delle membrane lisosomiali. Questo causa una progressiva diminuzione delle energie deputate al corretto funzionamento immunitario dell'individuo, con conseguente alterazione delle capacità fisiologiche del mitilo (Guzzetti et al., 2018). Le MPs hanno un effetto negativo anche nel bentos, dove è stato dimostrato che alterano i cicli biogeochimici, limitando la penetrazione della luce nel sedimento ed alterandone le caratteristiche chimico-fisiche. Inoltre, si è visto che il loro accumulo nei sedimenti causa anche alterazione della motilità, dell'assimilazione energetica e della capacità di nutrimento di un grande range di organismi bentonici, il che si ripercuote sulle interazioni intraspecifiche e sulla struttura dell'ecosistema bento-pelagico (Guzzetti et al., 2018).

1.4 Monitoraggio delle microplastiche in ambiente marino

Il monitoraggio delle MPs in mare è molto importante per quantificarne la concentrazione, identificarne la tipologia e per studiare gli effetti che hanno sugli ecosistemi (Tsiarias et al., 2022).

Vista la distribuzione ubiquitaria delle microplastiche nei vari comparti e i fattori che ne modulano il destino è fondamentale monitorarle attraverso un approccio integrato, che includa indagini su diverse matrici, da quelle abiotiche alla componente biotica, perché ogni comparto può fornire informazioni utili per comprendere il destino di questi contaminanti in ambiente marino.

Quando si definisce un piano di monitoraggio per la valutazione delle MPs in una area geografica sarebbe bene scegliere specifiche località basandosi sulle sorgenti di input, zone di accumulo e sensibilità degli habitat, includendo nel campionamento zone che non sono interessate da un forte impatto antropico così da poter confrontare zone più impattate e meno impattate (Tsiarias et al., 2022). Durante la pianificazione dei campionamenti è importante tener conto anche della stagionalità così da programmare campionamenti in diversi periodi per avere la possibilità di confrontare la variazione della concentrazione di MPs con il variare della stagione e di conseguenza avere un quadro quanto più completo possibile (Tsiarias et al., 2022).

Il monitoraggio delle MPs viene effettuato raccogliendo campioni dalla superficie del mare, dalla colonna d'acqua, nei sedimenti e studiando gli organismi acquatici (Fytianos et al., 2021).

Il metodo più comune per raccogliere dati relativi allo strato d'acqua superficiale è quello che prevede l'uso della Manta, una rete trainata da una imbarcazione che permette di raccogliere MPs di varie dimensioni a seconda del diametro delle maglie della rete utilizzata, in aree che spaziano anche parecchi Km² (Fytianos et al., 2021). La Manta è costituita da un supporto rigido che tiene aperta la rete e da galleggianti che ne consentono un assetto opportuno per il campionamento dei primi 10-15 cm di acqua (Syakti et al., 2017). Le dimensioni della rete ed il diametro della maglia variano in funzione dello strato d'acqua a partire dalla superficie che si vuole investigare (max 30 cm) (Syakti et al., 2017) e dalla dimensione delle particelle plastiche che si vogliono campionare, ma le reti con aperture delle maglie di 300 µm sono le più utilizzate (Garaventa et al., 2021); il tempo di traino varia tra i 10 ed i 30 minuti e la velocità è sempre inferiore ai 2 nodi, in relazione al diametro della rete utilizzata, la cui efficienza di filtrazione è inversamente proporzionale al tempo di traino (Adamopoulou et al., 2021).

Le microplastiche presenti lungo la colonna d'acqua, che comprende la zona compresa tra -30 cm e il fondo marino, possono essere campionate mediante

l'uso di reti simili alla manta, ma che lavorano a profondità maggiori grazie a delle zavorre che ne regolano la profondità, e anche attraverso l'uso di pompe dotate di filtri montati in serie che consentono di campionare le MPs a diverse profondità e allo stesso tempo effettuare una prima separazione dimensionale delle particelle raccolte.

Esistono anche strumenti per la raccolta di campioni a profondità specifiche che prendono il nome di “campionatori discreti”; fanno parte di questo gruppo le bottiglie di Niskin, le rosette ed altri contenitori di metallo che servono per recuperare le MPs flottanti a profondità fino a 100 mt (Cutroneo et al., 2020).

I campioni di sedimento per l'analisi delle MPs vengono raccolti sia sulla spiaggia che sul fondale marino. I primi vengono raccolti attraverso l'uso di spatole o cucchiari all'interno di transetti quadrati aventi un'area di 0,25 m² (Syakti et al., 2017) mentre i sedimenti dal fondale marino vengono raccolti mediante l'uso della benna Van Veen (Syakti et al., 2017), box corer per i sedimenti superficiali ed i carotatori per ottenere carote imperturbate dove si conserva la stratificazione del sedimento (Stock et al., 2019). Durante le attività di campionamento, è importante non usare strumenti in plastica per non incorrere in fenomeni di contaminazione dei campioni raccolti (Stock et al., 2019).

Il monitoraggio delle MPs in ambiente marino viene fatto anche mediante l'utilizzo di organismi che prendono il nome di bioindicatori, estremamente utili per ottenere informazioni sulla biodisponibilità delle MPs e, integrato con studi in laboratorio, per evidenziare gli effetti negativi causati dalle MPs (Ding et al., 2021). I bioindicatori utilizzati vengono scelti anche sulla base del comparto marino che si vuole analizzare e per la loro strategia di nutrimento. Per quanto riguarda il comparto bentonico, viene analizzato attraverso l'uso della triglia (*Mullus barbatus*), di anellidi (*Arenicola marina*) e scavengers come i crostacei (*Carcinus sp.*); il comparto pelagico viene spesso studiato attraverso l'uso della tartaruga *Caretta caretta* e di filtratori bivalvi (Wesch et al., 2016). Tra i bivalvi, i più utilizzati sono ostriche e mitili, a causa delle loro caratteristiche: sono ampiamente diffusi in tutte le acque del mondo, facili da raccogliere, molto tolleranti verso un ampio spettro di inquinanti, sono organismi altamente impattati dalle MPs a causa della loro strategia di nutrimento non selettiva ed essendo consumati dall'uomo ne possono rappresentare fattori di esposizione (Stoks et al., 2021). Altre caratteristiche che rendono i mitili ottimi bioindicatori sono la natura sessile che impedisce loro di spostarsi dalla zona impattata quindi fornire informazioni più precise a livello locale, non sono specie minacciate o in via di estinzione, tollerano bene periodi fuori dall'acqua, sono facili da conservare, stabulare e trasportare a

causa delle dimensioni ridotte, possibilità di comparazione degli studi condotti in tutto il mondo perché usati a livello globale (Kershaw et al., 2019).

Il monitoraggio delle MPs è molto importante anche nell'ottica della Marine Strategy Framework directive (MSFD), una direttiva europea che ha come primo obiettivo quello del raggiungimento di un Buono Stato Ambientale (GES-Good Environmental Status) nelle acque del Mar Mediterraneo (Fortibuoni et al., 2021). La MSFD è costituita da undici descrittori ognuno dei quali si occupa di un aspetto legato alla salvaguardia ambientale ed il decimo è quello correlato ai rifiuti marini che includono anche le microplastiche; secondo questo descrittore, il Mar Mediterraneo dovrebbe avere una concentrazione di rifiuti sotto il livello oltre il quale si causano problemi all'ambiente marino (Fortibuoni et al., 2021). La presenza di MPs è ampiamente accertata nel Mar Mediterraneo e le cause sono molteplici: la conformazione è quella di un bacino chiuso con due piccoli ingressi situati rispettivamente ad Est e ad Ovest che sono il canale di Suez e lo stretto di Gibilterra; l'elevata densità di abitanti sulle sue coste (10% della popolazione costiera mondiale), l'elevato traffico marittimo che lo attraversa da Est a Ovest e viceversa, la pesca a strascico intensiva, apporti di acqua dolce da parte di Nilo, Ebro, Rodano, Po che attraversano aree densamente popolate. Esso si posiziona al sesto posto nella lista delle zone marine con grandi accumuli di

MPs, preceduto da Nord e Sud Pacifico, Nord e Sud Atlantico e Oceano Indiano. Al momento si stima che nel Mediterraneo ci siano non meno del 20% del volume complessivo delle microplastiche flottanti presenti in tutte le acque del mondo per un totale di circa 1.700.000 particelle/km² (0,5kg/km²) e la maggior parte di queste sono più piccole di 500 micron (Avio et al., 2020) per un totale di 23.150 tonnellate (Vianello et al., 2018).

Per quanto riguarda più specificatamente il Mar Adriatico, lo studio di modellizzazione delle correnti proposto da Liubartseva et al. (2016), ha dimostrato che l'area di maggior accumulo di microplastiche corrisponde ad una fascia situata a largo delle coste venete che si restringe da nord-ovest verso sud-est. Inoltre, è stato dimostrato che nel Mar Adriatico sono presenti sia le MPs che derivano da input situati sulla costa adriatica, sia le MPs che provengono dal resto del Mar Mediterraneo e che vi sono spinte dalle correnti di questo bacino (Gomiero et al., 2019, Vianello et al., 2018). Il Mar Adriatico è un bacino semichiuso dominato da un insieme di correnti: una scorre verso Sud-Est lungo la costa occidentale denominata corrente adriatica occidentale (WAC) ed una seconda che scorre lungo la costa orientale Nord-est che prende il nome di Corrente adriatica orientale (EAC). Inoltre, l'azione dei forti venti di scirocco (SE), Tramontana (N), Maestrale (NW) e localmente nel Nord Adriatico la Bora (NNE) contribuiscono non solo alla formazione di onde che

distribuiscono nella colonna d'acqua le MPs, ma anche alla formazione di correnti superficiali in grado di spostarla per km nelle varie direzioni (Gomiero et al., 2019). Lo studio della localizzazione delle microplastiche nel Mar Adriatico deve tener conto non solo delle correnti e del vento ma anche della sua profondità: la zona più a Nord ha una profondità media di 35 m, la zona centrale di 140 mt e la zona a sud di 260 mt. A causa della minor profondità, la zona del Nord Adriatico è un punto di elezione per l'accumulo della plastica proveniente dall'intero Mar Mediterraneo. Secondo gli studi condotti, circa il 40% delle plastiche dell'Adriatico proviene dai fiumi, il 40% dalla popolazione e dalle città costiere, mentre il restante 20% deriva da trasporti marittimi ed acquacoltura (Avio et al., 2020). In Adriatico, l'emivita media delle particelle plastiche è pari a circa 43,7 giorni, evidenziando quanto questo mare sia un sistema dissipativo per quanto riguarda le microplastiche, se teniamo conto che in media negli oceani di tutto il mondo questo valore è pari a 19 anni. Questo però evidenzia anche che le MPs flottanti si spostano dalla colonna d'acqua al benthos, secondo il fenomeno della sedimentazione, andando a costituire di fatto un rischio aggiuntivo anche in questo compartimento (Mistri et al., 2017).

2. SCOPO DELLA TESI

L'inquinamento da microplastiche rappresenta un problema emergente per gli ecosistemi marini di tutto il mondo a causa del largo impiego di oggetti plastici di dimensioni, forme e polimeri diversi che inevitabilmente finiscono in mare come rifiuto.

Il monitoraggio delle microplastiche nelle varie matrici marine è diventato prioritario per definirne le concentrazioni e identificare le tipologie più ricorrenti, e necessario per comprendere le possibili fonti, la distribuzione, il destino e per identificare azioni di prevenzione e gestione della contaminazione.

In questo lavoro di tesi verranno presentati i risultati di uno studio di quantificazione e caratterizzazione delle microplastiche presenti nelle acque superficiali e nei mitili selvatici (*Mytilus galloprovincialis*) del Promontorio del Conero, un'area marina del centro Adriatico caratterizzata da un ecosistema unico nel suo genere, in quanto rappresenta l'unica formazione rocciosa del bacino a partire dal fiume Po fino ad arrivare al Gargano, le cui coste sono risultate particolarmente esposte alla contaminazione da rifiuti plastici da precedenti studi.

Il mitilo mediterraneo oltre ad essere tra le specie maggiormente utilizzate come bioindicatore della contaminazione da microplastiche in ambiente marino, rappresenta anche una specie di grande interesse per l'economia locale. I campionamenti di acqua e organismi sono stati effettuati in tre siti (Passetto, Trave e Portonovo), scelti sulla base delle loro caratteristiche di accessibilità all'uomo e di vulnerabilità agli input locali di microplastiche provenienti dalla città di Ancona, e ripetuti in due diversi periodi dell'anno (autunno ed estate) con il fine di evidenziare una eventuale variazione della concentrazione di MPs legata alla stagionalità.

I dati ottenuti da questo progetto di tesi forniranno per la prima volta informazioni sui livelli e le tipologie di microplastiche presenti nelle acque della zona del Conero e contribuiranno ad ampliare la conoscenza circa la loro biodisponibilità per gli organismi che la abitano. Inoltre, le indicazioni ottenute potranno essere utili per l'attuazione del descrittore 10 della Direttiva Quadro Europea della Strategia Marina (MSFD, 2008/56/EC).

3. MATERIALI E METODI

3.1 Area di studio e campionamento di acqua superficiale e mitili per l'analisi delle MPs

Lo studio è stato condotto nella zona del Promontorio del Conero, un'area naturale protetta dalla Regione Marche che si estende per circa 20 km tra Ancona e Numana. Si contraddistingue per essere l'unico affioramento roccioso lungo la sabbiosa costiera adriatica da Trieste al Gargano, giocando un ruolo chiave nella connettività ecologica tra il nord e il sud del bacino. Si incontrano infatti gli habitat prioritari dei "Banchi di sabbia" delle "Scogliere" e delle "Grandi cale e baie poco profonde" protetti dalla Direttiva 92/43/CEE, che ospitano una grande varietà di specie animali e vegetali, alcune di interesse comunitario che richiedono una protezione rigorosa come il dattero di mare *Lithophaga lithophaga*, altre di elevato interesse commerciale come il mitilo mediterraneo *Mytilus galloprovincialis*. Molti organismi fanno riferimento a questi habitat per scopi alimentari, per riprodursi o deporre le uova e sono quindi importanti aree di nursery dove i giovanili di numerose specie ittiche convergono durante le prime fasi di crescita prima di diffondersi in altre zone. Il Promontorio del Conero (Figura 1) rappresenta un'area di elevato valore ambientale ma anche turistico ed economico, che viene messa però a dura prova dalla presenza dei rifiuti plastici. Le sue coste rocciose sono infatti

caratterizzate da un difficile accesso da terra che limita fortemente la possibilità di rimozione della plastica trasportata dalle correnti, in particolare, in quelle aree accessibili solo da mare, come ad esempio la Spiaggia del Trave.



Figura 1. La zona oggetto di studio è il Promontorio del Conero (Mare Adriatico), situato nei pressi della città di Ancona (Regione Marche).

Per il presente studio di tesi sono state identificate tre aree di indagine che includono circa 11 km di costa del promontorio del Conero e che differiscono per le possibili fonti di microplastiche:

- “Passetto” è la zona situata nelle vicinanze della città di Ancona e del suo porto quindi costantemente influenzata dalle attività antropiche che vi si svolgono per tutto l’anno;

- “Trave” è un’area raggiungibile solo con imbarcazioni, quindi potrebbe risentire meno degli input di rifiuti plastici derivati da attività a terra;
- “Portonovo” è il sito più lontano dalla città di Ancona e il più vicino al Promontorio del Conero vero e proprio. La spiaggia di Portonovo è una località d’elezione per la balneazione e per il turismo estivo, di conseguenza è stata scelta perché gli input di MPs dovrebbero essere influenzati soprattutto dalla stagionalità.

All’interno delle tre aree sono stati raccolti campioni di acqua superficiale e organismi per l’analisi delle MPs ripetendo le attività in autunno (settembre 2020) ed in estate (giugno 2021), per evidenziare eventuali variazioni nella concentrazione e nelle tipologie di MPs legate al diverso periodo di campionamento nell’arco di un anno (Figura 2).

I campioni di acqua sono stati raccolti attraverso l’uso di una rete tipo Manta, cioè una rete da Neuston modificata con bocca di campionamento rettangolare 70 cm x 40 cm, area 0,28 m², rete filtrante da 300 µm e lunghezza 260 cm e dotata di boe galleggianti laterali che è stata trainata da una imbarcazione sulla superficie dell’acqua a circa 2-3 nodi per 10 minuti e tenuta a una distanza di circa 50 m per evitare la turbolenza indotta dalla scia della barca. I campionamenti sono stati effettuati lungo dei transetti paralleli alla linea di costa (MC1, MC2, MC3, MC4, MC5) e distanti da essa di circa 500 m; per

quantificare il volume di acqua filtrato la rete è stata dotata di un flussimetro (Figura 2 e Figura 3). Al termine dei campionamenti, la rete è stata sciacquata accuratamente con acqua di mare dall'esterno verso l'interno in modo da convogliare tutto il materiale raccolto verso il collettore finale, che è stato poi trasferito in un contenitore di plastica rigido (non è stato possibile utilizzare barattoli di vetro a bordo del natante per motivi di sicurezza) e conservato in laboratorio a 4°C fino al momento del processamento per l'estrazione delle MPs.

Gli esemplari di *M. galloprovincialis* sono stati raccolti attraverso attività di snorkeling da banchi di mitili selvatici a una profondità massima di 4 metri (Figura 2); i dettagli dei punti di campionamento, del numero di organismi campionati per ogni area e stagione, sono riportati in Figura 4. Gli organismi recuperati sono stati prontamente trasportati in laboratorio per essere dissezionati e i tessuti conservati a -20°C fino al momento delle analisi per l'estrazione delle MPs.

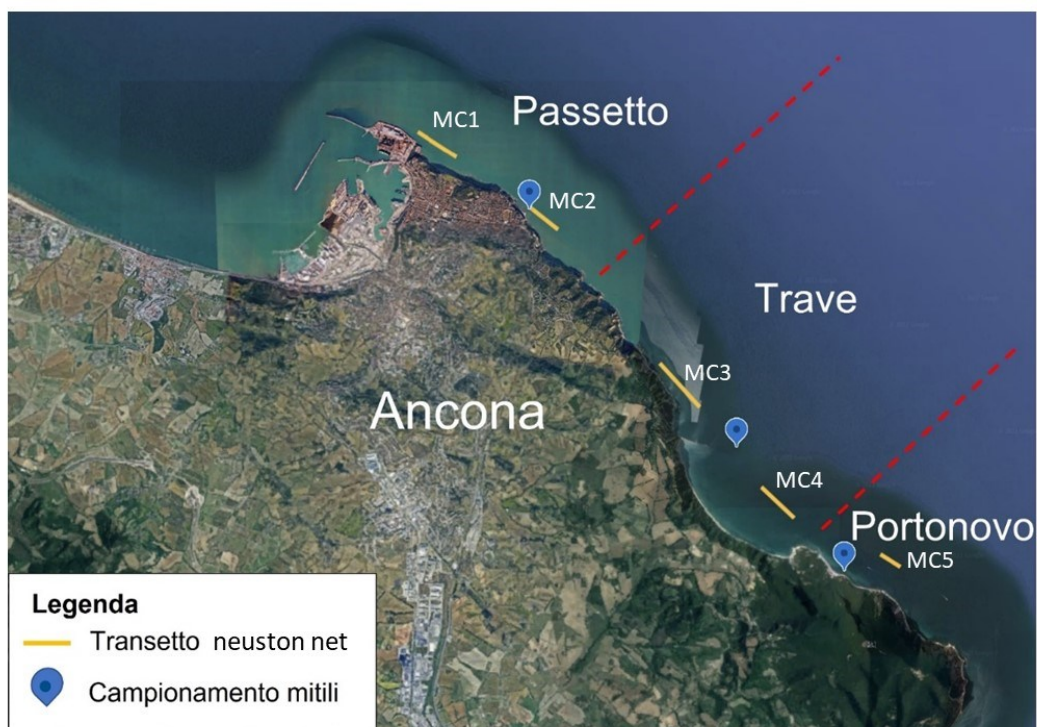


Figura 2. Punti di campionamento di acqua superficiale con l'utilizzo di reti Manta e di mitili nelle tre aree investigate lungo la Riviera del Conero: Passetto, Trave e Portonovo.

Sito	Campione	Coordinate transetto	Distanza percorsa (m)		Volume filtrato (m ³)	
			Campagna autunnale	Campagna estiva	Campagna autunnale	Campagna estiva
Passetto	MC1	43.6260 N 13.5191 E - 43.6298 N 13.5109 E	830	642	232	180
	MC2	43.6147 N 13.5409 E - 43.6182 N 13.5348 E	640	780	179	218
Trave	MC3	43.5881 N 13.5704 E - 43.5926 N 13.5641 E	730	980	102	274
	MC4	43.5701 N 13.5913 E - 43.5748 N 13.5844 E	760	760	106	213
Portonovo	MC5	43.5625 N 13.6141 E - 43.5644 N 13.6098 E	410	410	115	115

Figura 3. Coordinate dei transetti coperti per il campionamento delle acque superficiali nelle tre aree oggetto dello studio, distanza percorsa e volume di acqua filtrato durante il campionamento.

Sito	Coordinate campionamento	N° organismi campionati		Lunghezza valve media \pm dev. st.	
		Campagna autunnale	Campagna estiva	Campagna autunnale	Campagna estiva
Passetto	43.3702 N 13.3205 E	10	15	5,6 \pm 0,49	5,4 \pm 0,27
Trave	43.3444 N 13.3444 E	10	10	6,5 \pm 0,47	4,9 \pm 0,52
Portonovo	43.3341 N 13.3607 E	10	10	5,3 \pm 0,58	5,5 \pm 0,56

Figura 4. Coordinate dei punti di campionamento dei mitili all'interno delle tre aree oggetto dello studio, numero di esemplari campionati e informazioni morfometriche.

3.2 Analisi delle MPs in acqua superficiale e nei mitili

In laboratorio, i campioni di acqua superficiale sono stati trasferiti dai contenitori utilizzati in fase di campionamento in un becher di vetro a cui è stata aggiunta una soluzione di acqua ossigenata (H₂O₂) al 15% (1:1, volume campione: volume acqua ossigenata) per digerire la materia organica presente. Per accelerare il processo i campioni sono stati posti a 40°C in una stufa fino al completamento della digestione (in media 72h) (Gago et al., 2019). La soluzione è stata filtrata attraverso un sistema di pompe sottovuoto utilizzando un filtro in nitrato di cellulosa con porosità 8 μ m (Sartorius Stedim Biotech, Ø 47 mm); successivamente la membrana filtrante è stata recuperata e posta in una piastra Petri per la successiva fase di sorting visivo delle potenziali microplastiche.

L'estrazione delle microplastiche dai mitili è stata condotta processando l'intero tessuto molle degli organismi attraverso una digestione alcalina, utilizzando una soluzione di KOH al 10% (1:5 p/v) a 40°C. Questo è il metodo più applicato per estrarre microplastiche dal biota e particolarmente veloce per la digestione di piccoli invertebrati (Bessa et al., 2019). Il campione digerito è stato successivamente sottoposto a una filtrazione sottovuoto utilizzando un filtro in nitrato di cellulosa con porosità 8 µm che è stato recuperato e posto in una piastra Petri con una soluzione di H₂O₂ al 15% per una notte in stufa a 40°C per eliminare la materia organica residua.

Al processo di estrazione dai campioni di acqua e di mitili, sono seguiti il *visual sorting* per l'isolamento delle microplastiche, la loro classificazione secondo forma e dimensione e la caratterizzazione chimica in spettroscopia ad infrarosso in trasformata di Fourier (FT-IR).

Le membrane e le piastre risultanti dalla digestione in H₂O₂ sono state quindi osservate allo stereomicroscopio (Optika SZM-D) dotato di una videocamera OptiKamB5 collegata al Software Optika Vision Lite 2.1.: le microfibre e le microparticelle somiglianti a plastiche sono state recuperate con pinzetta e ago montato, trasferite su un supporto dotato di un nuovo filtro, fotografate e misurate.

In particolare sono state riconosciute 6 differenti tipologie di forma: le *fibre* definite tali da un diametro inferiore ai 50 μm , una lunghezza da 1 μm a 5 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. (Cesa et al., 2017; Magni et al., 2019; Liu et al., 2019); 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 (Magni et al., 2019); i *frammenti* sono rigidi, spessi, con bordi netti e forma irregolare (Lusher et al., 2017); i *film* sono più sottili e flessibili, anch'essi di forma irregolare; i *pellet* sono particelle in cui ogni punto della superficie ha la stessa distanza dal centro (Hartmann et al., 2019); i *foam* sono particelle di aspetto sferoidale che si deformano rapidamente sotto pressione e possono essere parzialmente elastiche (Kershaw et al., 2019).

Le MPs estratte sono state inoltre incluse in 5 classi dimensionali: 0,02-0,1 mm; 0,1-0,3 mm; 0,3-1 mm; 1-3 mm; 3-5 mm.

Per accertare la natura sintetica e identificare il tipo di polimero, le particelle raccolte sono state caratterizzate chimicamente utilizzando un sistema di microscopia FT-IR (*Spotlight 200i*) accoppiato al banco ottico *Spectrum Two* (PerkinElmer), in grado di caratterizzare in modalità micro-ATR oggetti di dimensioni fino ai 10 x 10 μm ($\mu\text{ATR-FTIR}$). Per ogni campione, 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 (selezionando ATRPolymer, polyATR, FIBERS3, plast1, RP, POLIMERI, PIGMENTI, resin e PERKIN1 libraries), con i database ottenuti all'interno del progetto BASEMAN di JPI-Oceans (Primpke et al., 2018) e con altri database personali. Sono stati accettati solo i polimeri con corrispondenza allo spettro di riferimento superiore al 70%, come suggerito da Avio et al. (2015). Basandosi sulle raccomandazioni di Hartmann *et al.* (2019) e di Suaria *et al.* (2020) sono stati considerati plastiche i polimeri sintetici, i copolimeri e i compositi.

3.3 Controllo della contaminazione esterna

Per prevenire la contaminazione da microplastiche esterne nei campioni di acqua e di mitili, sono state messe in atto specifiche accortezze sia in fase di campionamento che di processamento in laboratorio.

Il materiale plastico utilizzato per i campionamenti (es. barattoli e retini per la raccolta dei mitili) o oggetti di plastica presenti sull'imbarcazione che potevano rappresentare possibili fonti di contaminazione da MPs sono stati caratterizzati

per colore e tipologia polimerica così da poter escludere particelle simili nei campioni ambientali.

In laboratorio, le procedure di estrazione e caratterizzazione per l'analisi delle MPs, sono state eseguite in una stanza dedicata, dove la presenza del personale è stata ridotta ad un massimo di due persone nello stesso momento; quando possibile le attività sono state svolte sotto una cappa a flusso laminare. Gli operatori hanno indossato guanti in nitrile, vestiti e camici da laboratorio in cotone. I banchi da lavoro sono stati puliti con etanolo puro prima di iniziare le attività e dopo ogni fase di lavorazione dei campioni. Quando possibile, sono stati utilizzati contenitori in vetro (es. piastre Petri, becher, cilindri) e strumenti in metallo, i quali sono stati risciacquati con acqua ultrapura, ulteriormente puliti con aria compressa e ricoperti con fogli di alluminio prima dell'uso. Gli accessori per la filtrazione sottovuoto sono stati sottoposti allo stesso trattamento. La soluzione di H₂O₂ al 15% è stata preparata in acqua ultrapura e ulteriormente filtrata su membrane sterili di acetato di cellulosa con pori di 0,45 µm; anche la soluzione di KOH al 10% è stata preparata in acqua ultrapura ma non è stata sottoposta a una filtrazione aggiuntiva su membrana di cellulosa per evitare la possibile decomposizione del filtro.

In aggiunta, sono stati eseguiti dei campioni di “bianco” cioè campioni di controllo che servono per tenere conto delle MPs esogene eventualmente

derivate dalla contaminazione di fondo, rappresentata da fibre o particelle veicolate dall'aria o rilasciate dai camici e dagli indumenti di laboratorio degli operatori o dal materiale utilizzato per il processamento dei campioni, nonostante le precauzioni applicate. L'esecuzione di bianchi durante il campionamento e il processamento di matrici per le analisi delle microplastiche è fondamentale per evitare di ottenere una sovrastima delle MPs realmente presenti nelle matrici analizzate.

I campioni di bianco consistevano in 100 ml di acqua ultrapura posti all'interno di contenitori o becher che venivano lasciati aperti durante la fase di raccolta del campione dal collettore della rete Manta e durante la dissezione degli organismi in laboratorio. È stato eseguito un campione di bianco per ogni campione di acqua raccolto e un bianco per ogni batteria di 10/15 organismi dissezionati che sono stati processati esattamente come i campioni di acqua e di mitili: i risultati hanno escluso una contaminazione esterna da plastica sia in fase di campionamento che di caratterizzazione poiché le uniche microparticelle di natura antropogenica ritrovate nei bianchi erano microfibre di origine naturale a base cellulosica (quindi non plastiche), in quantità da zero a un massimo di 6 nei bianchi relativi alle acque superficiali e da zero a un massimo di 5 in quelli relativi al processamento dei mitili.

4. RISULTATI

4.1 Abbondanze e caratteristiche delle MPs nelle acque superficiali della zona del Conero

Il numero di MPs rilevato nei campioni di acqua superficiale durante la campagna autunnale è compreso tra 0,09 MPs/m³ nel sito Portonovo (MC5) e 0,49 MPs/m³ nel sito Passetto (MC1), mentre nelle acque campionate durante il periodo estivo, il numero di MPs per m³ all'interno dei campioni varia tra i valori 0,08 nel sito Passetto (MC2) e 0,39 nel sito Portonovo (MC5). In generale, nella stagione autunnale si osserva un decremento delle abbondanze delle MPs dalla zona del Passetto verso l'area di Portonovo. Tale trend non è stato riscontrato nella stagione estiva: Portonovo risulta il sito con le concentrazioni più alte mentre i livelli di MPs nelle acque superficiali del Passetto e del Trave sono comparabili (Figura 5).

Durante il campionamento autunnale, le microplastiche in forma di frammenti sono risultate le più abbondanti con un contributo percentuale sul totale di circa l'80% nel sito Passetto (MC1 e MC2), tra il 74 e l'82% nel sito Trave (MC3 e MC4) e del 100% nel sito Portonovo (MC5), seguiti dalle fibre con percentuali che vanno dall'8-10% nel sito Passetto al 14-16% nel sito Trave. I film sono stati ritrovati solo nei campioni raccolti nei siti Passetto (MC2, frequenza del 6%) e Trave (MC3, 10,5% e MC4, 4%), mentre le MPs in forma di linee e foam sono presenti solo nelle acque sito Passetto (MC1) con percentuali

rispettivamente dello 0,9% e 8% ed assenti in tutti gli altri siti come anche i pellet che sono assenti in tutti i siti investigati (Figura 6A).

I frammenti sono le forme di MPs più frequentemente ritrovate anche nei campionamenti effettuati durante la stagione estiva con percentuali che vanno dal 48% al 56%, ma risultano assenti nel campione di acqua raccolto dal transetto MC3 del sito Trave, dove dominano invece le fibre (96%). In generale, le fibre sono state ritrovate più frequentemente nella campagna estiva rispetto all'autunnale in tutti i campioni di acqua con percentuali che vanno dal 13% (MC5) al 22% (MC1 E MC4) al 39% (MC2). I film variano in percentuale tra l'11% e il 22%, tranne che nel sito Trave (MC3) dove risultano assenti. Linee, pellet e foam sono assenti nel sito Passetto (MC1, MC2). Nel sito Trave (MC3) le linee sono pari al 4% delle MPs totali mentre nel transetto MC4 sono pari al 7,4% del totale; i pellet sono assenti nei transetti MC3 ed MC4 mentre i foam sono assenti in MC3 e presenti con una percentuale pari al 3,7% del totale in MC4. Nel sito Portonovo sono assenti linee e pellet, mentre i foam sono pari al 15,6% del totale (Figura 6B). In generale, nella campagna autunnale vi è un netto divario tra i frammenti, i quali rappresentano in media l'85% delle MPs totali raccolte e le fibre che costituiscono solo il 10% del totale, mentre nella stagione estiva i frammenti e le fibre sono presenti in percentuali simili (41% e 39% del totale) contrariamente a quanto evidenziato in autunno.

Nei campioni ottenuti nella stagione autunnale, la classe dimensionale più abbondante è quella che va da 1 a 3 mm con percentuali che vanno dal 32 % del totale nel sito Trave (MC3) al 60% nel sito Portonovo (MC5), mentre le classi dimensionali 0,3-1 mm e 3-5 mm sono presenti in tutti e tre i siti, con percentuali che vanno rispettivamente dal 10% nel sito Portonovo al 36,8% nel sito Trave (MC3) per la dimensione compresa tra 0,3 ed 1 mm e tra il 19,5% del sito Passetto (MC1) e 31,6% del sito Trave (MC3) per la dimensione compresa tra 3 e 5 mm. La classe dimensionale 0,02-0,1 mm risulta assente nei campioni, mentre quella 0,1-0,3 mm è presente con una percentuale pari al 7,1% delle MPs totali solo nel sito Passetto (MC2) (Figura 7A).

Nei campioni raccolti nella stagione estiva la classe dimensionale più abbondante è quella che va da 1 a 3 mm con percentuali variabili tra il 39% nel sito Passetto (MC2) ed il 62% nel sito Portonovo. A seguire, le MPs con una dimensione compresa tra 0,3 e 1 mm sono presenti in tutti e tre i siti di campionamento con percentuali variabili tra il 15% nel sito Passetto (MC1) e il 31% nel sito Trave (MC3). La classe dimensionale più grande (3-5 mm) è presente in tutti e tre i siti con percentuali variabili tra il 7,4% nel sito Passetto (MC1) e il 23% nel sito Trave (MC3). La classe dimensionale più piccola (0,02-0,1 mm) è presente solo nel sito Passetto (MC1) con un valore pari al 7,4% del totale mentre la classe dimensionale 0,1-0,3 mm è assente nei transetti MC3 ed

MC5 mentre nei restanti transetti è presente con percentuali comprese tra il 7,4% (MC4) ed il 22% (MC2). In estate è emerso che in tre siti dei cinque totali, sono presenti MPs appartenenti alla classe dimensionale 0,1-0,3 mm rispetto a quanto visto nei campioni autunnali dove è stata trovata questa classe dimensionale solo nel sito Passetto (MC2) (Figura 7B). In generale, la maggior parte delle MPs estratte da tutti i campioni di acqua superficiale e per entrambi i periodi di campionamento rientrano nelle due classi dimensionali più grandi (1-3 mm e 3-5 mm), tuttavia durante la campagna estiva rispetto all'autunnale aumenta il contributo delle MPs più piccole di 0,3 mm e nel sito Passetto in particolare.

La caratterizzazione chimica ha evidenziato che i polimeri più abbondanti riscontrati nelle acque superficiali della zona del Conero sono il polietilene (PE) e il prolipropilene (PP): insieme contribuiscono tra il 90 e il 100% del totale delle MPs ritrovate durante la campagna autunnale, e tra il 63 e 91% di quelle campionate durante la stagione estiva, in questo periodo l'eccezione è rappresentata dal transetto MC3 (Trave) dove il polimero più rappresentato è il poliestere (PES, 81%) ed è dovuto all'elevata frequenza di fibre riscontrate in questo campione (Figura 8 A e B).

Altre tipologie polimeriche sono state ritrovate con contributi percentuali minori. Nei campioni autunnali, l'etilene vinil acetato (EVA) è presente nelle

acque raccolte nel sito Trave (MC3) con una percentuale pari al 5% mentre è assente in tutti gli altri siti. Il PES è presente nei campioni raccolti nei transetti MC1, MC2 ed MC4 con una percentuale variabile tra il 3% (MC1) ed il 11% (MC4). La poliammide (PA) è presente con una percentuale compresa tra il 2% ed il 5% nei campioni del sito Passetto (MC1 e MC2) e del sito Trave (MC3); il copolimero etilene propilene diene (EPDM) è presente solo nei campioni del sito Passetto con una percentuale pari allo 0,9% delle MPs totali (Figura 8A).

Nella campagna estiva, il PES, ad eccezione del sito MC3 presente ad elevate frequenze e assente nel transetto MC2 del Passetto, è stato ritrovato con percentuali intorno al 20% nei campioni MC1 (Passetto) e MC4 (Trave) e con una frequenza del 9% nel sito Portonovo (MC5). Il PAK è presente solo nel sito Trave (MC4) e Portonovo con percentuali rispettivamente del 4% e 2%; il polistirene (PS) è presente con una frequenza del 3%, 8% e 16% rispettivamente nei transetti MC2, MC4 e MC5. La PA e l'EPDM sono presenti solo nel sito Passetto (MC2) con percentuali rispettivamente dell'1,4% e 4% (Figura 8B). In generale, le MPs rilevate nei campioni estivi mostrano una maggiore eterogeneità nella composizione dei polimeri rispetto a quelle rilevate in autunno dove la quasi totalità, come precedentemente sottolineato, è composta da PE e PP.

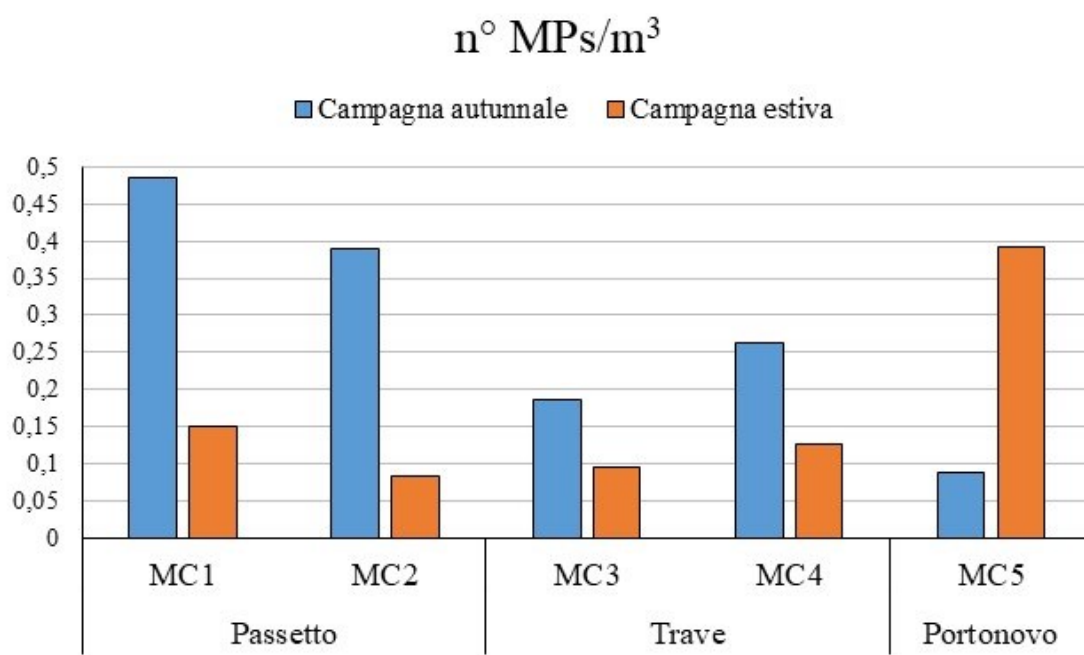


Figura 5. *Abbondanze delle MPs nelle acque superficiali relative ai tre siti di indagine campionate in autunno e in estate.*

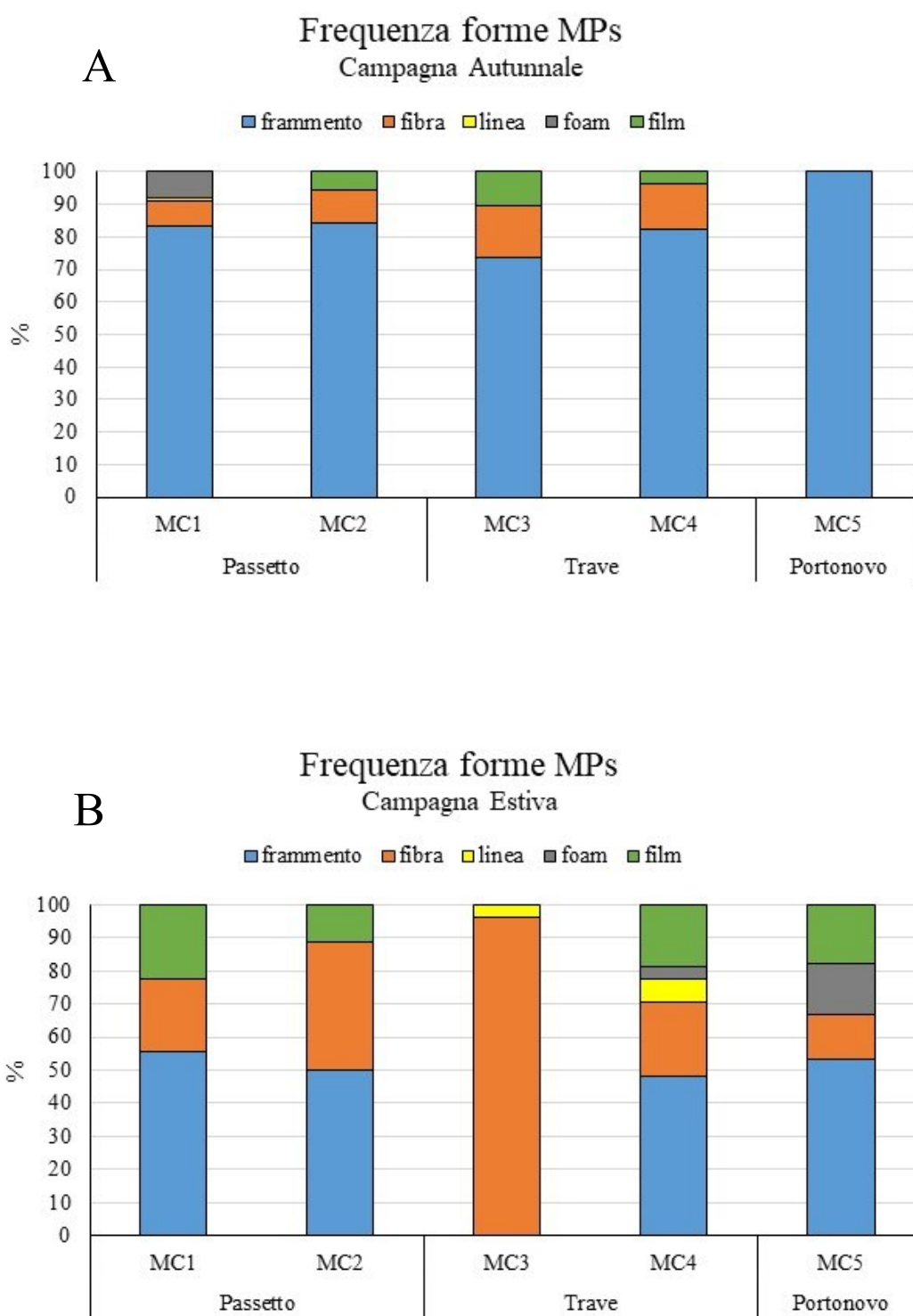


Figura 6. Contributo percentuale (frequenza) delle varie forme alle MPs totali relative ai tre siti di indagine, campionate durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva.

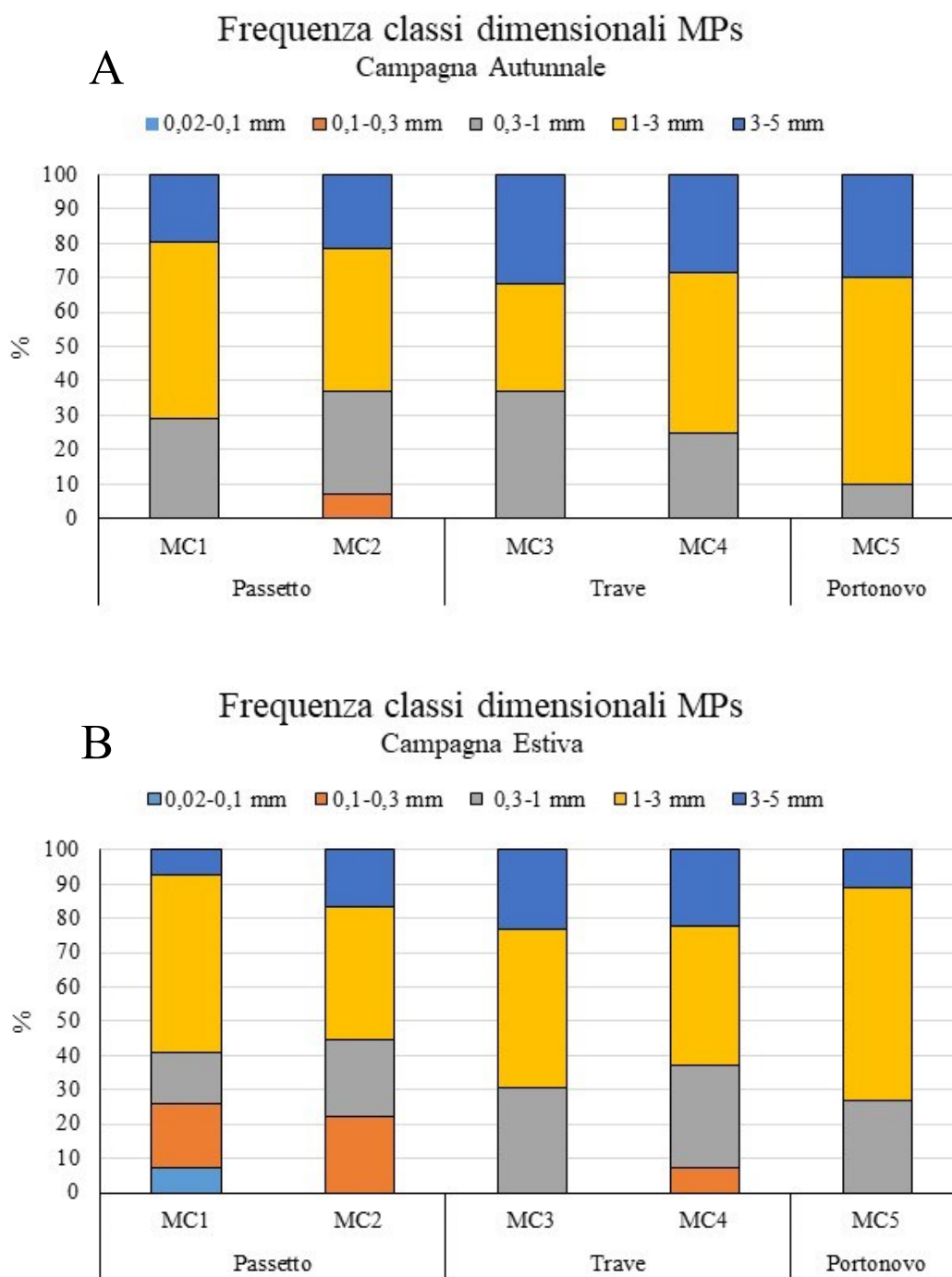


Figura 7. Contributo percentuale (frequenza) delle varie classi dimensionali alle MPs totali relative ai tre siti di indagine, campionate durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva.

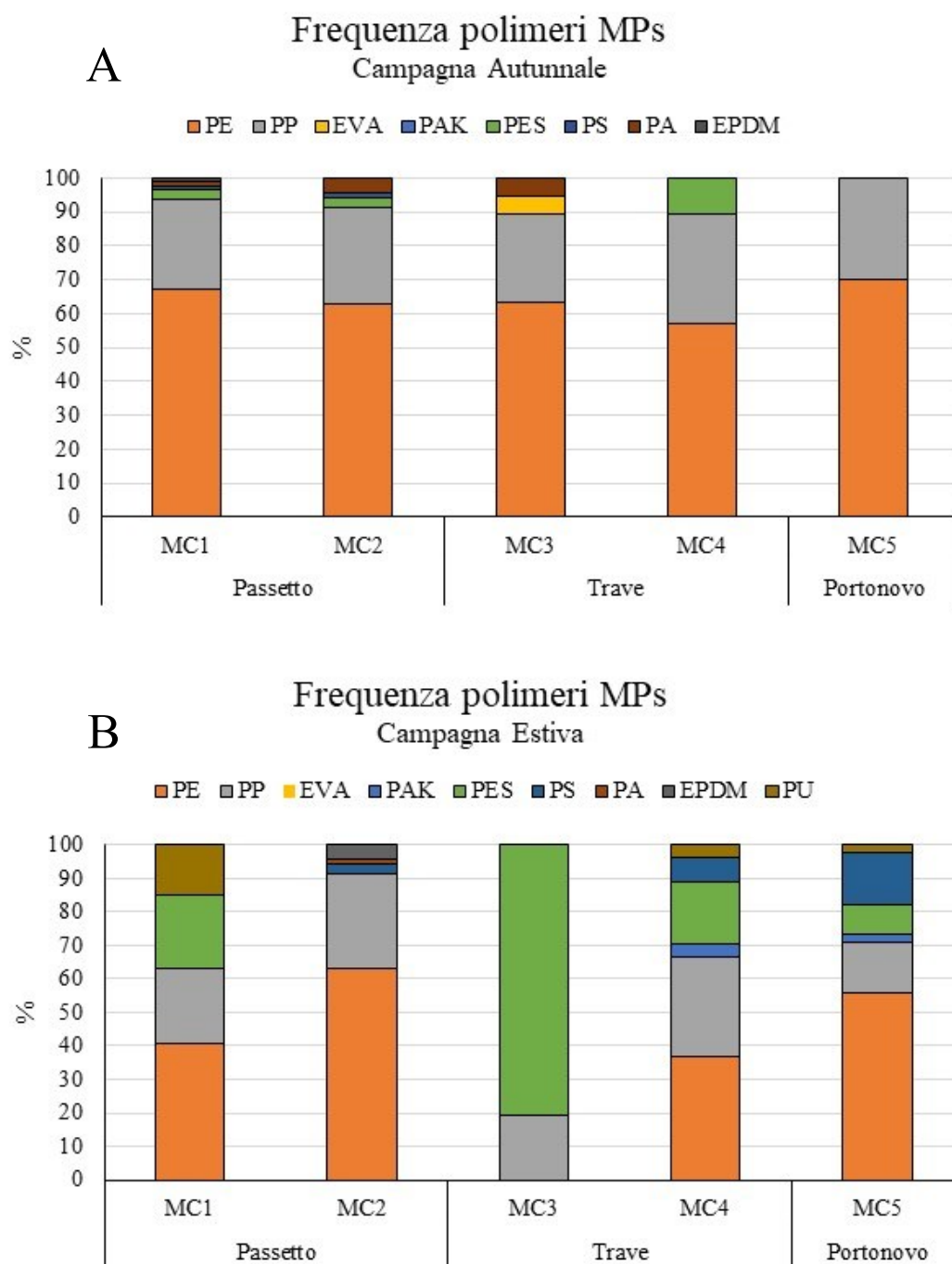


Figura 8. Contributo percentuale (frequenza) delle varie tipologie di polimeri, alle MPs totali relative ai tre siti di indagine, campionate durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva.

PE: polietilene, PP: polipropilene, EVA: copolimero etilene vinil acetato, PAK: poliacrilato, PES: poliestere, PS: polistirene, PA: poliammide, EPDM: copolimero etilene propilene diene, PU: poliuretano.

4.2 Abbondanze e caratteristiche delle MPs nei mitili della zona del Conero

Nei tessuti dei mitili raccolti durante la campagna autunnale sono state riscontrate una media di $1,75 \pm 0,96$ MPs/individuo nel sito Passetto, $1,75 \pm 0,5$ MPs/individuo nel sito Trave e $1,6 \pm 0,55$ MPs/individuo nel sito Portonovo (Figura 9); gli individui ritrovati positivi all'ingestione di almeno una MPs (frequenza di ingestione) erano 4 su 10 nel sito Passetto e Trave (40%) e 5 su 10 nel sito Portonovo (50%) (Figura 10). Negli organismi raccolti durante la stagione estiva, la media di MPs ingerite per individuo è pari a $1,56 \pm 0,73$ nel sito Passetto, 1 ± 0 nel sito Trave e $1,8 \pm 1,1$ nel sito Portonovo (Figura 9); le frequenze di ingestione sono invece pari al 60% nel sito Passetto, 30 % nel sito Trave e 50% nel sito Portonovo. In generale, negli organismi risultati positivi all'ingestione di microplastiche sono state ritrovate un numero massimo di 3 particelle; i mitili raccolti nel sito Passetto hanno una frequenza di ingestione di MPs maggiore durante l'estate rispetto al periodo autunnale a differenza degli altri due siti dove la frequenza di ingestione rimane completamente invariata come nel sito Portonovo o varia leggermente diminuendo in estate (30%) rispetto all'autunno (40%) come accade nei mitili raccolti nel sito Trave. Nei mitili raccolti durante l'autunno, la tipologia di MPs più abbondante nei siti Passetto e Trave è la fibra con percentuali rispettivamente del 43% e 86%, mentre nel sito Portonovo le fibre sono presenti con una percentuale pari al

38%. I frammenti sono presenti nel 29% dei campioni nel sito Passetto e nel 14% dei campioni nel sito Trave mentre sono la forma più abbondante nel sito Portonovo con una percentuale pari al 50% del totale delle MPs trovate nei mitili di questo sito. Le linee sono presenti con una percentuale pari al 14% nei mitili del sito Passetto mentre non sono state estratte dagli organismi prelevati al Trave e Portonovo. I film presenti con una percentuale pari al 14% nei mitili campionati nel sito Passetto e 13% nel sito Portonovo ma sono assenti in quelli del Trave (Figura 11A).

I mitili campionati durante la campagna estiva dal sito di Portonovo hanno ingerito film, fibre e frammenti, un contributo percentuale rispettivamente di 43%, 36% e 21%, mentre nei tessuti dei mitili dei siti Trave e Portonovo sono state estratte solo fibre e film, le prime sono state riscontrate con una frequenza maggiore (67% per entrambi i siti); non sono state ritrovate linee nei mitili del campionamento estivo (Figura 11B).

Negli organismi raccolti durante la campagna autunnale nel sito Passetto, la classe dimensionale più diffusa è quella 0,1-0,3 mm contribuendo al 57% delle MPs estratte, seguita dalla classe 1-3 mm (29%) e 0,3-1 mm (14%), mentre sono assenti le MPs appartenenti alla classe dimensionale 0,02-0,1 mm e 3-5 mm. Nel sito Trave, gli organismi hanno ingerito maggiormente MPs comprese nel range dimensionale 0,3-1 mm (43%) seguite da quelle nel range 0,1-0,3 mm

e 1-3 mm (entrambe con una frequenza del 29%) ed anche nei mitili campionati in questo sito sono assenti le MPs comprese tra 0,02-0,1 mm e 3-5 mm. Nel sito Portonovo le MPs più abbondanti hanno una dimensione compresa tra 0,1 e 0,3 mm con una percentuale del 50%, seguite da quelle comprese tra 1 e 3 mm (25%) e quelle tra 0,02-0,1 mm e 0,3-1 mm con la stessa percentuale del 13%; assente la classe dimensionale 3-5 mm (Figura 12A).

Nei mitili raccolti durante l'estate si è visto che la classe dimensionale più abbondante relativamente al sito Passetto è quella 0,02-0,1 mm con una frequenza del 57% seguita da 0,3-1 mm con una frequenza del 29%; la classe dimensionale 0,1-0,3 mm e 1-3 mm è presente con la stessa frequenza del 7% mentre le MPs comprese tra 3 e 5 mm sono assenti. Negli organismi del Trave le MPs comprese nelle classi dimensionali 0,02-0,1 mm, 0,3-1 mm e 1-3 mm sono presenti con la stessa frequenza del 33% mentre quelle comprese tra 0,1-0,3 mm e 3-5 mm sono assenti. Nei mitili campionati a Portonovo la classe di taglia più frequente è quella 0,3-1 mm con una frequenza del 33% mentre le MPs di dimensione 0,1-0,3 mm e 3-5 mm sono presenti con una frequenza del 22% e quelle comprese nel range 0,02-0,1 mm e 1-3 mm sono presenti con una frequenza dell'11% (Figura 11B). In generale, gli organismi raccolti durante l'estate hanno mostrato una maggior concentrazione di MPs appartenenti alla classe dimensionale più piccola (0,02-0,1 mm) rispetto all'autunno dove sono

quasi assenti mentre in entrambe le stagioni si riscontra l'assenza delle MPs di dimensione più grande (3-5 mm) ad eccezione del sito Portonovo durante la stagione estiva (Figura 12B).

La caratterizzazione polimerica ha mostrato che circa il 60% delle microplastiche estratte dai mitili del sito Passetto durante la campagna autunnale sono in PES, mentre la resina acrilica, il PU e la gomma clorurata sono le tipologie polimeriche delle restanti MPs estratte, contribuendo ciascuna con un 14% del totale. Nei mitili raccolti nel sito Trave le MPs sono principalmente in PES e PA (entrambe 29%) ma sono state ritrovate nei tessuti anche MPs in polivinil cloruro (PVC), PAK e PP contribuendo in parti uguali alle totali estratte (14%). Nei mitili del sito Portonovo il PE e il silicone (SI) sono i polimeri più frequentemente riscontrati (38 e 25%, rispettivamente), seguiti dal polivinil alcol (PVA), il politetrafluoroetilene (PTFE) ed il PES contribuendo il egual misura (12,5%) (Figura 13A).

Nella campagna estiva, i mitili raccolti nel sito Passetto hanno una percentuale di frequenza di MPs in PES e PA del 36%, mentre il PE, il PS, il PVC e il copolimero stirene butadiene hanno una frequenza del 7%. Le MPs estratte dagli organismi campionati al Trave, sono principalmente in PES (67%) e il PE rappresenta l'unico altro polimero ritrovato (33%). Nei mitili campionati nel sito Portonovo, il PES ed EVA contribuiscono con un 33% alle MPs totali

estratte, le restanti particelle sono in PE, PAK e PVA (11% ognuno). In generale, nei mitili campionati durante la stagione autunnale è stata riscontrata una eterogeneità maggiore di polimeri plastici rispetto a quanto visto nei mitili raccolti durante l'estate (Figura13B).

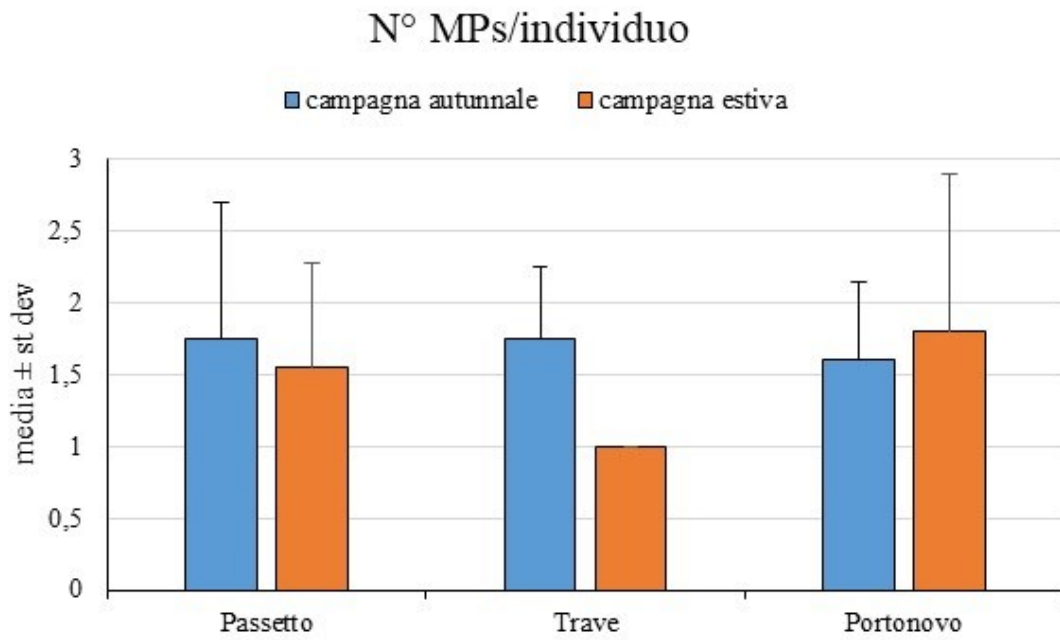


Figura 9. *Abbondanze delle MPs nei mitili relative ai tre siti di indagine campionati in autunno e in estate. I valori sono espressi come media ± dev. standard.*

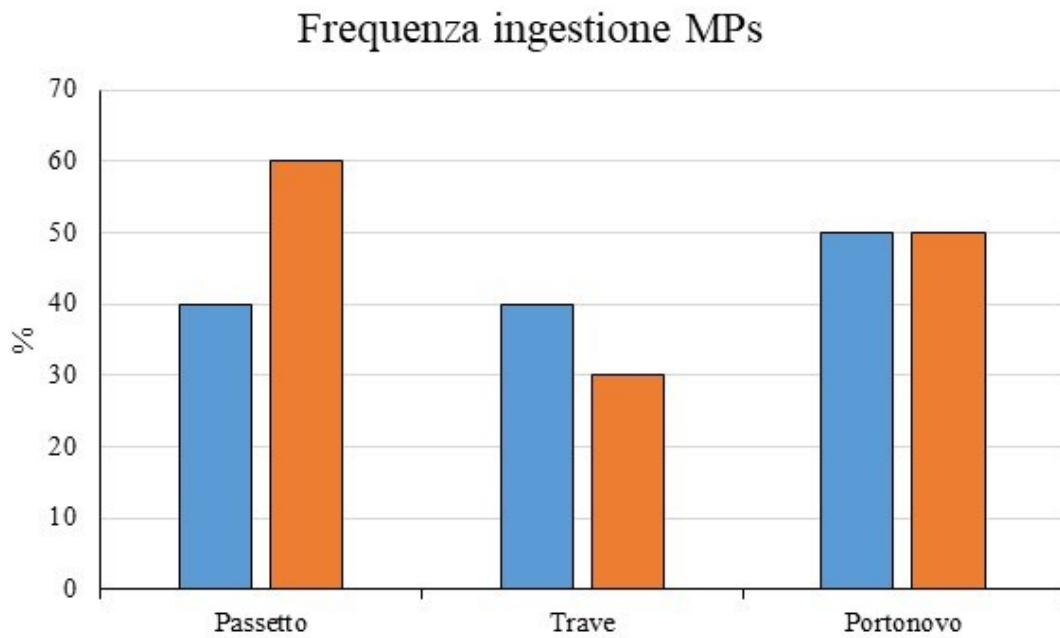


Figura 10. *Contributo percentuale (frequenza) dell'ingestione delle MPs nei mitili relativi ai tre siti di indagine, campionati durante la campagna autunnale e estiva.*

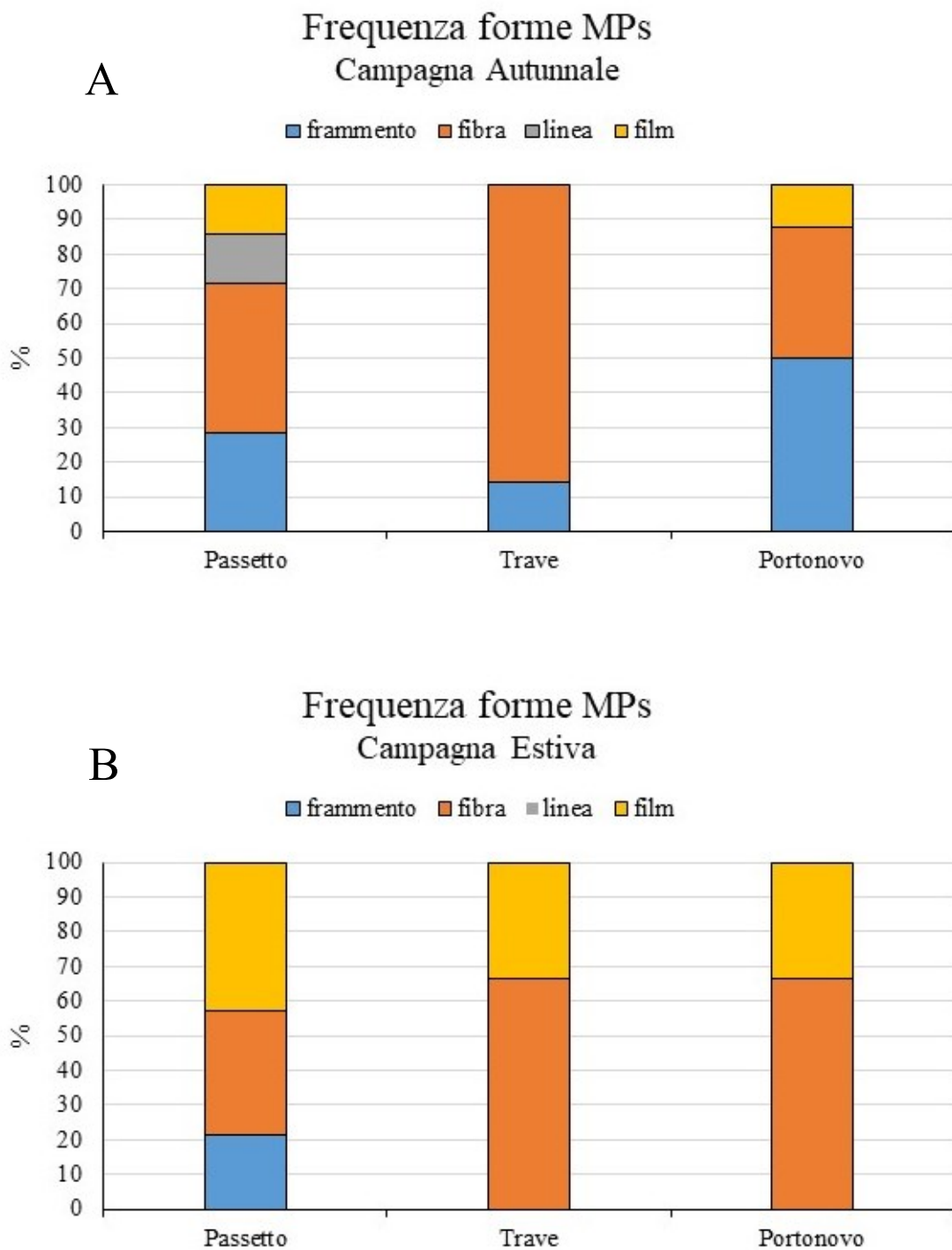


Figura 11. Contributo percentuale (frequenza) delle varie forme alle MPs totali nei mitili relativi ai tre siti di indagine, campionati durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva.

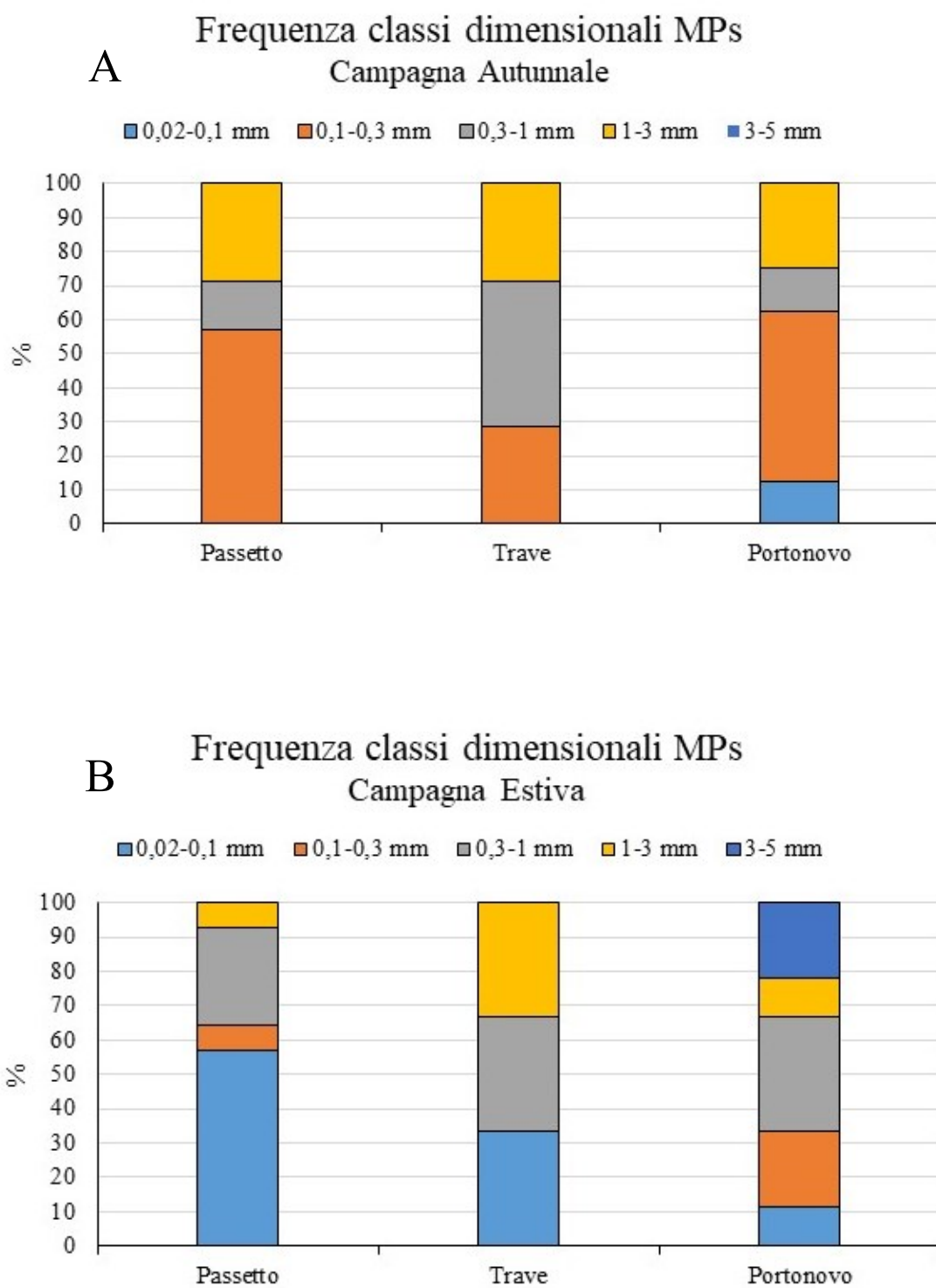


Figura 12. Contributo percentuale (frequenza) delle classi dimensionali alle MPs totali nei mitili relativi ai tre siti di indagine, campionati durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva.

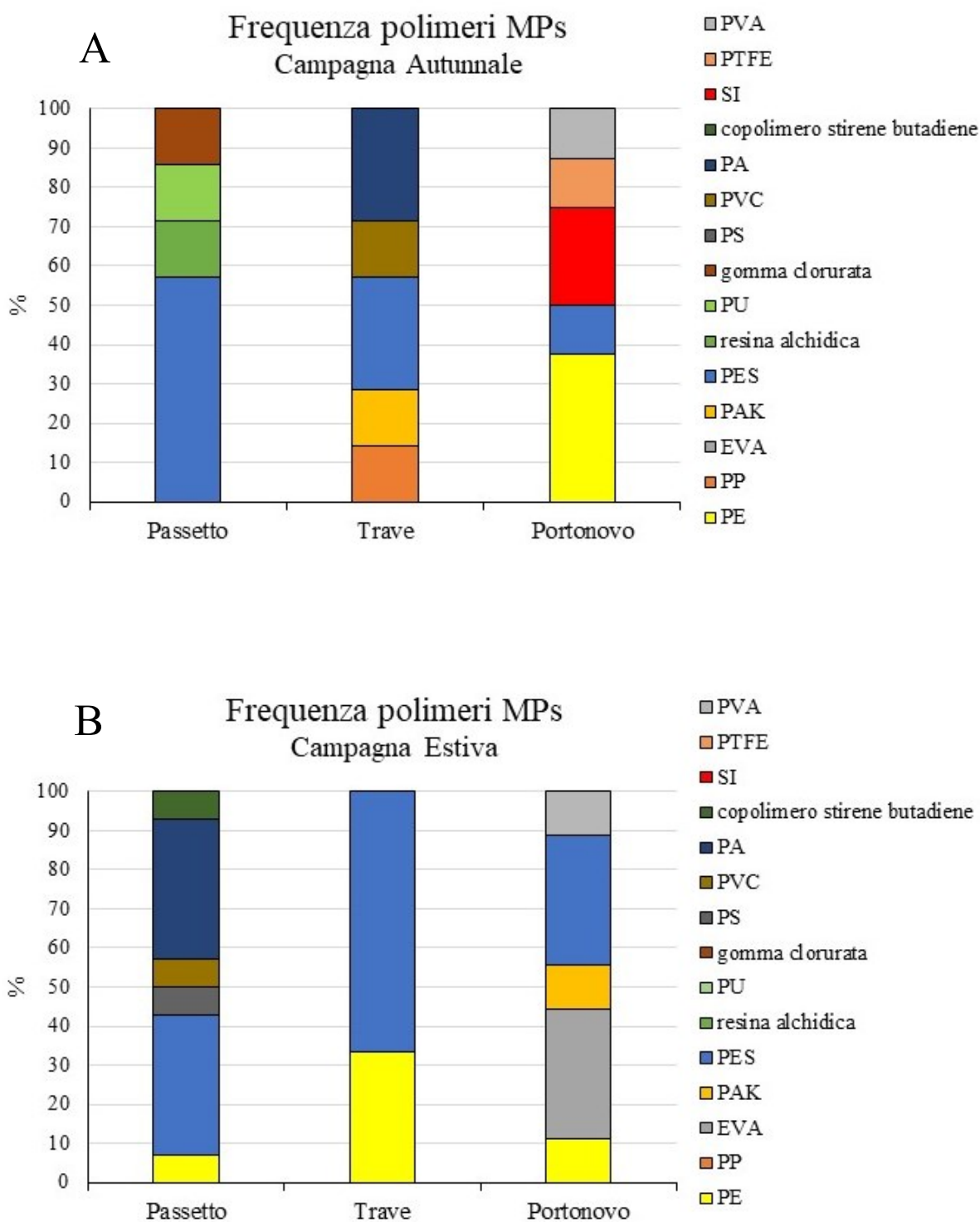


Figura 13. Contributo percentuale (frequenza) delle varie tipologie di polimeri alle MPs totali nei mitili relativi ai tre siti di indagine, campionati durante (A) la campagna autunnale e (B) estiva. PVA: polivinil alcol, PTFE: politetrafluoroetilene, SI: silicone, PA: poliammide, PVC: polivinilcloruro, PS: polistirene, PU: poliuretano, PES: poliestere, PAK: poliacrilato, EVA: etilene vinil acetato, PP: polipropilene, PE: polietilene.

5. DISCUSSIONE

Il Mare Adriatico è soggetto a notevoli immissioni di polimeri plastici derivati principalmente dai 62 grandi fiumi che sfociano nelle sue acque, dalla forte antropizzazione delle sue coste e dalle numerose attività legate alla pesca ed al turismo che l'uomo svolge nel mare (Liubartseva et al., 2016).

La costa marchigiana ed in particolare la zona del Promontorio del Conero, non è esente da questa forma di inquinamento. Infatti, durante l'estate del 2021, nell'ambito del progetto "Insieme per il Mar Mediterraneo", nato da una iniziativa di Marevivo con il supporto di Tezenis, delle aziende Garbage group e Iris e dell'Università Politecnica delle Marche, è stata condotta un'attività di pulizia degli specchi d'acqua e delle spiagge della costa marchigiana e una successiva caratterizzazione del materiale raccolto. Lo studio ha rivelato che dei 12.306 kg di rifiuti raccolti, più del 91% del totale era rappresentato da materiali plastici, evidenziando così una massiccia presenza di questo inquinante nelle acque marchigiane. In particolare, il 75% delle macroplastiche raccolte nell'area del Promontorio del Conero derivava da attività riconducibili alla pesca (boe, cime, reti, cassette di polistirolo) mentre il restante 20% da prodotti usati per il packaging (bottiglie, flaconi, buste, ecc....) ed i polimeri maggiormente riscontrati erano il polietilene (PE), il polietilene tereftalato (PET) appartenente alla famiglia dei poliesteri (PES), il polistirene espanso

(EPS) ed il polipropilene (PP) ([https://marevivo.it/wp-content/uploads/2021/10/REPORT_INSIEME-PER-IL-MAR-](https://marevivo.it/wp-content/uploads/2021/10/REPORT_INSIEME-PER-IL-MAR-MEDITERRANEO.pdf)

[MEDITERRANEO.pdf](https://marevivo.it/wp-content/uploads/2021/10/REPORT_INSIEME-PER-IL-MAR-MEDITERRANEO.pdf)). Questi dati dimostrano la presenza di molteplici input di materiale plastico di natura diversa lungo la riviera del Conero.

In questo lavoro di tesi è stata condotta per la prima volta una caratterizzazione delle microplastiche nelle acque costiere del Promontorio del Conero ed è stata valutata la loro biodisponibilità per gli organismi che le abitano utilizzando il mitilo mediterraneo come bioindicatore. Inoltre, grazie allo studio precedentemente citato è stato possibile evidenziare una relazione con le tipologie di macro-oggetti plastici rilevati nella stessa area. I campionamenti sono stati condotti in tre zone (Passetto, Trave, Portonovo) caratterizzate da diverso impatto antropico e sono stati ripetuti in autunno e in estate con lo scopo di evidenziare possibili variazioni legate sia al sito di indagine che alla stagionalità.

Le analisi effettuate sui campioni di acque superficiali della riviera del Conero hanno rilevato un numero medio di MPs per m³ di 0,23 (±0,15) con livelli variabili tra le aree investigate tra 0,09 e 0,49 MPs/m³ (corrispondenti a circa 3,50 x 10⁴ MPs/Km² e 19,45 x 10⁴ MPs/Km²) che risultano confrontabili con le abbondanze di 0,04-0,17 MPs/m³ riscontrate nei transetti effettuati sotto costa dallo studio condotto da Capriotti et al. (2021) in un'area a sud della

regione Marche a circa 80 Km dalla città di Ancona. Concentrazioni simili sono state ritrovate anche nelle acque superficiali dell'Adriatico Meridionale (Isole Tremiti, $0,165 \pm 0,043$ MPs/m³, de Lucia et al., 2018), e del Mar Tirreno nell'area del Santuario dei Cetacei ($0,17 \pm 0,32$ MPs/m³, Panti et al., 2015), delle Isole Eolie, Ischia, Ventotene, Asinara e Elba (de Lucia et al., 2018) dell'Arcipelago Toscano (concentrazione media 69.161 MPs/km², Bainsi et al., 2019) e nella maggior parte dei campioni di acqua superficiale raccolti lungo le coste della Liguria, Toscana, Campania e Sardegna durante le campagne di ricerca che l'Università Politecnica delle Marche e il CNR-IAS di Genova hanno condotto in collaborazione con Greenpeace Italia dal 2017 al 2020 (https://www.greenpeace.org/static/planet4-italy-stateless/2018/11/549f2090-549f2090-ismar_report_finale.pdf; https://www.greenpeace.org/static/planet4-italy-stateless/2021/06/411896f5-cnr-ias-report-greenpeace-2020-tour-_difendiamo-il-mare_04062021-new.pdf). Le concentrazioni di MPs ritrovate nel presente studio sono invece inferiori a quelle rilevate da Kazour et al. (2019) ($4,3$ MPs/m³) e Adamopoulou et al. (2021) ($1,18$ MPs/m³) nel bacino est del Mar Mediterraneo, o da Vianello et al., (2018) relativamente alle acque della zona del nord Adriatico ($2,21$ MPs/m² foce fiume Po e Golfo di Venezia).

Dal confronto si evince che vi sia un gradiente di abbondanza di MPs nelle acque del Mar Mediterraneo che va ad aumentare verso est, probabilmente a

causa delle correnti circolari che attraversano l'intero bacino, causando l'accumulo di queste nella zona orientale del Mar Mediterraneo (Kazour et al., 2019) e nel bacino Adriatico concentrazioni maggiori si riscontrano a Nord probabilmente questo è legato all'influenza del fiume Po poiché è noto che rappresenta un input importante di MPs. Nel Mar Adriatico è presente un insieme di correnti che influenzano il trasporto e la distribuzione delle microplastiche al suo interno; in particolare, l'Adriatico centrale è attraversato da una corrente costiera proveniente da nord (WAC) che percorre tutta la costa adriatica fino all'estremo sud. Questa corrente raccoglie e trasporta le MPs provenienti dal Golfo di Venezia, dal fiume Po e dagli input locali presenti lungo il percorso, per poi ridistribuirle secondo un gradiente di concentrazione che va a diminuire man mano che ci si sposta verso le coste pugliesi (Liubartseva et al., 2016).

Il confronto tra i risultati ottenuti dalle acque campionate in autunno mostra un numero maggiore di MPs nel sito più vicino alla città di Ancona (Passetto), seguito dal sito Trave mentre nel sito Portonovo non vi è una significativa abbondanza. Al contrario, i dati relativi al periodo estivo mostrano un netto aumento dell'abbondanza di MPs nel sito Portonovo rispetto ai due siti più vicini ad Ancona. Probabilmente ciò è dovuto al fatto che in autunno l'input di MPs più significativo deriva dall'antropizzazione e dagli scarichi urbani, di

conseguenza ad avere una concentrazione maggiore sono proprio i siti localizzati più vicino alla sorgente input, mentre in estate vi è un grande afflusso di turisti a Portonovo che sembrano essere il principale input di MPs in questa stagione ed in questa località, rispetto ai siti che sono meno interessati da questo fenomeno.

Le analisi delle acque superficiali hanno evidenziato che la forma dominante tra le MPs raccolte è il frammento (75% in autunno e circa 50% in estate) come visto anche da Tsiarias et al., (2022), Kazour et al., (2019) e Adamopoulou et al., (2021) in altre aree del bacino orientale del Mar Mediterraneo, del Golfo del Leone e lungo la costa ligure. In base a questo risultato possiamo ipotizzare che i frammenti raccolti abbiano un'origine secondaria, cioè derivino dalla frammentazione degli oggetti di plastica più grandi, vista la grande quantità di macroplastica raccolta in occasione del progetto “Insieme per il Mar Mediterraneo” (https://marevivo.it/wp-content/uploads/2021/10/REPORT_INSIEME-PER-IL-MAR-MEDITERRANEO.pdf). Tuttavia, le analisi delle acque superficiali

campionate nella stagione estiva hanno evidenziato un diverso contributo delle diverse forme al totale delle MPs raccolte nelle acque del Promontorio del Conero, rispetto alle acque campionate in autunno e contrariamente ai risultati ottenuti dagli autori precedentemente citati; in particolare il numero di fibre

aumenta, costituendo circa il 40% delle particelle plastiche campionate. Ciò è dovuto probabilmente al forte impatto antropico che deriva dalla balneazione del Promontorio, il quale in estate è una meta turistica d'elezione. Inoltre, la corrente occidentale adriatica potrebbe essere responsabile del trasporto di un gran numero di fibre provenienti dalle coste situate più a nord del Promontorio del Conero (Liubartseva et al., 2016), anch'esse caratterizzate da un elevato afflusso di turisti durante la stagione balneare.

L'analisi delle dimensioni delle MPs raccolte nei cinque transetti durante la stagione autunnale ha evidenziato che la maggior parte rientrano nelle classi di taglia maggiori (0,3 - 1 mm, 1 - 3 mm, 3-5 mm); questo dato è confrontabile con i risultati ottenuti da Cincinelli et al., (2019) e Tsiarias et al., (2021), con valori simili in altre zone del Mar Mediterraneo e nel Mar Tirreno. Al contrario, il confronto con lo studio di Kazour et al., (2019) e Adamopoulou et al. (2021), dimostra che nel bacino orientale del Mar Mediterraneo vi è una maggiore presenza di particelle di dimensioni inferiori a 0,1 mm ed una minor concentrazione di particelle di dimensioni > 3 mm. Tali variazioni della classe dimensionale negli studi presi in esame possono essere dovute all'utilizzo di reti Manta con maglie di dimensioni diverse, che di conseguenza risultano più efficienti nel raccogliere MPs di dimensioni specifiche relativamente al diametro di maglia utilizzato. Nelle acque superficiali campionate durante il

periodo estivo, nei transetti MC1, MC2 ed MC3 vi è la presenza di MPs appartenenti alla classe dimensionale 0,1 – 0,3 mm, che invece non troviamo negli altri transetti estivi e in nessun campione raccolto durante la classe autunnale. Ciò potrebbe essere dovuto a input locali associati alla balneazione ma sono necessari ulteriori studi per verificare e portare alla luce una reale presenza delle classi dimensionali più piccole in corrispondenza della stagione estiva piuttosto che in quella autunnale.

I polimeri più abbondanti tra le MPs raccolte nei cinque transetti sono il polietilene ed il polipropilene, così come in tutti i lavori presi in esame. Ciò è dovuto alla densità di questi polimeri, che essendo minore di quella dell'acqua di mare, tende a localizzarli in superficie e di conseguenza sono facilmente campionabili con le reti Neuston/Manta net (Fytianos et al., 2020).

Il confronto stagionale tra i dati ottenuti nei due diversi periodi porta alla luce una maggiore eterogeneità dei polimeri nei campioni di acqua superficiale raccolti durante l'estate; incrociando questi dati con i risultati dello studio di Vianello et al. (2019) relativamente alla zona del nord Adriatico, non si notano particolari variazioni nella composizione polimerica delle MPs raccolte. Inoltre, il confronto dei dati ottenuti in merito alla composizione polimerica delle MPs con quelli relativi alla composizione polimerica dei macro-oggetti plastici rinvenuti durante le attività del progetto “Insieme per il Mar

Mediterraneo” evidenzia una forte correlazione tra i polimeri che le costituiscono; ciò rafforza l’ipotesi legata all’origine secondaria delle MPs trovate nei campioni di acqua superficiale. Occorre tenere presente che l’utilizzo delle reti Manta e delle reti Neuston per il campionamento delle microplastiche limita la loro ricerca entro i primi 50 cm della colonna d’acqua e l’utilizzo delle convenzionali maglie di 300-100 μm comporta una sottostima delle microplastiche più piccole e delle fibre (Campanale et al., 2020). Pertanto, anche i dati ottenuti in merito alla presenza di questa classe di contaminanti nelle acque superficiali del Conero potrebbero non rispecchiare l’attuale concentrazione o composizione delle MPs in questa area.

È per questo motivo che risulta necessario integrare l’analisi di più matrici, abiotiche e biotiche, durante uno studio di caratterizzazione delle microplastiche in ambiente marino: per avere informazioni quanto più complete possibili riguardo la presenza di MPs nelle acque del Promontorio del Conero in questo studio di tesi ci si è avvalsi anche di organismi bioindicatori, in particolare di bivalvi filtratori, con il fine di ottenere indicazioni circa la presenza di MPs negli strati d’acqua inferiori a quelli campionati dalla rete Neuston grazie alla loro strategia trofica di nutrimento che prevede la filtrazione di grandi volumi della colonna d’acqua (Fossi et al., 2017). Infatti, i risultati di caratterizzazione delle MPs estratte dai mitili, ha permesso di

rilevare la presenza di particelle più piccole di 300 μm e in particolare nella forma di fibre, dimostrando come queste tipologie difficilmente rilevabili tramite l'utilizzo di reti Manta, siano in realtà biodisponibili per gli organismi che abitano il Promontorio del Conero.

Le analisi condotte nel presente studio di tesi hanno evidenziato che circa la metà dei mitili campionati in entrambe le stagioni erano positivi all'ingestione di almeno una microplastica evidenziando la biodisponibilità di MPs nell'area oggetto di questa indagine, che sono simili alle frequenze di ingestione di microparticelle di plastica riscontrate da Avio et al., (2020) nei mitili del centro e sud Adriatico (30%), da Gedik et al., (2020) lungo le coste della Turchia (64%) e da Digka et al., (2018) nel Mar Ionio (46,3%), contrariamente ai risultati ottenuti da Mercogliano et al. (2021) in 3 diverse località italiane (Mare Adriatico e Mar Tirreno) e da Wakkaf et al. (2020) lungo le coste tunisine, i cui mitili analizzati sono risultati tutti positivi all'ingestione di MPs. Il numero di MPs per individuo nei mitili campionati in autunno varia tra 1,6 e 1,75 mentre nei mitili campionati in estate varia tra 1 e 1,8. Durante la stagione estiva i mitili raccolti nel sito Passetto e nel sito Portonovo hanno un numero di MPs medio per individuo superiore ai corrispettivi raccolti durante la stagione estiva; al contrario i mitili raccolti nel sito Trave hanno un numero di MPs superiore nella stagione autunnale e minore nella stagione estiva. Tale variazione è

probabilmente collegata alla balneazione che interessa il sito Passetto ed il sito Portonovo durante la stagione estiva, causando un aumento delle MPs immesse nelle acque, che a loro volta risultano maggiormente biodisponibili per i mitili di queste zone. Al contrario, si ipotizza che, non essendo il sito Trave raggiungibile via terra, questo risente meno della balneazione estiva e di conseguenza i mitili di questa zona non subiscono un aumento dell'input di MPs associato al turismo. Le MPs più abbondanti nei mitili dei tre siti sono le fibre, in accordo con i risultati di Avio et al., (2020), Bajt., (2021) e Wakkaf et al., (2020), a dimostrazione di come questa tipologia di MPs stia diventando sempre più abbondante nelle acque di tutto il Mediterraneo. Il numero di fibre riscontrate nei mitili del Promontorio del Conero è maggiore rispetto alle altre tipologie di forme sia in autunno che in estate ma confrontando le due stagioni è evidente che in estate il numero di fibre aumenta. Ciò è dovuto con molta probabilità alla maggior presenza di turisti lungo le coste del Promontorio, che disperdono nell'ambiente e nelle acque le fibre associate al vestiario che indossano; in particolare, nel sito Portonovo e nel sito Trave si evidenzia la completa assenza di frammenti in estate, che lasciano spazio alle sole fibre (70%) e film (30%).

In accordo con Bajt., (2021) e Gomiero et al., (2019), la classe dimensionale più abbondante nei mitili raccolti nel periodo estivo è quella 0,02 – 0,1 mm,

seguita da quella 0,3 – 1 mm, mentre nella stagione autunnale la classe dimensionale più abbondante è quella 0,1 – 0,3 mm e quella 1 – 3 mm. Come detto in precedenza, confrontando i dati relativi alle acque superficiali e i dati relativi ai mitili, possiamo notare che nei mitili sono più abbondanti le particelle plastiche più piccole rispetto alle acque superficiali dove troviamo concentrazioni maggiori di MPs più grandi.

I polimeri più abbondanti nei mitili campionati nella stagione autunnale ed estiva sono il poliestere (PES), che comprende anche il polietilene tereftalato (PET), ed il polietilene (PE), oltre che polivinil alcol (PVA), silicone (SI), poliammide (PA), in accordo con quanto visto da Mercogliano et al. (2021), Bajt. (2021), Avio et al. (2020) e Wakkaf et al. (2020), mentre nei risultati di Gedik et al. (2020) relativi ai mitili raccolti lungo le coste turche, si evidenzia anche un contributo importante del polipropilene (PP) (28,4%) che nei mitili raccolti nella zona del Conero è presente con una bassa frequenza (14,3%) solo nel sito del Trave. Ciò è dovuto al fatto che vi sono polimeri più diffusi e più tipicamente utilizzati per la realizzazione della maggior parte dei manufatti plastici, che di conseguenza risultano essere più abbondanti negli ecosistemi e negli organismi marini. In particolare, il poliestere è il polimero più diffuso nel settore tessile per la realizzazione di capi d'abbigliamento sintetici, per cui vi è una forte correlazione tra l'elevata concentrazione di poliestere che ritroviamo

nei mitili campionati nel sito Trave durante il periodo estivo e la grande frazione di fibre raccolte negli stessi organismi. Il confronto stagionale tra i polimeri trovati nei mitili raccolti in autunno ed in estate evidenzia una maggior eterogeneità di polimeri nei primi rispetto ai secondi. Ciò potrebbe essere correlato alla presenza di input specifici e di rilevanza maggiore di MPs costituite da PES, PE e PA durante l'estate ed input più eterogenei e di differente origine durante l'autunno.

Il confronto tra i dati ottenuti dall'analisi delle acque superficiali e quelli ottenuti dall'analisi dei mitili, non mostrano una forte correlazione e le motivazioni possono essere legate a molteplici fattori: la diversità delle due matrici (abiotica e biotica) con conseguenti diverse modalità di permanenza ed accumulo delle MPs, la diversa profondità di campionamento di acque superficiali e mitili correlata alla diversa ripartizione dei polimeri plastici sulla base di forma e densità, ma anche la breve emivita delle MPs nelle acque superficiali del Mar Adriatico che sono un sistema altamente dissipativo poiché in base alle caratteristiche chimiche e fisiche della particella plastica queste affondano nella colonna d'acqua e non sono più disponibili nel primissimo strato di acqua (Mistri et al., 2017). Anche le capacità escretorie dei mitili vanno tenute in considerazione: studi in laboratorio hanno dimostrato che essi hanno la capacità di espellere una buona parte delle MPs entro poche ore

dall'ingestione (circa 3 h) (Ward et al., 2019; Woods et al., 2018), supportando le evidenze di un limitato accumulo delle MPs negli organismi in ambiente marino indipendentemente dal fatto che siano organismi vertebrati o invertebrati (Avio et al., 2020), infatti solitamente il numero di particelle ritrovate nei tessuti è basso (1-4 per individuo) (Piarulli e Airoidi, 2020) come riscontrato anche nel presente studio di tesi .

6. CONCLUSIONI

In conclusione, le analisi condotte nel presente studio di tesi hanno dimostrato che anche le acque prospicienti il Promontorio del Conero sono interessate dal fenomeno dell'inquinamento da microplastiche, sottolineando la presenza di varie dimensioni e tipologie di forme e polimeri e che queste sono disponibili per gli organismi marini che le abitano.

Le variazioni osservate tra i diversi periodi e siti di campionamento hanno evidenziato come la presenza e la tipologia di MPs possano cambiare nel tempo e nello spazio, confermando la necessità di sviluppare dei piani di monitoraggio che tengano conto delle diversità delle sorgenti di microplastiche su scala locale e su base stagionale.

Inoltre, questo studio ha sottolineato l'importanza di applicare un approccio integrato per avere un quadro quanto più possibile completo della contaminazione da microplastiche in ambiente marino, poiché i dati ottenuti da matrici diverse forniscono informazioni differenti sulla distribuzione e il destino di questi contaminanti, in particolare, l'analisi delle acque superficiali fornisce un'istantanea dell'inquinamento, rivelando il potenziale contributo sia delle condizioni idrografiche che degli input locali, d'altra parte, la presenza di MPs nel biota riflette la loro biodisponibilità, con implicazioni più ecologicamente rilevanti.

Le informazioni acquisite dal presente studio di tesi forniscono per la prima volta dati relativi all'inquinamento da microplastiche nella zona del Promontorio del Conero e verranno utilizzate per l'attuazione del descrittore 10 della Direttiva Quadro Europea della Strategia Marina (MSFD, 2008/56/EC).

7. BIBLIOGRAFIA

Adamopoulou, A., Zeri, C., Garaventa, F., Gambardella, C., Ioakeimidis, C., & Pitta, E. (2021). Distribution Patterns of Floating Microplastics in Open and Coastal Waters of the Eastern Mediterranean Sea (Ionian, Aegean, and Levantine Seas). *Frontiers in Marine Science*, 1235.

Anbumani, S., & Kakkar, P. (2018). Ecotoxicological effects of microplastics on biota: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14373-14396.

Avio, C. G., Gorbi, S., Milan, M., Benedetti, M., Fattorini, D., d'Errico, G., ... & Regoli, F. (2015). Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental pollution*, 198, 211-222.

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.

Baini, M., Fossi, M. C., Galli, M., Caliani, I., Campani, T., Finoia, M. G., & Panti, C. (2018). Abundance and characterization of microplastics in the coastal waters of Tuscany (Italy): the application of the MSFD monitoring protocol in the Mediterranean Sea. *Marine pollution bulletin*, 133, 543-552.

Bajt O. (2021). From plastics to microplastics and organisms. *FEBS Open Bio*, 11: 954–966

Bessa, F., Frias, J., Kögel, T., Lusher, A., Andrade, J. M., Antunes, J., et al. (2019). Harmonized Protocol for Monitoring Microplastics in Biota. *European Union Funded Practices*. doi: 10.13140/RG.2.2.28588.72321/1.

Boucher, J., & Billard, G. (2020). The Mediterranean: Mare plasticum. *Gland, Switzerland: IUCN*. x, 62.

Campanale C, Savino I, Pojar I, Massarelli C, Uricchio VF (2020) A practical overview of methodologies for sampling and analysis of microplastics in riverine environments. *Sustainability* 12(17): 6755.

Capriotti, M., Cocci, P., Bracchetti, L., Cottone, E., Scandiffio, R., Caprioli, G., ... & Palermo, F. A. (2021). Microplastics and their associated organic pollutants from the coastal waters of the central Adriatic Sea (Italy): Investigation of adipogenic effects in vitro. *Chemosphere*, 263, 128090.

Choy, C. A., Robison, B. H., Gagne, T. O., Erwin, B., Firl, E., Halden, R. U., ... & S Van Houtan, K. (2019). The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Scientific reports*, 9(1), 1-9.

Cincinelli, A., Martellini, T., Guerranti, C., Scopetani, C., Chelazzi, D., & Giarrizzo, T. (2019). A potpourri of microplastics in the sea surface and water column of the Mediterranean Sea. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *110*, 321-326.

Coyle, R., Hardiman, G., & O'Driscoll, K. (2020). Microplastics in the marine environment: A review of their sources, distribution processes, uptake and exchange in ecosystems. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *2*, 100010.

Cutroneo, L., Reboa, A., Besio, G., Borgogno, F., Canesi, L., Canuto, S., ... & Capello, M. (2020). Microplastics in seawater: sampling strategies, laboratory methodologies, and identification techniques applied to port environment. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(9), 8938-8952.

da Silva, V. H., Murphy, F., Amigo, J. M., Stedmon, C., & Strand, J. (2020). Classification and Quantification of Microplastics (< 100 μm) Using a Focal Plane Array–Fourier Transform Infrared Imaging System and Machine Learning. *Analytical Chemistry*, *92*(20), 13724-13733.

de Lucia, G. A., Vianello, A., Camedda, A., Vani, D., Tomassetti, P., Coppa, S., ... & Matiddi, M. (2018). Sea water contamination in the vicinity of the Italian minor islands caused by microplastic pollution. *Water*, *10*(8), 1108.

Deudero S., Alomar C. (2015). Mediterranean marine biodiversity under threat: Reviewing influence of marine litter on species. *Marine pollution Bulletin*, *98*: 58-68

Digka, N., Tsangaris, C., Torre, M., Anastasopoulou, A., & Zeri, C. (2018). Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, *135*, 30-40.

Ding, J., Sun, C., He, C., Li, J., Ju, P., & Li, F. (2021). Microplastics in four bivalve species and basis for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Science of the Total Environment*, *782*, 146830.

Du, R., Sun, X., Lin, H., & Pan, Z. (2022). Assessment of manta trawling and two newly-developed surface water microplastic monitoring techniques in the open sea. *Science of The Total Environment*, 156803.

Eo, S., Hong, S. H., Song, Y. K., Han, G. M., Seo, S., & Shim, W. J. (2021). Prevalence of small high-density microplastics in the continental shelf and deep sea waters of East Asia. *Water Research*, *200*, 117238.

Fausser, P., Vorkamp, K., & Strand, J. (2022). Residual additives in marine microplastics and their risk assessment—A critical review. *Marine Pollution Bulletin*, 177, 113467.

Fortibuoni, T., Amadesi, B., & Vlachogianni, T. (2021). Composition and abundance of macrolitter along the Italian coastline: The first baseline assessment within the European Marine Strategy Framework Directive. *Environmental Pollution*, 268, 115886.

Fossi, M. C., Romeo, T., Baini, M., Panti, C., Marsili, L., Campani, T., ... & Lapucci, C. (2017). Plastic debris occurrence, convergence areas and fin whales feeding ground in the Mediterranean marine protected area Pelagos sanctuary: a modeling approach. *Frontiers in marine science*, 167.

Fytianos, G., Ioannidou, E., Thyriadou, A., Mitropoulos, A. C., & Kyzas, G. Z. (2021). Microplastics in Mediterranean coastal countries: A recent overview. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(1), 98.

Gago, J., Carretero, O., Filgueiras, A. V., & Viñas, L. (2018). Synthetic microfibers in the marine environment: A review on their occurrence in seawater and sediments. *Marine pollution bulletin*, 127, 365-376.

Gedik K., Eryasar A. R. (2020). Microplastic pollution profile of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Turkish coasts. *Chemosphere*, 260: 127570.

Gomiero, A., Strafella, P., Øysæd, K. B., & Fabi, G. (2019). First occurrence and composition assessment of microplastics in native mussels collected from coastal and offshore areas of the northern and central Adriatic Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(24), 24407-24416.

Guzzetti E., Sureda A., Tejada S., Faggio C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 64: 164-171.

Kazour, M., Jemaa, S., Issa, C., Khalaf, G., & Amara, R. (2019). Microplastics pollution along the Lebanese coast (Eastern Mediterranean Basin): Occurrence in surface water, sediments and biota samples. *Science of the Total Environment*, 696, 133933.

Kazour, M., Terki, S., Rabhi, K., Jemaa, S., Khalaf, G., & Amara, R. (2019). Sources of microplastics pollution in the marine environment: Importance of wastewater treatment plant and coastal landfill. *Marine Pollution Bulletin*, 146, 608-618.

Kershaw, P. J., Turra, A., & Galgani, F. (2019). Guidelines for the monitoring and assessment of plastic litter and microplastics in the ocean.

Kurtela, A., & Antolović, N. (2019). The problem of plastic waste and microplastics in the seas and oceans: impact on marine organisms. *Croatian Journal of Fisheries*, 77(1), 51-56.

Laskar, N., & Kumar, U. (2019). Plastics and microplastics: A threat to environment. *Environmental technology & innovation*, 14, 100352.

Lehtiniemi, M., Hartikainen, S., Näkki, P., Engström-Öst, J., Koistinen, A., & Setälä, O. (2018). Size matters more than shape: Ingestion of primary and secondary microplastics by small predators. *Food webs*, 17, e00097.

Li, J., Lusher, A. L., Rotchell, J. M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I. L. N., ... & Shi, H. (2019). Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental pollution*, 244, 522-533.

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

Liubartseva S., Coppini G., Lecci R., Creti S. (2016). Regional approach to modeling the transport of floating plastic debris in the Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 103: 115-127.

- Mercogliano, R., Santonicola, S., Raimo, G., Gasperi, M., & Colavita, G. (2021). Extraction and identification of microplastics from mussels: Method development and preliminary results. *Italian journal of food safety*, 10(1).
- Mistri, M., Infantini, V., Scoponi, M., Granata, T., Moruzzi, L., Massara, F., ... & Munari, C. (2017). Small plastic debris in sediments from the Central Adriatic Sea: Types, occurrence and distribution. *Marine pollution bulletin*, 124(1), 435-440.
- Nuelle, M. T., Dekiff, J. H., Remy, D., & Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental pollution*, 184, 161-169.
- Panti, C., Giannetti, M., Baini, M., Rubegni, F., Minutoli, R., & Fossi, M. C. (2015). Occurrence, relative abundance and spatial distribution of microplastics and zooplankton NW of Sardinia in the Pelagos Sanctuary Protected Area, Mediterranean Sea. *Environmental Chemistry*, 12(5), 618-626.
- Perumal, K., & Muthuramalingam, S. (2021). Global sources, abundance, size, and distribution of microplastics in marine sediments-A critical review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 107702.

Piarulli, S., Airoidi, L., 2020. Mussels facilitate the sinking of microplastics to bottom sediments and their subsequent uptake by detritus-feeders. *Environ. Pollut.*, 266, 115151.

Pittura, L., Avio, C. G., Giuliani, M. E., d'Errico, G., Keiter, S. H., Cormier, B., ... & Regoli, F. (2018). Microplastics as vehicles of environmental PAHs to marine organisms: combined chemical and physical hazards to the Mediterranean mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Frontiers in marine science*, 5, 103.

Pittura, L., Tavoloni, T., Ventura, L., Stramenga, A., d'Errico, G., Vaglio, G. L., ... & Gorbi, S. Microplastics and Brominated Flame Retardants in freshwater fishes from Italian lakes: implication for human health. *Frontiers in Water*, 89.

Schmidt, N., Thibault, D., Galgani, F., Paluselli, A., & Sempéré, R. (2018). Occurrence of microplastics in surface waters of the Gulf of Lion (NW Mediterranean Sea). *Progress in Oceanography*, 163, 214-220.

Servello, G., Andaloro, F., Azzurro, E., Castriota, L., Catra, M. A. R. C. E. L. L. O., Chiarore, A., ... & Zenetos, A. (2019). Marine alien species in Italy: A contribution to the implementation of descriptor D2 of the marine strategy framework directive. *Mediterranean Marine Science*, 20(1), 1-48.

Stock, F., Kochleus, C., Bänisch-Baltruschat, B., Brennholt, N., & Reifferscheid, G. (2019). Sampling techniques and preparation methods for microplastic analyses in the aquatic environment—A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 113, 84-92.

Suaria, G., Achtypi, A., Perold, V., Lee, J. R., Pierucci, A., Bornman, T. G., ... & Ryan, P. G. (2020). Microfibers in oceanic surface waters: A global characterization. *Science advances*, 6(23), eaay8493.

Syakti, A. D. (2017). Microplastics monitoring in marine environment. *Omni-Akuatika*, 13(2).

Tata, T., Belabed, B. E., Bououdina, M., & Bellucci, S. (2020). Occurrence and characterization of surface sediment microplastics and litter from North African coasts of Mediterranean Sea: Preliminary research and first evidence. *Science of the total environment*, 713, 136664.

Tsiaras, K., Costa, E., Morgana, S., Gambardella, C., Piazza, V., Faimali, M., ... & Garaventa, F. (2022). Microplastics in the Mediterranean: Variability from observations and model analysis. *Frontiers in Marine Science*, 288.

Vianello, A., Da Ros, L., Boldrin, A., Marceta, T., & Moschino, V. (2018). First evaluation of floating microplastics in the Northwestern Adriatic Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(28), 28546-28561.

Vital, S. A., Cardoso, C., Avio, C., Pittura, L., Regoli, F., & Bebianno, M. J. (2021). Do microplastic contaminated seafood consumption pose a potential risk to human health?. *Marine Pollution Bulletin*, *171*, 112769.

Wakkaf, T., El Zrelli, R., Kedzierski, M., Balti, R., Shaiek, M., Mansour, L., ... & Rabaoui, L. (2020). Microplastics in edible mussels from a southern Mediterranean lagoon: Preliminary results on seawater-mussel transfer and implications for environmental protection and seafood safety. *Marine Pollution Bulletin*, *158*, 111355.

Ward, J. E., Zhao, S., Holohan, B. A., Mladinich, K. M., Griffin, T. W., Wozniak, J., & Shumway, S. E. (2019). Selective ingestion and egestion of plastic particles by the blue mussel (*Mytilus edulis*) and eastern oyster (*Crassostrea virginica*): implications for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Environmental science & technology*, *53*(15), 8776-8784. doi:10.1021/acs.est.9b02073.

Wesch, C., Bredimus, K., Paulus, M., & Klein, R. (2016). Towards the suitable monitoring of ingestion of microplastics by marine biota: A review. *Environmental pollution*, *218*, 1200-1208.

Woods, M. N., Stack, M. E., Fields, D. M., Shaw, S. D., Matrai, P. A. (2018). Microplastic fiber uptake, ingestion, and egestion rates in the blue mussel

(*Mytilus edulis*). *Marine pollution bulletin*, 137, 638-702645. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.10.061.

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.

Yang, H., Chen, G., & Wang, J. (2021). Microplastics in the marine environment: sources, fates, impacts and microbial degradation. *Toxics*, 9(2), 41.