
SCUOLA DI SCIENZE
Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”

Corso di Laurea Magistrale in
Chimica Industriale
Classe LM-71 - Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

Limiti e potenzialità della pirolisi analitica nella
quantificazione delle microplastiche nell'ambiente

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Nuria Subirà Berini

RELATORE

Chiar.mo Prof. Ivano Vassura

CORRELATORE

Prof. Daniele Fabbri

Anno Accademico 2019-2020

RIASSUNTO

I rifiuti plastici, oggi, rappresentano una grande minaccia per l'ambiente, per gli ecosistemi e per la salute umana, tanto da essere al centro della attenzione di numerosi studi. La preoccupazione maggiore è dettata dalle microplastiche (frammenti di dimensioni inferiori ai 5 mm) che per la loro dimensione, la loro ubiquità e la loro lunga persistenza in ambiente possono interferire in maniera allarmante con gli organismi viventi. L'ampia gamma di dimensioni delle microplastiche e la natura complessa delle loro forme, colori e tipi di polimero hanno impedito ai ricercatori di sviluppare una classificazione coerente data anche dall'attuale assenza di una standardizzazione nel metodo di campionamento, preparazione e analisi del campione. Infatti, lo studio di questa tipologia di inquinanti può essere effettuato mediante diverse metodologie analitiche sia di tipo spettroscopico che termico. Con questo studio si è cercato di valutare le potenzialità della pirolisi analitica (PyGCMS) per la quantificazione e identificazione di sei polimeri: PE, PP, PS, PET, PVC e PA. Tramite un attento confronto con la letteratura sono stati identificati alcuni punti critici nell'analisi quantitativa di alcuni polimeri in miscela. In particolare, la miscela PET/PA è risultata essere soggetta a grandi interferenze data dalla comparsa di prodotti pirolitici secondari che ne impediscono una corretta quantificazione. Inoltre, un diverso rapporto dei polimeri nella miscela binaria va a modificare la risposta quantitativa rendendola non prevedibile. L'uso di derivatizzanti come agenti metilanti sembra ridurre alcuni effetti di interazione in pirolisi, ma non sembra essere così vantaggioso come riportato in altri studi. Complessivamente la pirolisi analitica risulta una tecnica applicabile alla identificazione e quantificazione delle microplastiche, ma emerge dallo studio una scarsa conoscenza in letteratura delle interazioni in fase pirolitica tra prodotti di pirolisi di diversi polimeri.

ABSTRACT

Nowadays, plastic waste represents a dangerous threat for the environment, ecosystems and human health, in fact several studies are focused on it. Microplastics (fragments less than 5 mm in size) are the most important topic for these studies because their size, their massive presence and their long persistence in the environment could change the ecosystem and its natural life cycle. Microplastics present some characteristics such as heterogeneous dimension range, complex shapes, colors and types of polymer, furthermore, unknowing the sampling standard operational procedures, preparation and analysis, avoid their classification. In fact, the study of this type of pollutants can be carried out using various methods such as spectroscopic and thermal methods. This work aims to evaluate the pyrolysis (PyGCMS) as analytical technique for the quantification and identification of six polymers: PE, PP, PS, PET, PVC and PA. Data literature show some critical points about quantitative analysis of some mixed polymers. In particular, the PET / PA mixture analysis shows several interferences due to the secondary pyrolytic products which prevent a great quantification. Furthermore, a different ratio of the polymers in the binary mixture changes the quantitative response making it unpredictable. Using methylating agents could reduce some interaction effects during pyrolysis, but without too much advantages as reported in other studies. Overall, analytical pyrolysis is a technique that can be applied to the microplastics identification and quantification, but there aren't literature data about interactions during the pyrolysis between pyrolysis products of each polymer.

Sommario

1 INTRODUZIONE.....	1
1.1 IL MONDO DELLA PLASTICA: QUANTITÀ, CATEGORIE ED USI	1
1.1.1 Breve storia della plastica	1
1.1.2 Le plastiche oggi	3
1.1.3 La plastica come rifiuto	6
1.2 LE MICROPLASTICHE.....	9
1.2.1 Microplastiche e interazione con l'ambiente	14
1.2.2 Microplastiche e rischio sulla salute	16
1.3 METODI DI CAMPIONAMENTO E PRETRATTAMENTO	18
1.3.1 Metodi di campionamento	19
1.3.2 Preparazione campione.....	21
1.4 INDIVIDUAZIONE E QUANTIFICAZIONE: TECNICHE A CONFRONTO	24
1.4.1 Metodo visivo.....	25
1.4.2 Metodi spettroscopici	26
1.4.3 Metodi termici	28
2 SCOPO.....	34
3 MATERIALI E METODI.....	34
3.1 MATERIALI.....	34
3.1.1 polimeri	35
3.1.2 soluzioni standard	35
3.1.3 solventi	36
3.1.4 reagenti	36
3.2 STRUMENTI E METODI DI ANALISI	36
3.2.1 pirolisi analitica online	36
3.2.2 pirolisi analitica off-line	37
3.2.3 GC-MS	39
3.2.4 bianco procedurale.....	41
4 RISULTATI E DISCUSSIONE	42
4.1 ANALISI QUALITATIVA: PE, PP, PS, PET, PVC, PA	42
4.1.1 Analisi qualitativa della miscela di polimeri.....	52
4.1.2 analisi qualitativa miscele PET+PA.....	55
4.2 ANALISI QUANTITATIVA: PE, PP, PS, PET, PVC, PA	57
4.2.1 Analisi quantitativa miscele PET+PA	60

4.3 STUDIO DELLE INTERFERENZE: confronto colonne cromatografiche con pirolisi off-line di PET, PA e miscela binaria.....	63
4.4 METILAZIONE: pirolisi online PET+PA con aggiunta di TMAH	65
4.4.1 analisi quantitativa PET, PA e miscele PET+PA con metilazione	67
5 CONCLUSIONI.....	72
6 BIBLIOGRAFIA.....	74

1 INTRODUZIONE

1.1 IL MONDO DELLA PLASTICA: QUANTITÀ, CATEGORIE ED USI

Negli ultimi decenni la plastica è stata prodotta ed utilizzata dall'uomo con sempre maggior frequenza, tanto che, ad oggi, questo materiale è diventato il tra i maggiori detriti antropogenici inquinanti presenti in ambiente, in particolare modo negli oceani. La visione delle plastiche per tanto tempo è stata una visione positiva e di espansione, di miglioramento della vita di tutti i giorni, ed è passata nell'opinione pubblica da essere la risposta a tante esigenze, ad un problema globale.

Il termine plastica deriva dal termine greco "plastikos" che significa "adatto ad essere modellato", riferendosi alla plasticità di questi materiali durante la loro fabbricazione [1]. Per materie plastiche si intende quella ampia classe di polimeri organici sintetici, derivati dalla polimerizzazione di materie prime organiche ed inorganiche come carbone, silicio, idrogeno, ossigeno, cloruro etc. derivanti in parte da prodotti naturali come cellulosa, amido, ma anche da petrolio greggio (la percentuale di greggio estratto deputato per la plastica è quantificato al 4-6 % del totale) [2]. I polimeri sono macromolecole di elevato peso molecolare (10^4 - 10^7) tipicamente con una lunga struttura molecolare concatenata di unità ripetenti, derivanti dalle reazioni di 1 o più monomeri. Possono quindi consistere in ripetizioni di unità identiche (omopolimeri) o diverse sotto-unità in varie sequenze possibili (copolimeri). È nella struttura di queste molecole molto grandi la diversa proprietà da ogni altra classe di materiale. A seconda del comportamento durante il riscaldamento, possono essere classificati come termoplastici o termoindurenti: per i primi è sufficiente aumentare la temperatura per portarli ad uno stato viscoso e poterli quindi formare, è quindi possibile fonderli nuovamente al termine della fase d'uso e riottenere un nuovo manufatto. I secondi sono particolari polimeri che, una volta prodotti, non possono essere fusi senza andare incontro a degradazione chimica ("carbonizzazione").

1.1.1 Breve storia della plastica

La storia di tale materiale è piuttosto interessante: nasce circa 150-200 anni fa, e ben prima del concetto di plastica. Solo in seguito si capì realmente cosa fosse da un punto di vista molecolare. Era il 1862 quando l'inglese Alexander Parkes inventò la

parkesite, primo polimero definito artificiale, non sintetico del tutto, poichè si partiva dalla cellulosa quindi polimero naturale. Solo qualche anno dopo durante la partecipazione ad un concorso per la ricerca di un nuovo materiale per le palle da biliardo in sostituzione all'avorio, materiale piuttosto costoso, i fratelli americani Hyatt brevettarono la formula della celluloida partendo dallo stesso concetto della parkesite, trovando questo polimero duro, il nitrato di cellulosa. Nel 900 fu inventata la bakelite, il primo vero polimero sintetico, il primo materiale che non nasceva da oggetti recuperati in natura, ma da fenolo formaldeide, usato ancora oggi nonostante le problematiche intrinseche dei monomeri. Solo negli anni '20, è nato quindi il concetto di plastica con quello di macromolecole e ha portato a saper governare la produzione di quest'ultime, il polimero sintetico, quella plastica che ad oggi rappresenta il nostro problema e che distanziandosi dalla produzione naturale e dalla capacità della natura di biodegradare, ha portato all'accumulo sconsiderato dei materiali plastici fino ad oggi. Negli anni '30 si ha l'ascesa della produzione della plastica con le fibre sintetiche, nylon e fibre acriliche, in sostituzioni delle fibre naturali più costose. Di fatto nel periodo tra le Due Guerre, periodo sempre fertile per le scoperte, l'industria bellica spinse per avere nuovi materiali dovendo sopperire alla scarsità di prodotti naturali. Un esempio su tutti è quello del Nylon, sintetizzato per la prima volta dalla Du Pont negli anni '30, e che durante il conflitto conobbe diversi metodi di sintesi (i tedeschi sintetizzarono il Nylon-6 in quanto la produzione della tipologia 6,6 era in mano agli Alleati) per un mancato approvvigionamento di materiale a base di seta per fare i paracadute. Durante la seconda guerra mondiale, l'Europa ebbe un notevole aumento della produzione plastica poichè ne occorreva potenziare la capacità di produzione. Ne conseguì un aumento della produzione di materie plastiche ancora oggi largamente utilizzate, come il polietilene, il polistirene, i poliesteri, i polietilentereftalati e siliconi. È negli anni '50 che si riesce ad ottenere una stereo regolarità nella polimerizzazione di poliolefine, conferendo all'italiano Giulio Natta e al tedesco Karl Ziegler nel 1963 il premio Nobel; tale scoperta cambiò la "vita" a molti materiali [3]. Materiali estremamente leggeri, performanti per le prestazioni nella vita di tutti i giorni presero sempre più piede in un mondo dove prima l'alternativa era il metallo e la ceramica. Si parla quindi di un'esplosione della plastica dopo il secondo dopoguerra fino ad

arrivare al mondo d'oggi, con lo sviluppo dei tecnopolimeri, polimeri ingegnerizzati con elevatissime prestazioni, come le poliarammidi (NOMEX, KEVLAR), fibre altamente resistenti utilizzate in settori di nicchia (figura 1). Si tratta di polimeri che purtroppo non sono compatibili con processi di biodegradazione, almeno in tempi accettabili e quindi si accumulano in natura [4]. Ciò è stato accompagnato da una crescente diversificazione dei tipi e delle applicazioni del polimero sintetico.

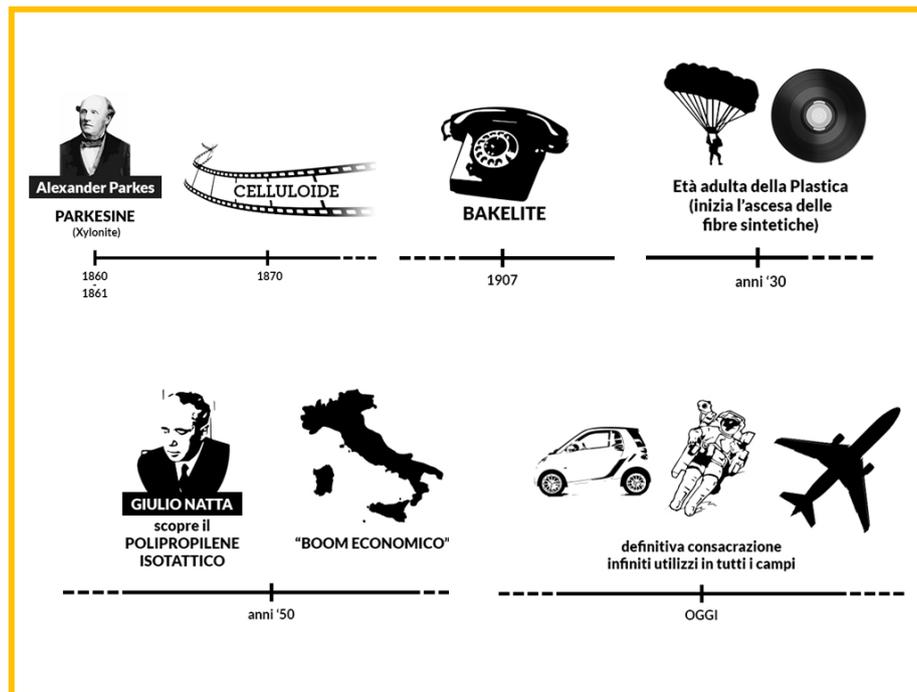


Figura 1: storia delle materie plastiche [4]

1.1.2 Le plastiche oggi

Molti tipi diversi di plastica sono prodotti a livello globale, ma il mercato è dominato da sei principali classi di materie plastiche: polietilene (PE), polietilentereftalato (PET), polipropilene (PP) e polivinilcloruro (PVC). Ci sono anche quantità apprezzabili di polistirene (PS, incluso EPS espanso) e poliuretano (PUR). Oltre alle principali classi di polimeri, si è verificata una proliferazione di nuovi polimeri e copolimeri per soddisfare nuove aspettative e mercati, principalmente guidati da nuove combinazioni di monomeri esistenti. La quantità totale di materiale plastico prodotto è cresciuta esponenzialmente passando da circa 1,5 Mton negli anni '50, a circa 360 milioni di tonnellate per l'anno 2018, con un incremento di circa del 3-4% rispetto

ogni anno precedente. [dati forniti da Plastics-Europe”][1]. Tale crescita nell’uso della plastica va poi affiancato, oltre alle sue sempre maggiori applicazioni al notevole incremento demografico della popolazione: negli ultimi 50 anni la densità di popolazione mondiale è aumentata del 250% [5].



Figura 2: principali utilizzi della plastica

Inoltre le proprietà uniche dei polimeri, quali la facilità di lavorazione, la versatilità, l'economicità, l'isolamento acustico, termico, elettrico e meccanico, la resistenza alla corrosione e l'inertia chimica, l'idrorepellenza e l'inattaccabilità da parte di muffe, funghi e batteri, rendono questi materiali fondamentali per un'ampia gamma di utilizzi. L'applicazione principale è il packaging, che in Europa rappresenta da solo il 39,9% della produzione di materie plastiche, seguito dall'edilizia (19,7%) e dal settore automobilistico (10%) (figura2) [5].

Le tipologie di polimeri presenti sul mercato sono innumerevoli, in tabella 1 vengono riportate alcune caratteristiche di solo sei di esse, trattandosi delle tipologie approfondite nel presente studio. Esse costituiscono quasi un 80% della domanda europea polimerica.

Tabella 1: formula, tipo di polimerizzazione, densità e utilizzo di alcuni polimeri

Polimero	Formula	Tipo di polimerizzazione	Densità media [kg/m ³]	Principali prodotti
PE	$\left(\begin{array}{cc} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{---C---} & \text{---C---} \\ & \\ \text{H} & \text{H} \end{array} \right)_n$	LDPE: polimerizzazione radicalica	0.92	Borse di plastica, bottiglie, reti
		HDPE: polimerizzazione Ziegler-Natta	0.96	Contenitori per liquidi, tappi
PP	$\left[\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{---C---} \\ \\ \text{---C---} \end{array} \right]_n$	polimerizzazione Ziegler-Natta	0.90	Tappi, corde, reti

Polimero	Formula	Tipo di polimerizzazione	Densità media [kg/m ³]	Principali prodotti
PVC		Polimerizzazione radicalica	1.45	Film, tubi
PS		polimerizzazione radicalica	1.05	Contenitori per cibo
PET		policondensazione	1.38	Bottiglie, fili
Nylon 6		poliaddizione	1.14	Corde, filtri, fibre tessili

Per conferire le prestazioni volute al materiale plastico, sia in fase di lavorazione che durante la sua vita d'uso, diventa fondamentale l'aggiunta di additivi e cariche al polimero fuso durante la fase di compounding. Gli additivi si possono suddividere in due categorie:

-Additivi essenziali, che hanno lo scopo di mantenere l'integrità della catena macromolecolare, e che quindi vanno aggiunti obbligatoriamente a tutti i polimeri, a prescindere dall'applicazione. Possono venire aggiunti in quantità variabili, dai ppm fino all'1,5% in peso. Comprendono tutti gli stabilizzanti ai fattori degradativi, come la luce e il calore, ad esempio il carbon black.

-Additivi opzionali, la cui tipologia varia a seconda dell'applicazione finale del prodotto e delle prestazioni che si desidera ottenere. Si va dai coloranti (capaci di modificare il comportamento ottico dei polimeri) ai biocidi (particolarmente gli additivi antimuffa, aggiunti in quantità molto elevate al fine di prevenire l'attacco di microrganismi), fino ai lubrificanti, ai plastificanti e ai modificanti di impatto.

Al giorno d'oggi esistono additivi provenienti anche da fonti rinnovabili, soprattutto nella categoria dei plastificanti (ad esempio a base di ESBO, ovvero olio di soia epossidato), che nel lungo termine potranno andare a sostituire i prodotti tradizionali, che spesso, come gli ftalati, presentano problemi di tossicità [6]. Nel corso del tempo il

numero e le tipologie di additivi sono aumentati esponenzialmente, e questo fattore crea molti problemi in fase di riciclo delle materie plastiche; esso è solo uno dei tanti problemi riguardanti il fine vita di tali materiali.

1.1.3 La plastica come rifiuto

La disponibilità delle materie plastiche, insieme ai loro bassi tassi di riciclaggio, hanno contribuito ad un aumento significativo della quantità di rifiuti prodotti a livello mondiale. Quando infatti diventa un rifiuto, la plastica non degrada in tempi rapidi, e se non gestito, ma buttato accidentalmente o volontariamente nell'ambiente, permane per un periodo indefinito, tanto che ancora oggi non è possibile sapere con assoluta certezza i tempi di degradazione naturale dei manufatti polimerici. I tassi di degradazione in ambiente variano inoltre con le quantità di additivi utilizzati. È da tenere in considerazione che oltre 1/3 della plastica in Europa viene utilizzata in prodotti usa e getta come imballaggi, utensili da cucina e sacchi per la spazzatura, che sono progettati per essere eliminati entro tre anni dalla loro produzione [7]. L'utilizzo, dell'"usa e getta", è uno dei maggior responsabili dell'accumulo di plastica nei più vari settori ambientali. L'inquinamento da plastica riguarda tutti i comparti ambientali, in particolar modo l'idrosfera; anche all'interno di questo comparto, il problema non si restringe solo ai mari e agli oceani, ma la presenza di oggetti di materiale plastico sono documentati in corsi d'acqua, laghi e impianti di trattamento delle acque reflue. In questa breve introduzione l'attenzione sarà rivolta, in particolare, all'ambiente marino anche se, oggigiorno, ai problemi più consolidati si aggiunge quello di frammenti di plastiche in atmosfera (SAMP) ovvero le microplastiche atmosferiche sospese. I primi documenti scientifici che trattano della problematica di plastica in mare risalgono agli anni '70, segnalando già allora la presenza di pellets e frammenti di plastica in acque del Nord Atlantico [8], [9]. Il Programma delle Nazioni Unite (UNEP) ha definito come "Marine Litter" qualsiasi materiale solido scartato, fabbricato o trasformato, smaltito o abbandonato in ambiente marino o costiero [10]. Questo consiste in oggetti che sono stati prodotti o utilizzati da persone e volutamente scartati nei fiumi o in mare o sulle spiagge o portate indirettamente al mare attraverso i fiumi, le acque reflue, l'acqua piovana o dai venti; o accidentalmente persi, compreso il materiale disperso in mare in caso di maltempo. Storicamente l'attenzione si è concentrata sull'accumulo di

rifiuti plastici in zone costiere e sulla superficie del mare, più recentemente ci si è accorti che è proprio nel fondo del mare dove risiede la percentuale maggiore. Il Marine litter si trova in tutti i mari del mondo e in tutti gli oceani,



Figura 2: origine rifiuti plastici

non solo nelle regioni densamente popolate, ma anche in aree remote, lontano da fonti evidenti e dal contatto umano. Tali detriti plastici possono essere racchiusi in due grandi gruppi di provenienza [11]:

-origine terrestre. Contribuisce a più del 90% rispetto al totale di rifiuti marini globale. Come maggior contributo è associabile alle attività ricreative del turismo lungo la costa, ma un contributo non minimo lo dà il trasporto fluviale dei rifiuti in discarica (principalmente nei paesi in via di sviluppo), lo scarico di acque reflue non trattate, compresa l'acqua piovana.

-origine marina. Solo meno di un 10% dei rifiuti in generale proviene da fonti di origine marina. Questi provengono per la maggior parte dal traffico marittimo di traghetti, navi da crociera e commerciali, flotte militari, la pesca sportiva e commerciale e le industrie (ad esempio l'acquacoltura e le piattaforme petrolifere). L'attrezzatura e le reti da pesca, che vengono facilmente scartate o perse sono uno degli elementi più comunemente noti come fonte di plastica in mare. In totale è stimata essere da 86 a 150 Mton la quantità di plastica che arriva in mare (figura 3)[12]. La percentuale di rifiuti plastici mal gestiti deriva maggiormente da paesi orientali quali Cina, Indonesia ecc [5]. ma la plastica viene, comunque, trasportata attraverso tutti gli oceani del mondo dal vento e dalle correnti marine diventando un problema a livello globale, come dimostrano le recenti scoperte di manufatti in materiale plastico in Antartide [13]. Le correnti oceaniche, dovute all'azione combinata di venti e della forza di Coriolis, connessa alla rotazione terrestre, hanno l'effetto di spostare enormi volumi d'acqua superficiale a formare grandi sistemi circolari di correnti (Gyres) che si muovono in senso orario nell'emisfero nord e antiorario in quello sud. Di fatto ricerche riportano la presenza di "isole di plastica", enormi accumuli di detriti

galleggianti (principalmente rifiuti plastici) in corrispondenza ai 5 Gyres oceanici (figura4) [14].



Figura 3: distribuzione macroplastica superficiale

Altri fattori quali il clima, tifoni, cicloni, le maree, la vicinanza alle aree urbane, industriali o ricreative, zone di pesca sono fattori che influenzano la distribuzione di tale rifiuti in tutti gli habitat marini, dalle coste o spiagge, alle acque superficiali pelagiche, ai substrati marini fino ai canyon sottomarini ma anche all'accumulo in particolari aree geografiche più che ad altre. Le spiagge sono una altra zona di accumulo, da cui deriva il termine "beach litter" indicando i rifiuti lungo la riva, in cui materiali come legno e plastica sono in genere le tipologie più abbondanti, soprattutto in zone che non sono soggette alla presenza di forti venti. È inoltre già conosciuta da tempo la superficie del mare come zona di accumulo tanto che già nel 2012 si era riuscito a dimostrare che la plastica fosse più abbondante del plancton con un rapporto in numero di 6:1 [8]. Tali rifiuti sono riscontrabili anche nei fondali marini in cui va a depositarsi la plastica. In media infatti un 50% degli oggetti è destinato ad affondare. È stato affermato che i canyon sottomarini possono agire come canale per il trasporto di rifiuti marini negli strati più profondi. È altresì vero che l'abbondanza dei rifiuti di origine antropica sul fondo del mare è molto meno indagata rispetto ai rifiuti che si trovano sulla superficie del mare. Il motivo può essere trovato nella difficoltà di campionamento, o nell'inaccessibilità del comparto ambientale. Nonostante questo, studi indicano che la densità di oggetti per km² aumenta significativamente con la

profondità. La distribuzione geografica di detriti sul fondo dell'oceano è fortemente influenzata dall'idrodinamica, dalla geomorfologia e da fattori umani (figura 5).

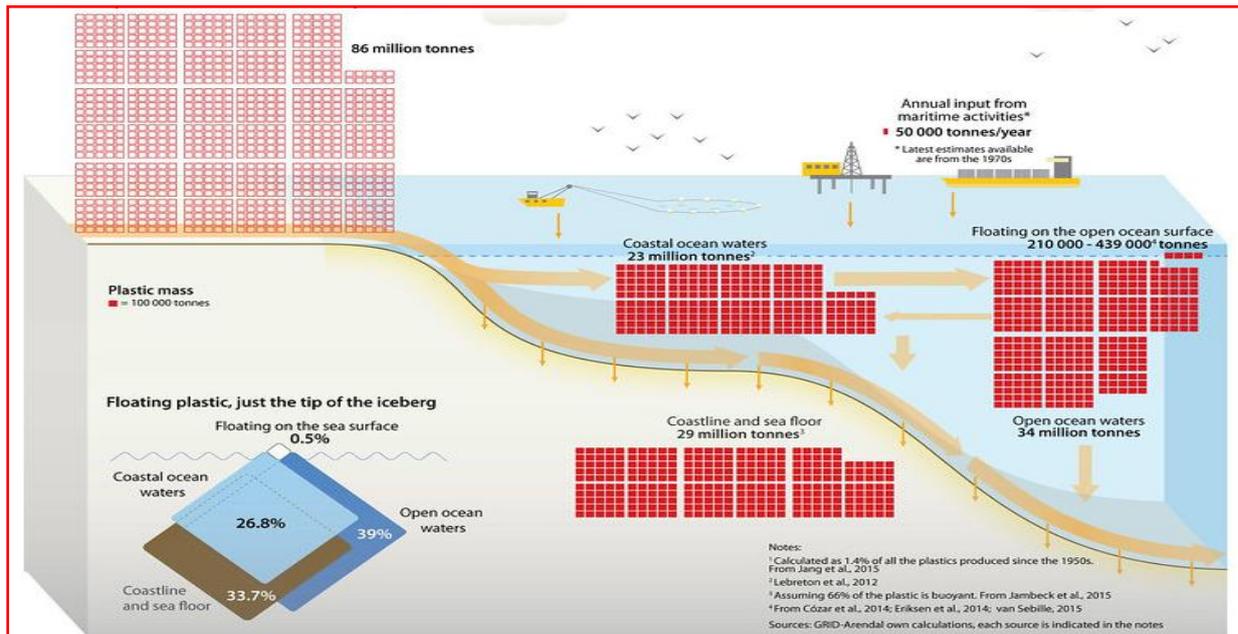


Figura 4: distribuzione di macroplastiche in ambiente marino

L'interpretazione dei trend è tuttavia difficile perchè l'invecchiamento dei materiali di rifiuto in profondità è sconosciuto e l'accumulo di detriti sul substrato certamente è iniziato prima degli studi scientifici. Tuttavia la distribuzione e l'accumulo nei vari comparti ambientali verrà approfondita in dettaglio nella sezione delle microplastiche, oggetto propriamente di questo studio.

1.2 LE MICROPLASTICHE

Anche se a destare più attenzione sono i rifiuti di maggior dimensione, negli ultimi anni l'attenzione si è spostata sui frammenti plastici più piccoli, apparentemente insignificanti, ma ancora più impattanti e pericolosi. Oggi è ben certo che questa fonte di inquinamento pressoché invisibile a occhio nudo non può essere sottovalutata. Il termine microplastica fu coniato solo nel 2004 [15] e definito in seguito dal GESAMP, un gruppo di esperti sulla protezione dell'ambiente marino, come "particella di plastica di diametro inferiore a 5 mm", includendo anche particelle di nano-dimensioni (1nm) [16] [17]. Nonostante questa definizione si sia diffusa in tutto il mondo, al momento non è ancora disponibile una definizione armonizzata e

accettata a livello internazionale. Convenzionalmente i rifiuti plastici sono stati suddivisi in quattro classi dimensionali, tale suddivisione viene riportata anche nelle varie legislazioni (riportata anche nei regolamenti della National Oceanic and Atmospheric Administration statunitense, NOAA) [8], [18], [19]:

-le macroplastiche (>25mm)

-le mesoplastiche (5-25mm)

-le microplastiche (100nm-5mm)

-le nanoplastiche (1-100nm)

Le ridottissime dimensioni delle nanoplastiche rendono ancora impossibile il loro campionamento con metodi tradizionali, motivo per il quale lo studio si sofferma alle microplastiche che presentano, comunque, dimensioni sufficienti per avere una immissione in ambiente pressoché quotidiana. Il limite superiore di dimensione delle microplastiche è di fatto un limite convenzionale, mentre per il limite inferiore risulta essere strettamente relazionato alla metodologia di campionamento; solitamente vengono utilizzati dei retini "Manta" a bocca rettangolare e con maglia di 330 μm , utilizzati generalmente per prelievi di neuston (micro-organismi che vivono nell'interfaccia aria-acqua) in quanto la maggior parte di queste particelle tende a galleggiare nei primi cm della colonna d'acqua. Oltre che alla dimensione, tali frammenti sono suddivisi in base alla forma, composizione chimica e densità. Le fonti inoltre possono essere le più variabili: perdita di fibre tessili nei lavaggi di capi di abbigliamento, impiego negli strumenti da pesca, utilizzo nei prodotti della cosmesi e non in minor quantità la disgregazione di quelle che sono le meso o macroplastiche. Si possono quindi schematizzare in due grandi gruppi:

-microplastiche primarie: sono plastiche fabbricate per essere di dimensioni microscopiche, prodotte sia per uso indiretto come precursori (nurdles o pellet in resina vergine) sferici o cilindrici ampiamente utilizzate durante la produzione e il trasporto di materiale plastico dalla "materia prima" alla produzione, o per uso diretto, come ad esempio nell'industria di cosmetici. Queste materie plastiche sono

tipicamente utilizzate in detergenti per il viso e cosmetici, come scrubber, utilizzati in detergenti esfolianti e scrub viso, sostituendo gli ingredienti naturali utilizzati tradizionalmente. In genere commercializzate come



Figura 5: impiego di microplastiche in cosmetici

"microsfere" o "micro-esfolianti" e possono arrivare a costituire fino al 10% in peso del prodotto (figura 6). Polveri di plastica utilizzate nello stampaggio o come mezzo ad aria compressa per la pulizia o impiego in medicina come vettori per i farmaci sono altri tipi di impiego.

-microplastiche secondarie: microplastiche non derivanti dall'immissione diretta ma derivanti dalla frammentazione di materiale più grande, già presente in mare o in terra. Le fonti delle microplastiche sono state descritte nel capitolo precedente. Nel corso del tempo, i processi fisici, chimici e biologici possono ridurre l'integrità strutturale dei detriti di plastica, con conseguente erosione e degradazione. È definito il processo di degradazione come una trasformazione chimica che riduce drasticamente il peso molecolare medio del polimero. Poiché la resistenza meccanica dei materiali plastici dipende sempre dal loro peso molecolare, la degradazione indebolisce inevitabilmente il materiale. Le plastiche degradate, con il passare del tempo diventano abbastanza fragili e si sfaldano in frammenti polverosi. La frammentazione è causata da una combinazione di più processi (figura 7) [7], [20]:

- forze meccaniche, ad esempio onde e turbolenza,
- processi di fotodegradazione, attivati dalla luce del sole, i raggi UV causano ossidazione della matrice polimerica,
- processi di degradazione termo-ossidativi attivati con temperature moderate,
- processi di degradazione termica attivati dall'azione della alta temperatura,
- processi di idrolisi, tipica reazione con acqua,

-processi di biodegradazione, causati dall'azione di organismi viventi

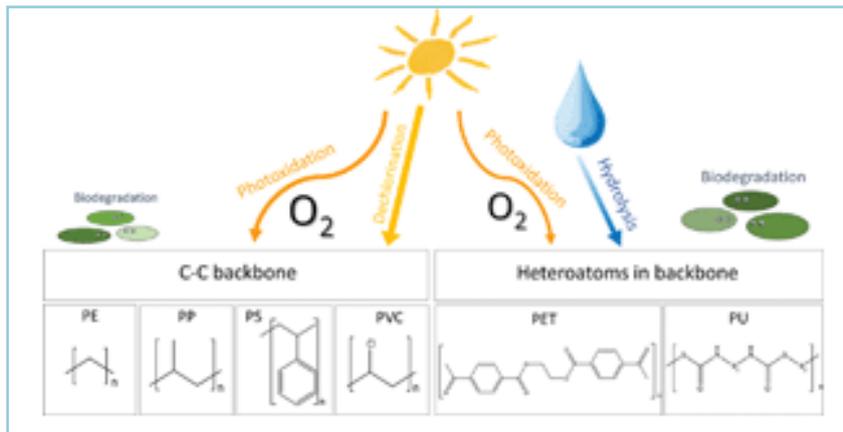


Figura 6: processi di degradazione della materia plastica

Sulla superficie dei detriti di plastica si accumula generalmente il biofilm, seguito da uno strato di alghe e quindi da una colonia di invertebrati. La sequenza così come la cinetica di fouling, tuttavia, dipendono fortemente dalle condizioni dell'acqua così come dalla stagione di esposizione. Come dimostrano le depressioni superficiali e i buchi sui detriti di plastica, questi microrganismi possono secernere enzimi che biodegradano materie plastiche comuni come il polietilene. Per quanto concerne processi non biologici, le temperature relativamente basse delle plastiche in mare, a contatto con un buon dissipatore di calore come l'acqua marina, rischiano di impedire i processi di ossidazione. Inoltre la fotodegradazione della plastica galleggiante in mare è rallentata dalla scarsa disponibilità di luce solare limitata dagli eventi climatici e atmosferici, ma soprattutto dalla presenza di bio-incrostazioni sulla loro superficie. Diversi sono i meccanismi per le plastiche sulle spiagge, che avendo un'elevata disponibilità di ossigeno e una esposizione più diretta alla luce del sole, subiscono un degrado più rapido e in poco tempo possono diventare fragili e presentare crepe e effetti di "ingiallimento". Lo stesso fenomeno è anche responsabile dei tassi di degradazione delle materie plastiche di colore diverso, le tonalità di materie plastiche più scure esposte al sole tendono ad assorbire più energia infrarossa nello spettro solare, raggiungendo temperature più alte. Anche la macroplastica presente nei sistemi di acqua dolce subisce gli stessi fenomeni di degrado fisico e ambientale, nonostante le forze che agiscono siano più lievi rispetto a quelle in mare (esempio onde e turbolenza).

La caratterizzazione può avvenire anche in base alla morfologia: pellet e microbeads, frammenti derivanti da microplastiche primarie presentano forme appiattite, cilindriche, sferoidali o discoidali, forme più regolari già dalla loro produzione. Microplastiche secondarie presentano invece una morfologia più irregolare presentando forme da angolari ad arrotondate, derivate dai vari tipi di degradi. Altra categoria, nonché la più numerosa (70/80%) tra i frammenti, è quella delle fibre, le quali si presentano sottoforma di filamenti sottili ed allungati [4]. Esse possono derivare da reti di nylon abbandonate durante la pesca, ma possono derivare principalmente dai nostri abiti e tessuti che contengono alte percentuali di poliestere o di altre fibre sintetiche. Un normale lavaggio in lavatrice può generare fino a 1900 frammenti di microplastiche per capo, circa un 180% in più rispetto ad un capo in lana, dunque tali microplastiche sono da aggiungere a quelle già conosciute come microplastiche primarie [21]. Alcune sorgenti di queste microplastiche sono da aggiungere a quelle già menzionate per le macroplastiche. Le microplastiche utilizzate soprattutto nei prodotti cosmetici o le microfibre derivanti dai lavaggi di tessuti, possono entrare nei corsi d'acqua attraverso sistemi di drenaggio domestici o industriali. Mentre gli impianti di trattamento delle acque reflue faranno da trappola per le macroplastiche, una grande percentuale di microplastiche all'interno di stagni di ossidazione o fanghi di depurazione, passeranno attraverso tali sistemi di filtrazione che indipendentemente dalla tecnologia di depurazione adottata e da altri fattori, si ritiene essere in proporzioni variabili tra 1 e 30 %, tuttavia le quantità possono essere notevoli considerando gli alti volumi d'acqua trattati dai depuratori [22].

1.2.1 Microplastiche e interazione con l'ambiente

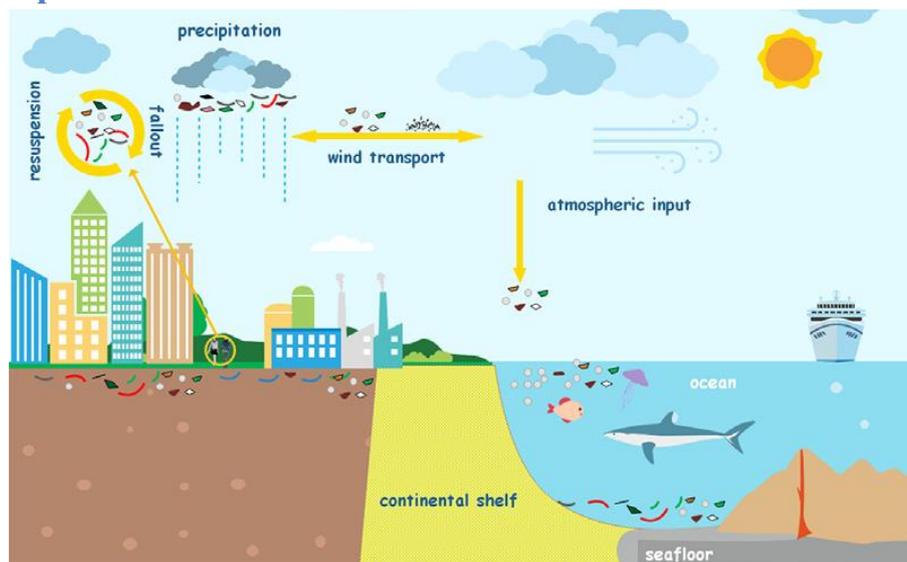


Figura 7: distribuzione microplastiche nei vari comparti ambientali

La dimensione, morfologia e densità delle particelle è strettamente correlata al comportamento migratorio delle microplastiche in ambiente. Una volta generate o liberate in ambiente le microplastiche possono facilmente raggiungere gli ecosistemi acquatici trasportate dall'acqua piovana o dal vento, e quindi contaminare fiumi e laghi fino a giungere in mari ed oceani (figura 8). Infatti come le macroplastiche, le microplastiche sono osservabili in tutti le parti del mare, dalla superficie allo strato di sedimenti più profondi. La gran parte di essi sono accumulati nelle profondità marine che, dato l'estensione di tale habitat (oltre 300 milioni di km²) si suppone essere un pozzo per questi detriti [23]. I modelli oceanografici indicano che una parte, in minor quantità, sono galleggianti sull'oceano e si accumulano in Gyre anti-ciclonici, come già trattato. Studi hanno dimostrato l'accumulo di grandi oggetti di plastica sul fondale e anche frammenti a bassa densità poiché esistono una serie di processi oceanografici che possono aiutare nel trasferimento in profondità [21]. Questi processi includono flussi di acqua verticali alla fine delle piattaforme continentali, trasporti per convezione in alto mare e la subduzione salina. Tutti questi fenomeni inducono il trasferimento verticale e orizzontale di grandi volumi di acqua carica di particelle con ampio spettro granulometrico (compresi sabbia e argilla) in cui i canyon sottomarini possono agire come corridoi preferenziali. Inoltre le caratteristiche topografiche sottomarine possono anche incrementare i flussi di immersione e aumentare la

ritenzione di microplastiche in luoghi particolari. I frammenti di microplastica a causa delle loro piccole dimensioni hanno anche maggiori probabilità rispetto ai pezzi più grandi di essere influenzati dall'avvezione (trascinamento per un fluido) e, più in generale, dai modelli di circolazione oceanica a tutti i livelli. Il diverso destino di queste particelle è determinato, inoltre, dalla loro densità quindi dalla loro natura chimica: le plastiche che ritroviamo più abbondanti rientrano in un intervallo di densità compreso tra 0.90 e 2.30 kg/L, la sabbia e sedimenti presentano, invece una densità intorno ai 2.65 kg/L. Dalla figura 9 è evidente come le fibre tessili, quindi prevalentemente poliesteri quali PET, si riscontrino in maggior numero sul fondale e non in superficie. Studi dimostrano che l'abbondanza di microfibre per unità di volume è quattro volte superiore nei sedimenti di acque profonde rispetto che in acque superficiali, microplastiche di polietilene e polipropilene abbondano di più lungo la colonna d'acqua [21]. È frequente che questi frammenti, però, fungano da substrato per biofilm o da incrostazioni di alghe o altri organismi marini. Essi vanno ad aumentare in un primo momento la densità del frammento e sono destinati ad affondare in profondità. Le particelle che affondano a causa di questo processo possono, però, riemergere in un secondo momento, una volta che gli organismi sono stati predati dai consumatori marini, ritornandone a diminuire la densità. Tuttavia la comprensione delle dinamiche di trasposto e la distribuzione spaziale profonda sono ancora non troppo chiare, consolidate e ben studiate come interessa la microplastica più superficiali.

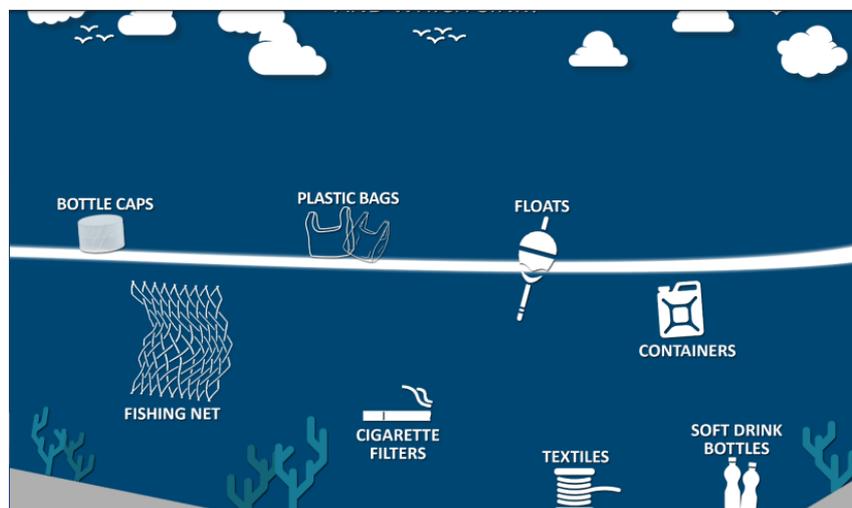


Figura 8: diverse densità di rifiuti plastici riscontrabili in ambiente marino

Recentemente è stata verificata la presenza di pellet e fibre di plastica sospese in atmosfera [8]. Potrebbe essere questa una ulteriore fonte di microplastiche marina. Studi effettuati dichiarano che una principale fonte di SAMP possa essere quella di indumenti tessili, data anche dalla alta quantità di fibre tessili riscontrata [23]. Di fatto la somiglianza osservata nella composizione polimerica tra SAMP e microplastiche presenti nello scarico di acque reflue urbane, portò ad ipotizzare che esse derivassero da abrasioni meccaniche o scomposizioni fisiche di indumenti e materiale tessile e che durante l'asciugatura, essendo esposti all'irradiazione UV e alle variazioni termiche ambientali, tali fattori promuovessero la degradazione a microfibre. Non è da escludere, però, che tali particelle possano derivare anche da combustione incompleta di detriti plastici nei camini (soprattutto in paesi in via di sviluppo). Un altro esempio può essere associato alle microplastiche secondarie derivanti dall'abrasione da attrito dei pneumatici con l'asfalto, queste minuscole particelle sintetiche possono andare a costituire una frazione del PM10 [24]. A causa delle loro dimensioni ridotte e densità relativamente bassa, le microplastiche sono facilmente trasportabili dal vento e possono persistere in atmosfera per lunghi periodi. Essendo di fonte antropogenica, le concentrazioni maggiori sono state osservate a pochi metri dal suolo, con concentrazioni decrescenti all'aumentare dell'altitudine.

1.2.2 Microplastiche e rischio sulla salute

La presenza di questi detriti di plastica nell'ambiente potrebbero essere una minaccia sulla capacità di conservazione della biodiversità negli esseri viventi, sono in corso numerosi studi per dimostrarne l'entità [16], [25]. Va tenuto in considerazione che seppure la plastica è un materiale biochimicamente inerte, cioè non è in grado di reagire con la membrana cellulare di un organismo, tantomeno di penetrarla.

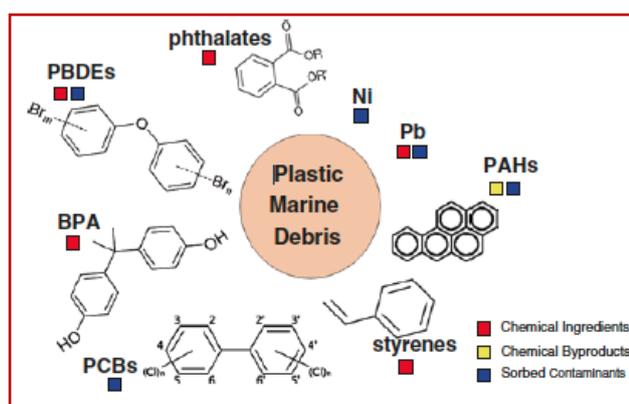


Figura 9: sostanze chimiche contaminanti

La varietà di sostanze chimiche aggiunte alla struttura polimerica per conferirgli una determinata proprietà può essere assorbita, invece, a livello tissutale degli organismi. In aggiunta alle sostanze chimiche presenti

internamente quali monomeri residui o additivi, esempio plastificanti come gli ftalati, la tossicità di tali frammenti sta nella possibilità di alcuni contaminanti ambientali a potersi assorbire sulla superficie. Le MP risultano così potenzialmente dei vettori ambientali (figura 10). Nell'ambiente marino sono presenti inquinanti idrofobici come i POPs, inquinanti organici persistenti quali ad esempio i PCB, PAH o ancora metalli pesanti, che vengono assorbiti dall'acqua circostante sulla superficie. Studi dimostrano che le microplastiche sono in grado di accumulare PAH, PCB con una concentrazione fino a 10^6 volte superiore rispetto all'acqua marina circostante [26]. Tali sostanze organiche idrofobiche hanno grande affinità per sostanze plastiche come ad esempio il polietilene, il polipropilene o il PVC, le microplastiche inoltre, hanno un rapporto superficie/volume maggiore alle macroplastiche e dunque più suscettibili alla contaminazione.

È bene porre attenzione su alcune di queste sostanze chimiche perché sono considerate inquinanti prioritari in quanto persistenti, bioaccumulabili e tossici ed infatti sono stati tradotti dall'Unione Europea in norme alimentari [27]. Ad esempio il Bisfenolo A, utilizzato nella produzione del policarbonato, può avere effetti negativi sul sistema endocrino o lo stirene e il monomero polivinilcloruro, utilizzato nella produzione di polistirolo e polivinil cloruro (PVC), possono essere cancerogeni e mutageni, elencati come sostanze tossiche dalla maggior parte delle agenzie per la salute e per l'ambiente americane (es. EPA) [28]. Inoltre, solventi cancerogeni o catalizzatori aggiunti in fase di produzione come tributilstagno o cloruro di rame causano alterazioni del sistema endocrino nei molluschi o alterazione nello sviluppo di

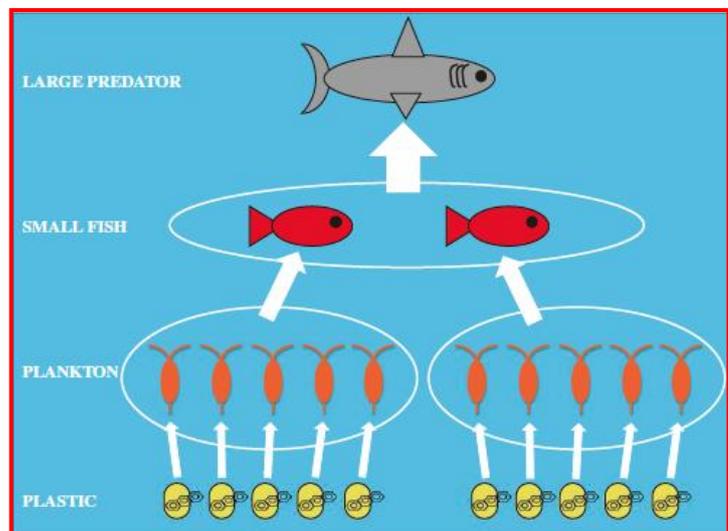


Figura 10: processo di biomagnificazione

pesci. Queste miscele di contaminanti possono essere disponibili al biota e potrebbero essere trasferite agli animali tramite l'ingestione e l'endocitosi, possono assorbirsi nei fluidi digestivi e essere trasferiti ad altri tessuti, dove si accumulano in concentrazioni

elevate. Inoltre, le concentrazioni di sostanze tossiche possono aumentare anche attraverso il trasferimento nella rete alimentare. La biomagnificazione é il processo attraverso cui le sostanze tossiche possono provocare un accumulo supplementare, con un conseguente aumento della concentrazione chimica all'aumentare del livello trofico nelle reti alimentari. Tale catena può concludersi nell'uomo, arrivando infatti al cibo destinato a lui. La plastica quindi viene trasferita nella filiera alimentare e come mostrano le frecce della figura 11 il bioaccumulo può amplificarsi scalando nella catena alimentare. È necessario considerare che gli effetti tossicologici più diretti delle microplastiche sono legati alla lisciviazione (ovvero il processo consistente nella separazione di uno o più componenti solubili da una massa solida mediante un solvente) di additivi, ma anche i frammenti di microplastica possano creare danni fisici come il soffocamento, tipicamente osservabili in molti invertebrati filtratori, o ancora, l'intrappolamento di organismi superiori causato dalle macroplastiche (scarti della cosiddetta "pesca fantasma") [2], [10]. Quindi è più frequente che gli animali a vita bentonica accumulino direttamente microplastiche anche di cospicue dimensioni, mentre particelle più piccole possono essere ingerite anche da organismi planctonici [29]. Inoltre l'aumento numerico di microplastiche può intensificare la possibilità di mescolamento con fonti di cibo in superficie e può influire sulla capacità dei pesci che si nutrono di plancton di non distinguere tra plastica e il loro cibo naturale creando confusione nella catena alimentare. Sembrerebbe essere meno preoccupante la presenza di microplastiche in atmosfera, probabilmente molto meno studiata, ma richiede comunque una maggior attenzione poiché studi riportano una inalazione quotidiana per persona fino a 21 particelle [24]. Possono quindi provocare irritazioni o anche infezioni alle vie respiratorie se ad esse è associato il trasporto di microrganismi adsorbiti sulla superficie.

1.3 METODI DI CAMPIONAMENTO E PRETRATTAMENTO

Analisi quantitative e qualitative di microplastiche rappresentano una sfida per gli scienziati ambientali. Raccogliere dati risulta necessario al fine di valutare le fonti, le distribuzioni in matrici ambientali, l'impatto sulla salute di organismi e per eseguire confronti su scala spaziale e temporale. Questa esigenza ha favorito un'intensa ricerca

per sviluppare, ottimizzare e applicare metodi analitici adatti al campionamento, trattamento e identificazione dei frammenti di plastica. Le loro piccole dimensioni rendono più complesse le analisi e gli approcci analitici diventano sempre più sofisticati. Gli studi eseguiti fino ad ora evidenziano una enorme necessità di standardizzazione del campionamento e delle analisi di caratterizzazione poiché riportano spesso lavori non comparabili tra loro [30], [31]. Nella figura 12 viene fornito un primo schema di processo di analisi di vari comparti ambientali riportati in letteratura.

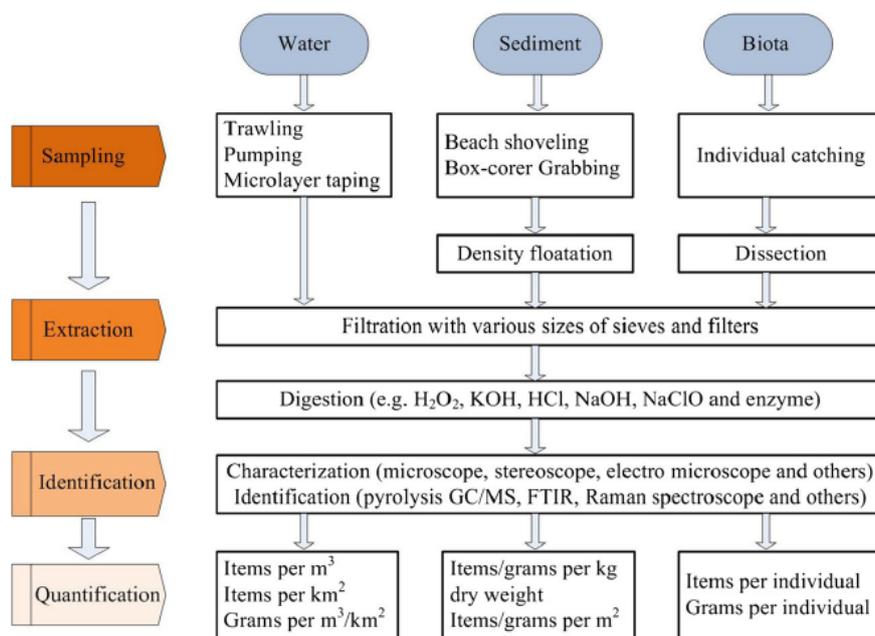


Figura 12: schema di processo di analisi in vari comparti ambientali. [30]

1.3.1 Metodi di campionamento

Il campionamento di microplastiche in ambiente è influenzato principalmente dal comparto ambientale, fase acquosa, fase sedimento o il biota, ma indipendentemente dalla provenienza, la matrice contiene un carico elevato di materiale organico e inorganico che interferiscono fortemente con il loro rilevamento. Essendo le microplastiche distribuite in maniera eterogenea nell'ambiente il campionamento deve comunque risultare rappresentativo.

- Campionamento in acqua:

La distribuzione delle microplastiche in comparti acquatici risente di diversi fattori quali dimensioni, peso e densità relativa, portando i frammenti di plastica a distribuirsi obliquamente all'interno di esso. Per ottenere un campionamento rappresentativo, occorre quindi conoscere e valutare i valori chimico-fisici dell'ambiente circostante e occorre considerare i fenomeni di rimescolamento che possono interessare e alterare la distribuzione di microplastiche. Il campionamento eseguito in superficie viene comunemente eseguito con reti da traino, reti neuston o reti 'manta'; mentre il campionamento della colonna d'acqua viene eseguito con reti di plancton dotate tutte di flussimetro. Le maglie hanno dimensioni tra 20 e 3000 μm , linee guida MSFD (Marine Strategy Framework Directive) prevedono una dimensione di maglia 333 μm , lunghezza netta totale di 6 m e tempo di campionamento 30 minuti [32]. Maglie di piccole dimensioni portano ad una veloce ostruzione considerato il grande volume di acqua campionato. È necessario, per ottenere un campionamento rappresentativo, filtrare grandi volumi d'acqua poiché le concentrazioni di microplastica risultano relativamente basse rispetto a quelli di sedimenti. Meno frequentemente, per il campionamento lungo la colonna d'acqua, si può procedere con filtrazione diretta dell'acqua prelevata con pompe sommerse. I campioni filtrati vengono poi essiccati per ottenere una polvere [33]. I risultati vengono espressi in numero di particelle per km^2 o m^3 di acqua campionata.

- Campionamento nei sedimenti:

La strategia nel campionamento varia a seconda della tipologia di sedimento. Per un campionamento rappresentativo di sedimenti costieri è richiesto l'utilizzo di uno strumento non plastico per la raccolta (cucchiaio, spatola o paletta) e di un contenitore, anche esso non di plastica. È necessario prevedere, anche in questa prima fase di preparazione del campione una possibile contaminazione di fondo, pertanto è necessario prendere in considerazione dei bianchi. Non esiste ancora un metodo di campionamento standardizzato, motivo per il quale diversi studi hanno riportato campionamenti random in vari punti o lungo il transetto perpendicolare o parallelo al mare. Tale variabilità si ripropone anche sulla scelta della profondità, 2-5 cm dallo strato di sedimento superiore è la media che riporta la letteratura [34]. Tuttavia il TSG-

ML (Technical Subgroup on Marine Litter) raccomanda di campionare sulla battigia, con una distanza di almeno 5 m tra due punti di campionamento e di effettuare 5 repliche [35]. Campionamenti basati su griglie forniscono valori in m^2 di superficie campionata, risultati in m^3 o in kg se il dato si riferisce al volume o massa campionata.

Diverso per il campionamento di sedimenti subtidali che necessita di benne (ad esempio modello Van Veen) o altri strumenti come corer multipli [36].

- Campionamento del biota:

Le preoccupazioni relative alla contaminazione da microplastiche nel biota, come quanto detto, si concentrano sui rischi legati alla ingestione da parte di organismi acquatici come uccelli, pesci, bivalvi e crostacei e nell'accumulo di esse attraverso vari livelli trofici. Pesci, molluschi e crostacei vengono campionati con reti a strascico, a circuizione o da traino con una profondità variabile tra 10 e 281 m a seconda dell'area di campionamento. I campionamenti hanno una durata media di 30 min con una velocità nella raccolta inferiore ai 4 nodi, per ognuno di essi vengono registrati luogo, data e profondità [2]. I campioni vengono congelati immediatamente o avviati ad una fase di preparazione preliminare all'analisi del contenuto stomacale, delle branchie o dei tessuti. Per gli uccelli, invece, vengono analizzati esemplari morti trovati in ambiente costiero. Tuttavia le microplastiche trovate in organi come lo stomaco hanno dimensioni molto varie, nei tessuti invece è facile trovarne di dimensioni inferiori (nanoplastiche) in aggiunta ad eventuali additivi che possono trasferirsi dall'apparato digerente e assorbirsi a livello cellulare.

1.3.2 Preparazione campione

La separazione di particelle di microplastica dalle grandi quantità di sedimenti può essere fatta seguendo diverse tecniche, una delle più comuni è quella di separazione per densità in una soluzione salina (flottazione), sfruttando la bassa densità della maggior parte del materiale polimerico [37]. La figura 13 mostra il range di densità del materiale plastico (0.90-2.30 Kg/L) in confronto con quella di sabbia o sedimento di circa 2.65 Kg/L. Il campione viene miscelato con un liquido di densità definita normalmente una soluzione salina satura, i sali più comunemente utilizzati sono

cloruro di sodio (NaCl) con densità della soluzione satura 1.2 g/cm^3 , bromuro di sodio (NaBr, 1.46 g/cm^3), sodio ioduro (NaI, 1.8 g/cm^3) e bromuro di zinco (ZnBr_2 4.2 g/cm^3) [37]. Soluzioni saline a più alta densità come zinco cloruro e sodio o zinco politungstato possono essere utilizzate in alternativa per consentire la separazione di polimeri ad alta densità come PVC, PET che hanno densità intorno a $1.3\text{-}1.45 \text{ g/cm}^3$. Quello usato in maggioranza rimane NaCl perché facilmente disponibile, poco costoso e non tossico [38].

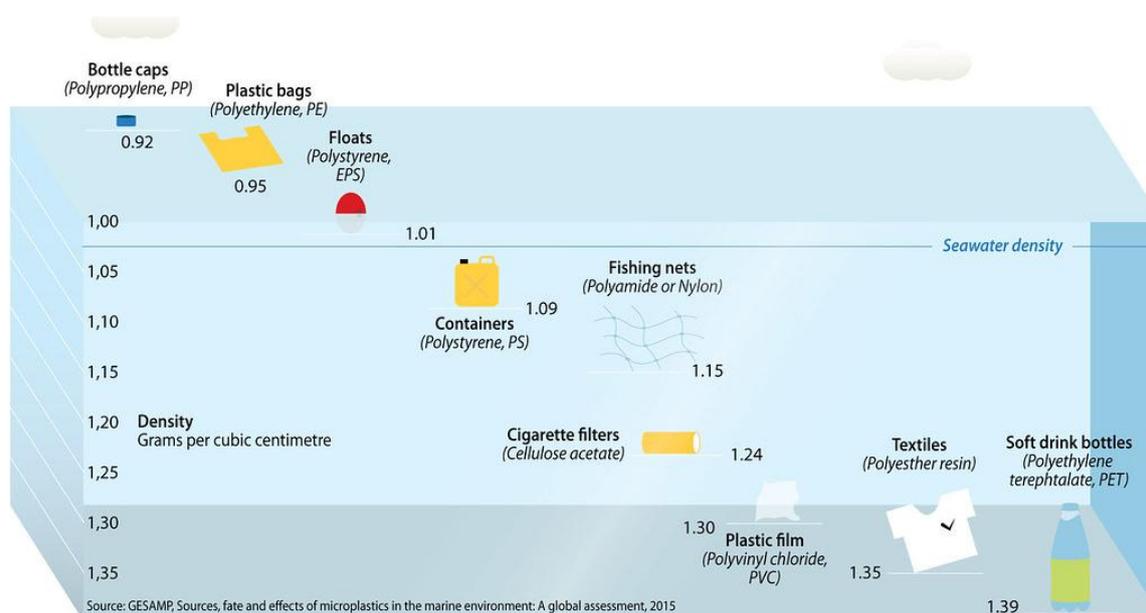


Figura 13: densità dei polimeri più comuni in ambiente marino [10]

Dopo una agitazione e/o una areazione, la miscela viene lasciata decantare e le particelle fluttuanti nel surnatante vengono filtrate e/o separate in classi dimensionali con setacci in acciaio. In base alla tecnica analitica che verrà adottata, saranno effettuate scelte sulle dimensioni dei setacci o natura chimica del filtro da utilizzare. Filtri in fibra di vetro sono molto usati per analisi in pirolisi: anche la forma, dimensione del filtro e una distribuzione irregolare delle particelle possono essere rilevanti per una corretta quantificazione utilizzando questa tecnica. Per garantire che venga esaminata una quantità rappresentativa di campione, specie se le concentrazioni di microplastiche sono basse o molto eterogenee, è vantaggioso un aumento del volume campionato, ma ne deriva un alto costo dall'utilizzo di quantità di soluzione salina ingenti. Con tale tecnica rimane problematica la presenza di materia organica

naturale o biogenica a bassa densità, quindi una difficile separazione ed una distinzione visiva dalla plastica.

Senza che vi sia l'alterazione della matrice polimerica, è importante l'eliminazione dell'interferenza della matrice organica la quale può essere effettuata secondo due processi differenti:

1) trattamento chimico - prevede una digestione alcalina, acida o ossidante del campione. Nel primo caso il campione viene esposto a soluzioni quali NaOH o KOH, nel secondo ad acidi quali HCl, HNO₃, HClO₄ e nell'ultimo a soluzioni ossidanti quali H₂O₂ (35% 7 giorni) [37]. Questo trattamento chimico è sconsigliato per polimeri di condensazione come PET o poliammidi, i quali possono subire effetti distruttivi in fase di digestione acida o alcalina [39]. Inoltre il trattamento ossidativo può scolorire la plastica compromettendo la differenziazione visiva tra, per esempio, una microplastica di origine antropogenica e una naturale.

2) trattamento enzimatico - metodi di purificazione basati su enzimi proteolitici. Risultano processi di digestione più blanda, con condizioni di temperatura e pH moderati e non ha effetti significativi sulla struttura delle microplastiche a volte però presenta una efficienza minore e necessita quindi di ulteriori studi per dimostrarne l'efficacia.

Un'ulteriore separazione di sabbia, suolo e sedimenti dal campione, può essere effettuata mediante estrazione con solvente organico. Uno dei più comuni è il diclorometano, in quanto dissolve la maggior parte dei polimeri presente in ambiente come microplastiche, usato con estrattore Soxhlet [40], [41]. Una recente evoluzione è basata sull'uso di un sistema di estrazioni pressurizzate, in cui la prima prevedeva l'uso di metanolo per ridurre gli effetti matrice, la seconda, con tetraidrofurano, per estrarre le microplastiche [42].

Infine la preparazione può prevedere solo una omogeneizzazione con apparecchiature quali un mulino da taglio e una analisi diretta sull'intera matrice. Il vantaggio principale sta nella grande rappresentatività del campione. Tecniche che lo permettono, descritte nel paragrafo successivo, devono essere in grado di analizzare

grandi quantità di campioni (circa 20 mg per la tecnica TED-GC/MS) ed essere robuste e con alta sensibilità. Nella figura 14 vengono riassunte le procedure di preparazione del campione fino ad ora descritte.

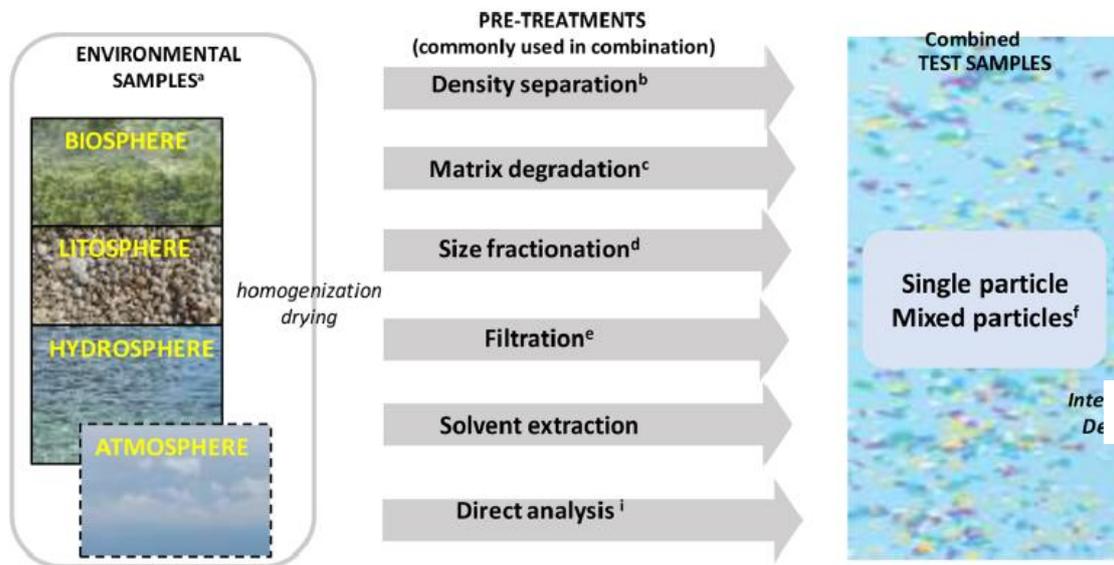


Figura 14: procedure di preparazione del campione [43].

1.4 INDIVIDUAZIONE E QUANTIFICAZIONE: TECNICHE A CONFRONTO

L'ampia gamma di dimensione, la natura complessa delle forme, colori e diversi tipi di polimeri portano ad una difficoltà nella identificazione in modo completo e affidabile delle microplastiche, specie se la matrice ambientale risulta molto complessa. Le tecniche di caratterizzazione sviluppate sono innumerevoli, spesso in fase di identificazione vengono utilizzate combinazioni di più metodi analitici. Ogni metodo, o combinazione di essi, ha propri vantaggi e limitazioni [36], [44].

In generale possono essere suddivise in due tipologie:

- caratterizzazione fisica e morfologica
- caratterizzazione e quantificazione chimica.

1.4.1 Metodo visivo

Nella maggior parte degli studi, le microplastiche vengono inizialmente identificate visivamente prima di sottoporle a successive tecniche di analisi. Le particelle più grossolane (1-5 mm) possono essere identificate ad occhio nudo, la quantificazione prevede uno smistamento e conta manuale dei frammenti. Sebbene risulti una tecnica veloce e molto semplice, dipende fortemente dall'operatore. Microplastiche di piccole dimensioni possono essere identificate attraverso microscopi ottici, elettronici o a scansione di sonda. La stereo microscopia è utilizzata per identificare microplastiche le cui dimensioni sono nell'ordine di grandezza del centinaio di micron. Le immagini ingrandite forniscono una visione della trama superficiale dettagliata e informazioni strutturali sugli oggetti, tuttavia errori di falsa identificazione sono comuni e studi riportano errori superiori al 70% nella identificazione per particelle trasparenti [44], [45]. Inoltre con la sola microscopia risulta difficile distinguere l'origine sintetica o naturale delle plastiche, motivo per il quale una sola analisi visiva spesso risulta insufficiente per garantire una identificazione inequivocabile. L'utilizzo di un microscopio a luce polarizzata, inoltre, può fornire informazioni sulla cristallinità del materiale polimerico per una maggior comprensione della struttura interna, requisito fondamentale per questo tipo di analisi è lo spessore, esso deve risultare sottile per un passaggio della luce polarizzata. Altre tecniche di microscopia avanzata quali microscopia elettronica a scansione (SEM) combinata con spettroscopia a raggi X a dispersione di energia (EDS) forniscono immagini ad alta risoluzione e informazioni sulla composizione elementare della particella, utile a discriminare frammenti con alti contenuti di carbonio da particelle inorganiche, tali tecniche vanno utilizzate in casi specifici poiché richiedono molto tempo di analisi e risultano essere molto costose. Questa ultima tecnica potenzialmente potrebbe rilevare frammenti plastici fino alle dimensioni di nano plastiche, attualmente è ancora in corso di valutazione [2].

Talvolta nell'identificazione visiva possono essere usati metodi che prevedono la tintura. Per il riconoscimento delle microplastiche, vengono marcati con colorante fluorescente come il Nile Red o il rosa bengala le particelle organiche naturali lasciando non colorato il materiale polimerico [2]. L'informazione sulla tipologia di plastica risulta essere nuovamente assente, a conferma che il metodo visivo deve

essere supportato da ulteriori metodi quali quelli spettroscopici o spettrometrici in seguito riportati.

1.4.2 Metodi spettroscopici

Per una caratterizzazione di tipo chimico le analisi prevedono l'uso di strumentazione più sofisticata quale spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FTIR) o spettroscopia Raman (RS, RM se accoppiata con microscopio). Forniscono entrambe informazioni sui legami chimici specifici di ogni particella. Entrambe le tecniche richiedono basse quantità di campione e un esiguo numero di passaggi nella preparazione di esso.

- La spettroscopia FTIR

Il metodo di identificazione FTIR si basa sull'assorbimento di energia da parte di gruppi funzionali caratteristici presenti nelle catene polimeriche, vengono analizzate le vibrazioni molecolari che producono spettri unici che, se confrontati con quelli di riferimento raccolti in un libreria, consentono di identificare in maniera certa e distinguerli da altro materiale organico o inorganico. È solitamente usata con microplastiche di dimensione maggiori di 10 μm . La spettroscopia FTIR può essere usata in modalità di riflessione, trasmissione o riflessione totale attenuata (ATR) [2], [46]. Questa ultima modalità richiede una dimensione minima della particella di 500 μm poiché deve essere trasferita manualmente sul cristallo dell'unità ATR, produce però spettri stabili da superfici irregolari, non possibile in modalità riflessione. A differenza della modalità di trasmissione, la modalità riflessione o ATR non richiedono preparazione nel campione per microplastiche spesse e opache [47]. L'accoppiamento di microscopi a strumenti FTIR (micro-FTIR) permettono di analizzare particelle più piccole, la cui dimensione minima delle particelle rimane comunque limitata dalla diffrazione fisica della luce [48]. Nonostante la tecnica di identificazione con FTIR dia una corretta quantificazione di particelle plastiche e riduca la probabilità di perdere particelle prive di colore o con consistenza particolare, prevede una procedura di scansione molto dispendiosa in termini di tempo e risente di particolari interferenti quali acqua, materia organica ecc., risulta perciò raramente applicabile per analisi di routine. Questo potrebbe essere migliorato con il metodo di

imaging di riflettanza basato su array a piano focale (FPA) che fornisce informazioni per l'identificazione di microplastiche (150-250 μm) su aree di superficie più grandi in tempi più rapidi e senza compromettere la risoluzione spaziale [49].

- Spettroscopia Raman

Con la spettroscopia Raman è possibile analizzare particelle con dimensioni inferiori di uno o due ordini di grandezza rispetto alla spettroscopia FTIR, poiché il diametro del raggio laser impiegata è inferiore. Il raggio laser impiegato, irradia l'oggetto provocando diverse frequenze di luce retro diffusa che, a seconda della struttura molecolare e degli atomi presenti producono uno spettro unico per ogni polimero [44]. Con un confronto con spettri di standard fornisce una identificazione del polimero e anche profili della composizione polimerica di ciascun campione. Spesso RS è associata ad un microscopio ottico standard (micro-spettroscopia Raman: RM) questo assetto presenta una elevata risoluzione spaziale (fino ad 1 μm) e una insensibilità all'acqua. La dimensione di particelle analizzabili con RS e RM è di ampio range, sia superiore a 500 nm sia nell'ordine dei μm , tale tecnica inoltre consente l'analisi di particelle scure e non trasparenti [50]. In figura 15 sono messe a confronto le dimensioni delle microplastiche analizzabili mediante i diversi metodi di identificazione. Sebbene si tratti di analisi senza contatto e quindi i campioni di microplastica possano rimanere intatti per successive analisi, tale tecnica presenta una forte interferenza di fluorescenza di fondo da contaminazioni (micro) biologiche, organiche come sostanze umiche e inorganiche come minerali argillosi che ne ostacolano l'identificazione. La tecnica risulta sensibile anche agli additivi e ai pigmenti chimici presenti, che possono interferire nella identificazione delle microplastiche. Risulta quindi necessaria una purificazione del campione prima e una appropriata scelta dei parametri di acquisizione per limitare il problema di una forte resistenza alla fluorescenza.

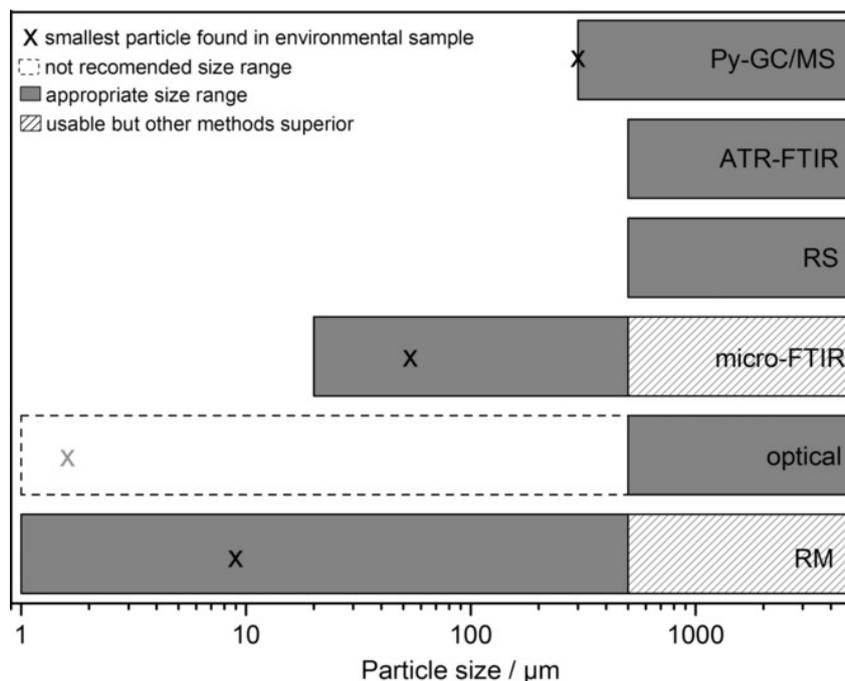


Figura 15: panoramica delle dimensioni analizzabili con le diverse tecniche di identificazione [2]

1.4.3 Metodi termici

L'identificazione con metodi spettroscopici è influenzata da cambiamenti o degradazione della superficie polimerica per esposizione ad agenti atmosferici (esempio PVC per esposizione a raggi UV porta una diminuzione di intensità di picchi negli spettri RS) o all'aggiunta di additivi in superficie durante la lavorazione. Infatti una limitazione delle spettroscopie Raman e FTIR è che gli spettri derivanti forniscono informazioni relative alla porzione superficiale dei frammenti. Pertanto, incrostazioni microbiche, acidi umici o altri contaminanti adsorbiti sulla superficie possono interferire con l'assorbimento, riflessione o l'eccitazione delle molecole portando talvolta a impedire totalmente l'identificazione. Le analisi termiche risolvono questi problemi andando a caratterizzare i campioni di microplastica a livello molecolare e identificare non solo i polimeri ma anche la possibile presenza di additivi in una singola analisi. Tali tecniche misurano i cambiamenti nelle proprietà fisiche e chimiche dei polimeri in base alla loro stabilità termica. Si tratta di metodi distruttivi che impediscono qualsiasi ulteriore analisi sugli stessi [51].

- Termogravimetria

La termogravimetria (TGA) è una tecnica termoanalitica che permette di misurare minime variazioni di massa di un campione in funzione del tempo a seguito di un aumento di temperatura in una atmosfera gassosa controllata. Si osserva quindi il comportamento termico del materiale, le reazioni di ossidazione e decomposizione danno informazioni sulla composizione polimerica del campione [52]. Poiché il riscaldamento provoca scissioni di legami all'interno delle catene polimeriche e formazione di composti volatili, tali fumi possono essere assorbiti su adsorbitori a fase solida (TGA-SPE) e poi analizzati, successivamente al desorbimento termico, in gascromatografia e spettrometria di massa (TDS-GC/MS). La combinazione prende il nome di termo-estrazione a desorbimento accoppiata a gas cromatografia e spettrometria di massa (TED-GC/MS). Tale accoppiamento fornisce analisi più complete, la TGA fornisce informazione sulla perdita in peso del campione e l'analisi in GC/MS una di identificazione dei gas emessi. Inoltre la termogravimetria può risultare combinata alla spettroscopia di massa (TGA-MS), questa combinazione ha una limitazione rispetto alla precedente, fornendo informazioni esclusivamente sui frammenti di massa senza fornirne una sul tempo di ritenzione come identificatore aggiuntivo. I campioni analizzati in termogravimetria non richiedono particolari pretrattamenti e preselezioni, e le quantità analizzabili (fino 20 mg) sono superiori rispetto ad altre tecniche termiche, portando a maggior rappresentatività dei dati ottenuti [33], [2]. Anche se in questo metodo si perdono informazioni sulla distribuzione dimensionale, perché le particelle si fondono prima del degrado, rimane un metodo robusto per la identificazione di polimero in matrici anche molto complesse, infatti il metodo TED-GC-MS fornisce informazioni sulla massa totale dei polimeri coinvolti, ed ancora il numero, dimensione e forma delle particelle mancano. La termogravimetria può essere associata alla DSC (calorimetria differenziale a scansione, TGA-DSC), una ulteriore tecnica che fornisce indicazioni sul comportamento termico dei polimeri, in particolare registra le transizioni di fase, caratteristiche per ogni polimero. Tale configurazione, non è usata di frequente nonostante essa sia una tecnica facile e poco costosa poiché in miscele di polimeri, i

segnali di transizione di fase risultano spesso sovrapposti e non sempre è in grado di individuarli [44].

- Pirolisi analitica

La Py-GCMS, ovvero la tecnica di pirolisi analitica associata alla gas-cromatografia e spettroscopia di massa è una tecnica che consente la caratterizzazione delle microplastiche in base ai prodotti di degradazione termica [51]. Le micro particelle vengono pirolizzate in tubi di quarzo (o di metallo non reattivo) in condizioni inerti ad elevate temperature per intervalli brevi (es. 1 minuto a 700 °C). I prodotti di pirolisi, frammenti a più basso peso molecolare del materiale di partenza, possono essere separati dal gas cromatografo e successivamente caratterizzati con spettrometria di massa. Il cromatogramma che si registra prende il nome di pirogramma, esso viene confrontato con pirogrammi di riferimento di polimeri noti per l'identificazione. Ogni polimero ha prodotti di degradazione caratteristici e ioni indicatori che possono essere usati per il suo riconoscimento anche in presenza di matrici organiche più complesse o in presenza di additivi, i quali possono essere individuati simultaneamente [53]. Nonostante abbia questa elevata efficienza, come negli approcci spettroscopici vibrazionali, ha difficoltà a discriminare le varie tipologie dello stesso polimero, quale LDPE o HDPE o differenziare tra PS e PS espanso o reticolato. Questa tecnica però può essere applicata a campioni di massa inferiore rispetto a quanto visto precedentemente con la termogravimetrica, con un massimo di qualche mg in base all'assetto scelto; infatti in base alla configurazione del sistema e al suo utilizzo viene classificata in pirolisi on-line e off-line. L'analisi on-line (figura 16), prevede che i prodotti di pirolisi ottenuti, vengano trasportati mediante un flusso di gas inerte direttamente dal pirolizzatore all'interno del gascromatografo per essere separati ed analizzati [54], [55]. La configurazione off-line, prevede che i prodotti di pirolisi ottenuti, vengano intrappolati in cartucce contenenti un materiale adsorbente. Tale adsorbente viene poi sottoposto ad estrazione con solvente, filtrato e successivamente analizzato al GC-MS. Altro sistema adsorbente può essere una fibra SPME (Solid phase micro extraction), esposta ai fumi di pirolisi e analizzata successivamente in GC-MS [56], [57].

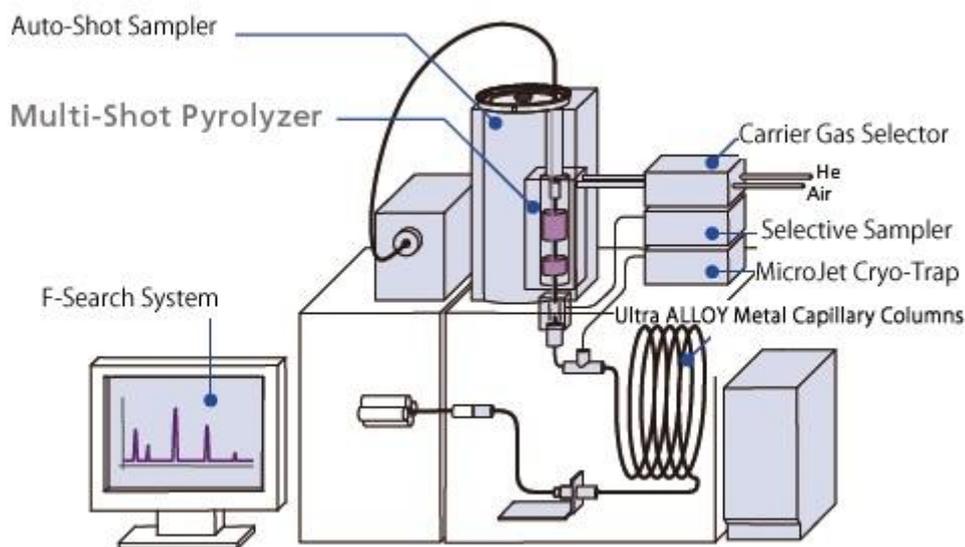


Figura 16 : schema funzionamento e strumentazione PY-GC/MS online [58].

Effettuando analisi su materie plastiche in Py-GC/MS, spesso si incorre nel problema che molti polimeri sintetici durante la pirolisi producono molecole polari e poco volatili che non riescono ad essere rilevate tramite GC-MS. La tecnica della pirolisi assistita con metilazione o sililazione permette, nella maggior parte dei casi, di ovviare al problema. In generale la derivatizzazione è quel processo tramite cui vengono sostituiti gruppi funzionali di molecole: la metilazione o la sililazione prevedono la sostituzione di un atomo di idrogeno che è legato ad un eteroatomo (-OH, -NH, -SH) con un gruppo metile (-CH₃) nel caso di metilazione, o gruppo -SiR₃ nel caso di sililazione. Questo comporta una riduzione della polarità della molecola e l'impossibilità di realizzare legami a idrogeno. Ne risultano molecole maggiormente stabili (agenti derivatizzanti vanno a proteggere la parte labile della molecola) e volatili, permettendo di ottenere pirogrammi più precisi e ricchi di prodotti [59], [60]. L'agente metilante che viene maggiormente usato è il tetrametilammonio idrossido (TMAH) (figura 17), gli agenti sililanti più comuni sono l'esametildisilazano (HMDS) e l'*N*,*O*-bis(trimetilsilil)trifluoroacetammide con trimetilclorosilano (BSTFA/TMCS), (fig 18a/b).

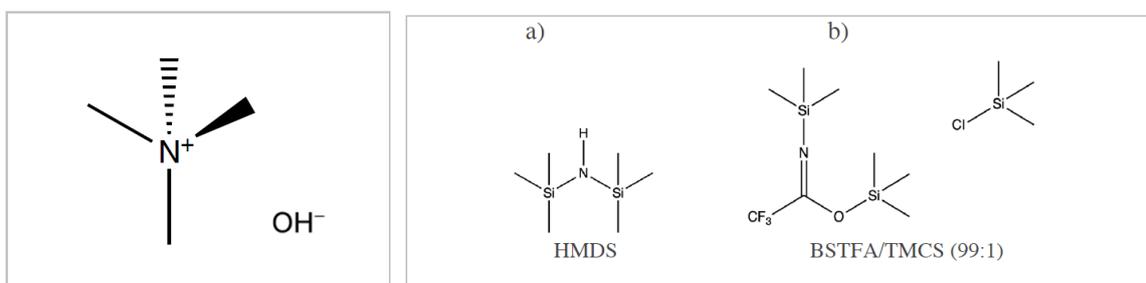


Figura 17: formula di struttura del tetrametilammonio idrossido. Figura 18: formule di struttura di HMDS (a) e BSTFA /TMCS (b)

Per entrambe le configurazioni possono esserci problemi di rappresentatività delle analisi, soprattutto quando le matrici sono molto eterogenee per la bassa massa di campione analizzabili, inoltre viene richiesta una fase di preselezione ad esempio attraverso tecniche ottiche.

Nonostante esistano alcuni limiti già evidenziati, le tecniche termoanalitiche hanno un grande potenziale per fornire informazioni di tipo quantitativo in termini di massa. Per effettuare questo è necessaria la costruzione di rette di calibrazione per ogni polimero. Pochi sono gli studi che forniscono un valore in massa calcolato dalle particelle tramite forma e densità del polimero ed essi risultano, per ora, solo approssimativi.

Tuttavia ad oggi, studi quantitativi che forniscono dati di concentrazioni in massa per le microplastiche sono relativamente pochi poiché mancano metodi analitici consolidati per affrontare questo aspetto.

Lo studio in esame infatti si inserisce in una delle problematiche di questa sfida. Infine sono elencati in tabella 2 i dati raccolti da letteratura di analisi qualitative eseguite in vari comparti ambientali come dimostrazione della potenzialità della tecnica di quantificare miscele di microplastiche anche a livelli molto bassi, i tipi di polimeri quantificati risultano ancora però molto limitati e spesso presentano valori difficilmente confrontabili tra loro.

Tabella 2: identificazione e concentrazione di microplastica in campioni ambientali ottenute con Py-GC/MS riportati in letteratura [43]

ORIGINE	CONCENTRAZIONE	POLIMERI INDIVIDUATI	RIFERIMENTO
Mare di Wadden	46-166 µg/Kg dw	PE, PVC > PP, PS, PET, PMMA	[61]
Sedimento fiordo Boknaf (NO)	41-495 µg/Kg dw	PE, PVC, PET > PP, PA66, PS, PMMA	[62]
Fleur de Sel (Atlantico/Mediterraneo)	138-1993 µg/Kg	PE, PP, PS, PET, PVC, PC, PMMA, PA6, PUR	[63]
Sale marino (Atlantico/Mediterraneo)	14-16 µg/Kg	PE, PP, PS, PET, PVC, PC, PMMA, PA6, PUR	[63]
Acqua Oceano Atlantico	0.12 µg/L	PE, PP, PS, PET, PVC, PC, PMMA, PA6, PUR	[63]
Acqua Mar Mediterraneo	0.20 µg/L	PE, PP, PS, PET, PVC, PC, PMMA, PA6, PUR	[63]
Acqua del Mare del Nord	0.3 µg/L	PE, PP, PET, PVC, PMMA	[63]
Biosolido	2.8-6.6 mg/g dw	PE, PVC, PP, PS, PMMA	[64]
Suolo	1-86 µg/g	PE, PP, PS	[65]
Suolo	0.039-0.85 mg/g	PE, PP, PS	[42]

2 SCOPO

Il presente lavoro si colloca in un contesto di crescente attenzione verso lo sviluppo di metodi di analisi quali-quantitative di microplastiche in matrici ambientali. Lo scopo principale è quello di mettere a punto un metodo basato sulla pirolisi analitica che permetta di identificare prima e di quantificare poi alcuni dei polimeri commerciali. La scelta di approfondire lo studio su PET, PA, PE, PP, PS, PVC, nasce dal fatto che essi rappresentano circa l'80% della domanda europea di plastica. Date le ingenti quantità prodotte di tali polimeri e soprattutto il grande uso di essi negli oggetti "usa e getta", è facile pensare che, se non ben gestite, possano costituire un potenziale pericolo per l'ambiente.

Il problema delle microplastiche nell'ambiente ha spinto la ricerca di metodi sicuri e validi per la determinazione delle plastiche in matrici ambientali. Ad oggi non si hanno metodi standardizzati per l'analisi quantitativa in massa delle microplastiche. Partendo da questa considerazione si è cercato di implementare un metodo analitico robusto che permetta di arrivare ad uno studio quantitativo o semi-quantitativo dei polimeri in miscela tramite pirolisi analitica associata a GC-MS. Sebbene la tecnica PY-GC/MS è ottima nell'identificazione simultanea di diversi polimeri, risulta spesso complicato comprendere e prevedere i meccanismi di reazione che stanno alla base delle interferenze tra questi. Per tale motivo parte dello studio è dedicato all'identificazione delle interferenze possibili nella quantificazione di polimeri in matrice complessa. L'ottimizzazione del metodo ha previsto un miglioramento nella sensibilità della tecnica, uno studio comparativo delle analisi eseguite con una diversa polarità di colonna cromatografica e l'utilizzo di tecniche di pirolisi associate a processi di derivatizzazione, come la metilazione con TMAH.

3 MATERIALI E METODI

3.1 MATERIALI

-lana di quarzo

-tubi quarzo (Polysciences, inc.Chemistry).

-microsiringa da 10 (± 0.1) μL –HAMILTON Company[®]

-Cartucce adsorbenti: ORBO™ - 78 Adsorbent Tubes (400/200 mg) – 6 mm x 110 mm Supelco

-filtro per siringa con membrana in polipropilene (0.45µm) e alloggiamento in polipropilene (diam. 25mm) –VWR International®

3.1.1 polimeri

Per l'intero lavoro sono stati analizzati campioni di polimeri commerciali quindi non standard, con lo scopo di valutare le risposte pirolitiche influenzate da una eventuale presenza di additivi o cariche presenti all'interno. Le analisi sono state eseguite su sei principali polimeri di utilizzo comune, tale scelta è stata fatta sulla loro maggior abbondanza in ambiente.

-LDPE: proveniente da un sacchetto alimentare. (Figura 19.a)

-PA: proveniente da un filo da pesca. (Figura 19.b)

-PET: proveniente da una bottiglia trasparente di acqua minerale. (Figura 19.c)

-PS: proveniente da un bicchiere usa e getta. (Figura 19.d)

-PVC: proveniente da una tubazione. (Figura 19.e)

-PP: proveniente da un coperchio di un contenitore porta cibo. (Figura 19.f)



Figura 19: prodotti polimerici

- Nylon 6.6 standard granulare (Polysciences, inc.Chemistry).

-Nylon6 standard granulare (fornito da laboratorio chimico senza indicazioni specifiche)

3.1.2 soluzioni standard

-1,3,5,-Tri-tert-butylbenzene (TTB) – Sigma-Aldrich, soluzione 1000 mg/L. La soluzione è stata ottenuta sciogliendo circa 10.0 mg di TTB in polvere esattamente pesati con bilancia analitica (± 0.1) in un matraccio da 10 mL di toluene.

-Acido benzoico per analisi EMSURE® Reag. Ph Eur, SUPELCO ($\geq 99,9\%$ di purezza)

3.1.3 solventi

-Toluene, CHROMASOLV for HPLC – Sigma - Aldrich ($\geq 99,9\%$ di purezza)

-Diclorometano for HPLC – Sigma – Aldrich ($\geq 99,8\%$ di purezza)

3.1.4 reagenti

- idrossido di tetrametilammonio (TMAH) – Sigma-Aldrich, (soluzione in H₂O 25%).

3.2 STRUMENTI E METODI DI ANALISI

3.2.1 pirolisi analitica online

Lo strumento utilizzato in questo lavoro è un pirolizzatore a filamento CDS Pyroprobe 5000 Series, Modello 5250 (figura 20a). I campioni vengono inseriti in tubi di quarzo (figura 20b), precedentemente condizionati in muffola a 600°C, e mantenuti in posizione tramite fibra di quarzo. Eventuali standard interni o agenti metilanti, sono stati iniettati direttamente sulla lana di quarzo presente all'interno dei tubi porta campione, con l'ausilio di una micro siringa da 10 μ L prima dell'analisi. I tubi di quarzo vengono posizionati all'interno della camera di pirolisi, mantenuta sotto flusso di elio, dove il filamento di platino scaldandosi per induzione trasmette calore al campione determinandone la degradazione termica. I prodotti di pirolisi sono trasferiti direttamente alla porta di iniezione della GCMS. Questo tipo di sistema prevede una transferline riscaldata, un tubo di 1 m, che collega il pirolizzatore all'iniettore del GC. Poiché precedente sono stati evidenziati problemi di trasferimento di prodotti di pirolisi e condense di prodotti con massa superiore a 400 g/mol, si è deciso per l'intero studio, di eliminare questa tipologia di interfaccia collegando il pirolizzatore direttamente alla porta di iniezione del GC (vedi figura 20b). Il metodo online permette di analizzare quantità di polimeri dell'ordine delle decine di microgrammi. Per tale motivo si è reso necessario l'uso di una bilancia adeguata. Nello specifico, è stata utilizzata una microbilancia di una TGA

METTLER TOLEDO modello STDA851, con portata pari a 20 mg e sensibilità di 0,001 mg.

La temperatura di pirolisi impostata da software è pari a 600°C, temperatura sufficientemente alta da garantire la degradazione termica dei polimeri analizzati. La temperatura è stata raggiunta con una rampa di riscaldamento pari a 20°C/mSec e mantenuta per una durata di 60s. La camera pirolitica viene mantenuta sotto flusso di elio costante, regolato in precedenza, al fine di ottenere il giusto bilanciamento del flusso di elio in testa alla colonna GC. La temperatura della valvola della camera di pirolisi è settata a 270°C.

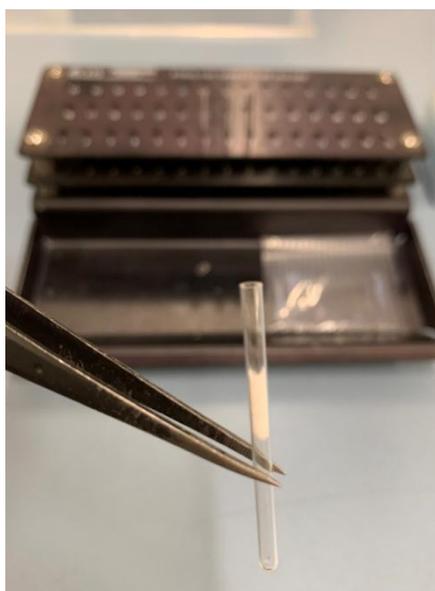


Figura 20a: tubo di quarzo



Figura 20b: pirolizzatore online

3.2.2 pirolisi analitica off-line

Il procedimento di pirolisi off-line è articolato in due diversi passaggi e non prevede un sistema d'interfaccia GC-MS, ma una raccolta dei prodotti di pirolisi in apposite trappole adsorbenti e successiva analisi in GC-MS. Tale tecnica permette di lavorare con maggiori quantità di campione, dell'ordine di grandezza del mg, migliorando così la sensibilità e la rappresentatività dell'analisi. Per la pesata si è utilizzato una bilancia analitica RADWAG modello AS60/220.X2 con sensibilità 0.01 mg.

Per effettuare il trattamento pirolitico è stato utilizzato un pirolizzatore a filamento CDS Pyroprobe 1000, dotato di una consolle da cui è possibile impostare i parametri

strumentali (rampa termica, temperatura, tempo di pirolisi) , un sonda dotata di filamento a serpentina in platino entro cui viene posto un tubicino porta campione in quarzo e di una camera di pirolisi in vetro (figura 21). La camera di pirolisi è dotata di tre aperture: una per l'introduzione del gas inerte, azoto, una per l'inserimento della sonda contenente il campione, ed infine una per l'uscita dei prodotti di pirolisi trascinati dal flusso di gas inerte e diretti verso il sistema di intrappolamento. La cattura dei fumi di pirolisi è avvenuta tramite cartucce adsorbenti ai carboni attivi (ORBO™ - 78 Adsorbent Tubes 400/200mg- 6mm x 110 mm Supelco) direttamente collegata alla terza uscita della camera tramite un giunto in silicone. Il flusso di gas inerte azoto è stato regolato a 100 mL/min. Il pirolizzatore utilizzato può lavorare in un range di temperature tra i 300 e i 1200°C. Le analisi sono state eseguite ad una temperatura di 550° (set 800°C) raggiunta con la massima velocità di riscaldamento e mantenuta per 100 secondi. Prima di ogni analisi sono stati fatti un paio di trattamenti di pulizia del porta campioni in quarzo alla temperatura di 1200°C per 5 secondi, in aggiunta un accurato lavaggio della camera di pirolisi con acetone.



Figura 21: pirolizzatore off-line

Al termine della pirolisi si è proceduto all'estrazione dei prodotti di pirolisi adsorbiti su cartucce. È stata eseguita tramite una estrazione diretta con 1mL di solvente (diclorometano) eluito all'interno della cartuccia e raccolto in un vial da 1.5mL. Poi il raccolto, poiché presentava residui solidi del mezzo adsorbente, è stato filtrato attraverso filtri per siringa con membrana in polipropilene (dimensione dei pori 0.2 µm e diametro 25 mm, VWR®) scelto per compatibilità con il solvente. Il filtrato è

stato quindi posto in vial da 1,5 mL, adatto all'auto-campionatore per l'analisi GC-MS.

-pirolisi assistita con metilazione: la tecnica di metilazione riporta modifiche al processo di pirolisi, comportando reazioni chimiche ad una alta temperatura diverse dalla termolisi convenzionale delle macromolecole. Il reagente metilante viene inserito all'interno del tubo di quarzo a contatto con il campione di microplastica da analizzare, tale operazione viene eseguita immediatamente prima della fase di pirolisi online o. Nello specifico l'agente metilante utilizzato è TMAH (25% w/w in H₂O), aggiunto 5 µm a ciascun campione. È bene, come ultimo passaggio in pirolisi online eseguire un dry, un breve riscaldamento per fare evaporare la maggior parte di solvente ed evitare che entri in colonna.

Una variazione del processo di sililazione è stata adottata nel caso di utilizzo della fibra SPME come mezzo assorbente in pirolisi off-line. Il reagente si è addizionato in seguito al trattamento termico infatti, la fibra, al termine della pirolisi, è stata lasciata esposta ad una soluzione contenente 50µL di BSTFA per 10 minuti.

3.2.3 GC-MS

Le determinazioni qualitative e quantitative sono state eseguite con due differenti sistemi di GC-MS in base al tipo di pirolisi adottata.

Analisi in GC-MS con pirolisi online: sono state eseguite con un sistema Shimadzu GCMS-QP2010, con elio come fase mobile mantenuto ad una velocità lineare costante di 35cm/sec e con colonna 65% dimetil e 35% difenil polisilossano (ZB-35, 30 m, 0.25 mm, 0.25µm film); solo nella sezione di derivatizzazione con metilante le colonna utilizzata è costituita da 5% difenil e 95% dimetil polisilossano (Rtx-5MS, 30 m, 0.25 mm, 0.25µm film). La temperatura dell'iniettore è stata impostata a 270 °C in modalità spit (1:10). Sono due le programmate termiche utilizzate in pirolisi online, una utilizzata nella prima parte dello studio di screening dei singoli polimeri e la seconda, una ottimizzazione della prima, utilizzata per l'intero studio. Per fare chiarezza nell'intero lavoro verranno richiamate e

nominate come METODO 1 e METODO 2 riportate entrambe in tabella 3 in cui oltre alla programmata termica vengono descritti anche i parametri impostati nel rilevatore MS.

Tabella 3: riassunto condizioni analitiche GC-MS di pirolisi online

GC-MS	Colonna ZB-35		Colonna Rtx-5MS
	METODO 1	METODO 2	METODO 2
Temperatura iniettore (°C)	270	270	270
Solvent delay (min)	3	3	3
Programmata termica	-50°C per un minuto, - da 50°C a 150°C con gradiente di 5°C/min, -da 150°C a 290°C con gradiente di 10°C/min.	- da 50°C a 190°C con gradiente di 3.7°C/min, -da 190°C a 290°C con gradiente di 20°C/min, -290°C per 4 minuti,	-da 50°C a 190°C con gradiente di 3.7°C/min, -da 190°C a 290°C con gradiente di 20°C/min, - 290°C per 4 minuti,
Durata totale analisi	35 min	47 min	35 min
TIC range (m/z)	35/350	35/350	35/350
(EI)	70 eV	70 eV	70 eV

La durata del solvent delay è di 3 minuti, ad eccezione delle analisi in cui vi era presente toluene come solvente (analisi con TTB), spostata a 3.5 minuti.

Anche durante le analisi quantitative e quindi per l'intero lavoro si è deciso di continuare ad acquisire in TIC (Total Ionic Current) per potere studiare le possibili interferenze.

Analisi in GC-MS degli estratti da pirolisi off-line: sono state eseguite mediante due differenti strumenti GC-MS aventi colonne con polarità diverse. Le analisi sono state eseguite su un Agilent 6850 interfacciato ad uno spettrometro di massa a quadrupolo Agilent 5975, con elio fase mobile a 1mL/min e con colonna 5% fenile e 95% metile polisilossano (Agilent HP-5MS, 30 m, 0.25 mm, 0.25µm film). Il secondo cromatografo utilizzato è un Agilent 5977 interfacciato ad uno spettrometro di massa a quadrupolo Agilent 7820°, con elio fase mobile a 1 mL/min e con colonna di polietilenglicole (PEG)

modificata con acido nitrotereftalico ad alta polarità) (Agilent DB-FFAP ,30 m, 0,25 mm, 0,25 μm film).

Per analisi di campioni estratti da cartuccia si è iniettato in modalità splitless 1 μL di campione. Le condizioni di analisi non sono rimaste le medesime, ma per varie esigenze quali massime temperature raggiungibili dalle colonne (es. colonna polare max temperatura è di 250°C), sono stati necessari impostare parametri analitici differenti. Tutte le condizioni impostate nelle varie analisi sono riassunte in tabella 4.

Tabella 4:riassunto condizioni analitiche GC-MS di pirolisi off-line

GC-MS	Colonna apolare HP-5MS	Colonna polare DB-FFAP
Campionamento prodotti pirolisi	Cartuccia adsorbente	Cartuccia adsorbente
Temperatura iniettore (°C)	270	250
Solvent delay (min)	4	6
Programmata termica	Rampa da 50 a 190 con 4°C/min Rampa da 190 a 290 con 20°C/min, mantenimento a 290°C per 4 minuti.	Mantenimento a 50°C per 5 min, rampa da 50 a 250 con 10°C/min, mantenimento a 250°C per 10 min
Durata totale analisi	44 min	35 min
TIC range (m/z)	35/350	29-300
(EI)	70 eV	70 eV

La rilevazione MS su entrambe le GC sono state fatte con ionizzazione elettronica (EI) 70eV, acquisendo il segnale in full scan per tutti i campioni derivanti da pirolisi analitica off-line.

3.2.4 bianco procedurale

Al fine di determinare la presenza di sostanze potenzialmente interferenti che non provengono dalla degradazione termica dei polimeri, è stato eseguito un bianco procedurale utilizzando la metodologia di analisi completa senza l'aggiunta iniziale dei campioni polimerici sia per analisi in pirolisi on-line che off-line.

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

Come premessa alla discussione dei dati che verranno presentati, in linea con gli obiettivi di questo studio, va specificato che sono stati analizzati frammenti polimerici commerciali. Questo permette di avere indicazioni più realistiche della possibilità di applicare la pirolisi analitica allo studio quantitativo di mix di frammenti polimerici estratti da matrici ambientali.

Questo studio può essere schematizzato in tre fasi:

- 1) la prima parte del lavoro è stata quella di verificare analiticamente la metodologia di pirolisi al fine di caratterizzare gli spettri di massa ottenuti dalla pirolisi online di PE, PP, PS, PET, PVC, PA;
- 2) dopo aver identificato e verificato con confronto di bibliografia i marker più adatti si è passati alla determinazione quantitativa con la costruzione di curve di calibrazione per ogni polimero con lo scopo di studiare la linearità delle risposte analitiche;
- 3) l'ultima fase del lavoro ha riguardato lo studio delle interazioni tra i diversi polimeri durante la pirolisi. In questa parte sono stati messi in atto diversi percorsi analitici sia per limitare gli effetti di interferenza sia per indagarne la natura.

4.1 ANALISI QUALITATIVA: PE, PP, PS, PET, PVC, PA

L'analisi qualitativa eseguita con pirolisi analitica, come con qualsiasi altro approccio termochimico, prevede una identificazione e una classificazione sulla base del profilo molecolare dei prodotti derivanti dalla decomposizione termica.

Il riconoscimento degli spettri massa dei prodotti ottenuti è stato effettuato tramite il supporto della libreria di riferimento NIST. Tra i prodotti di pirolisi sono stati identificati, anche sulla base delle informazioni di letteratura [54], [61], [62], i prodotti marker ovvero quei composti che univocamente testimoniano la presenza di quel determinato polimero nel campione. Su tali marker si basano oltre che le analisi qualitative anche le analisi quantitative. L'uso di composti indicatori specifici nell'analisi rende in

un certo modo indipendente la tecnica dalla presenza di altri polimeri o matrici organiche che possono essere presenti in una matrice ambientale reale. Alcuni marker infatti, anche se abbondanti e caratteristici di alcuni polimeri potrebbero essere formati dalla pirolisi di diversi materiali. Ad esempio la generazione di stirene, benzene o altri composti a catene alifatiche di carbonio, alcani o alcheni, possono derivare da polimeri biologici come la chitina, la cellulosa o anche da lignina, ma anche da lunghe catene alchiliche quali grassi e cere naturali. Dunque i prodotti significativi utili per l'identificazione di polimeri specifici sono generalmente i prodotti minoritari della miscela pirolizzata.

La determinazione dei prodotti di pirolisi dei sei polimeri in esame è stata effettuata sottoponendo a pirolisi frammenti solidi di circa 0.1 mg per ciascun polimero secondo la metodologia descritta precedentemente e denominata METODO 1. Si tratta di una metodica con una rampa cromatografica veloce per essere breve, costruita esclusivamente per un primo screening e un confronto con la letteratura. In questa fase preliminare sono stati analizzati i pirogrammi ottenuti in modalità TIC (total ionic current) dei singoli polimeri analizzati e identificati i prodotti di pirolisi maggiormente caratterizzanti di essi. In figura 22a/b/c/d/e/f sono riportati esempi di pirogrammi rispettivamente di PE, PP, PS, PET, PVC, PA e in tabella 5a/b/c/d/e/f sono riassunti i principali prodotti di pirolisi rispettivi. In tali tabelle, sono segnalati in rosso i composti scelti come marker, utilizzati per l'identificazione certa del polimero, sia perché composti caratteristici, sia perché nell'analisi in miscela con altri polimeri hanno mostrato una buona separazione dei picchi cromatografici, riducendo potenziali interferenze.

Inoltre, per ogni prodotto individuato è stato riportato il tempo di ritenzione del picco, il rapporto m/z dei frammenti e l'abbondanza relativa in termine di rapporto tra l'area del prodotto in esame e quella del picco scelto come marker, se più di uno, quello più abbondante.

A seguito sono discussi in dettaglio i pirogrammi di ogni polimero.

PE - Analizzando il pirogramma del PE (fig.22a) è evidente il tipico andamento del polimero (fingerprint), caratterizzato dalla presenza di picchi tripli corrispondenti

nell'ordine alcano, alchene e alcadiene, di cui il centrale mostra sempre una maggior intensità. Le terne di picchi sono ordinate in base al numero di atomi di carbonio, più precisamente si tratta di prodotti idrocarburici che vanno da un C9 ad un C20. L'identificazione del numero di carboni è stata effettuata tramite l'uso dell'esadecano con RT= 21.36 min come standard interno. In tabella 3a sono stati riportati solo i composti della terna di C12 e C14, infatti solo il dodecene e tetradecene sono stati scelti come marker del PE. Tale scelta è stata effettuata in seguito allo studio del pirogramma risultante dalla miscela dei sei polimeri, tali prodotti presentavano picchi ben riconoscibili e risolti. Il PE è costituito da lunghe catene alifatiche che si decompongono con scissione casuale in catene idrocarburiche sature, mono-insature e di-insature [66], [67]. Gli idrocarburi mono insaturi e saturi sono anche i prodotti di decomposizione termica di matrici ambientali, come acidi grassi e lipidi, e quindi non adatti per una certa identificazione di PE [68], per cui è preferibile scegliere prodotti marker con un numero alto di atomi di carbonio poiché presentano meno problemi di interferenza [54]. Tuttavia, gli idrocarburi di-insaturi si formano per doppia scissione da lunghe catene di PE e quindi unici al degrado di PE, risultano però nel caso nostro, picchi con abbondanza nettamente più bassa dei monoinsaturi e quindi non scelti come marker. Dalla letteratura, inoltre, emerge che la risposta pirolitica di diversi tipi di PE mostra lo stesso profilo caratteristico, pertanto l'influenza della cristallinità e della chimica superficiale da parte della decomposizione termica possono essere trascurati anche in questo studio [33].

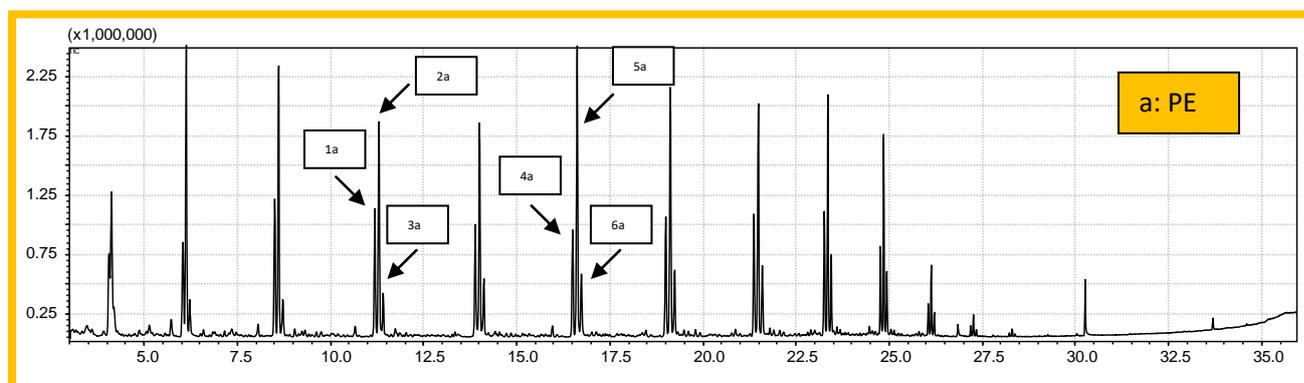


Figura: 22a: pirogrammi in TIC di PE

Tabella 5a: riassunto prodotti caratteristici di PE

a PE	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area relativa (TIC)
	1a	dodecano	11.19	57+71+85	0.5
	2a	1-dodecene	11.30	55+69+83	0.7
	3a	1,11-dodecadiene	11.41	55+67+81	0.2
	4a	tetradecano	16.30	57+71+85	0.4
	5a	1-tetradecene	16.55	55+69+83	1
	6a	1,13-tetradecadiene	16.73	55+67+81	0.2

PP - Nell'analisi relativa al PP (fig.22b) risulta che anch'esso si decompone termicamente in alcani, alcheni e alcadieni ma con un rapporto rispettivamente di 1:17:4. A causa della struttura ramificata e della sua capacità di formare isomeri, il degrado del polimero PP risulta più complesso del PE. Due sono i composti che hanno rilevato un'abbondanza elevata e sono riportati in tabella 2b. Si tratta del 2,4-dimetilept-1-ene e i 3 diastereoisomeri del 2,4,6,8-Tetrametil-1-undecene visibili in tre picchi separati. Sono tutti prodotti caratteristici della degradazione del PP e in particolare il primo viene utilizzato per l'identificazione.

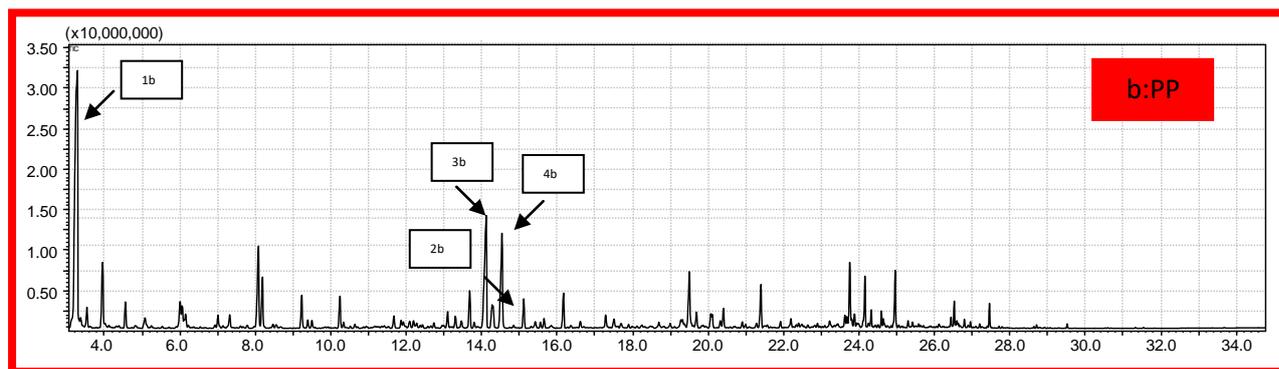


Figura: 22b: pirogrammi in TIC di PP

Tabella 5b: riassunto prodotti caratteristici di PP

b PP	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area
	1b	2,4dimetil-1-eptene	3.25	43+70+83+126	1
	2,3,4b	2,4,6,8-Tetrametil-1-undecene (3 isomeri)	14.17 14.28 14.54	69+83+111 69+83+111 69+85+111	0.3 0.1 0.2

PS - Dal pirogramma del PS (fig.22c) è possibile osservare che i picchi più abbondanti rappresentano i tre composti identificativi del polimero. La degradazione termica del PS avviene principalmente mediante reazioni di scissione di parti terminali della catena, favorendo principalmente la formazione di radicali secondari, stabili, di tipo benzili e allil benzeni. Questi radicali, stabilizzati per risonanza, riescono a strappare un protone nella catena polimerica, portando alla formazione di stirene e altri oligomeri stabili del PS [33], [69]. I tre maggiori prodotti di degradazione riguardano lo stirene e con abbondanza di molto inferiore il dimero e a seguire il trimero. Seppur con una alta intensità di segnale, lo stirene non è il marker di identificazione perfetto del polimero in matrici ambientali organiche (come tessuti biologici) in quanto la sua origine potrebbe derivare dalla chitina, cellulosa o altri polimeri naturali come la lana o fibre di cotone che possono contaminare i campioni ambientali in fase di campionamento o trattamento [54]. Lo stirene non è comunque un prodotto di degradazione termica importante di un polisaccaride, mentre lo può essere di una proteina (in particolare dalla pirolisi di fenilalanina) e di lipidi (es. acidi grassi insaturi) [70]. Anche se tali interferenze possono essere ridotte con l'applicazione di una estrazione selettiva con solvente del polimero (es toluene), la scelta del polimero marker qualitativo e quantitativo è ricaduta sul dimero, mentre per una insufficiente abbondanza è stata scartata l'ipotesi di utilizzare il trimero.

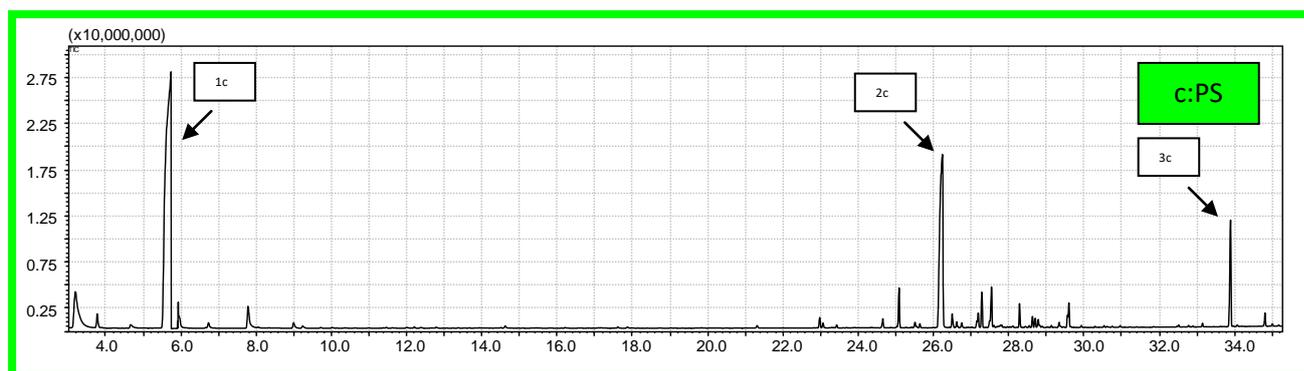


Figura: 22c: pirogrammi in TIC di PS

Tabella 5c: riassunto prodotti caratteristici di PS

C	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area
PS	1c	Stirene	5.73	51+78+104	2.5
	2c	2,4-difenil-1-butene (dimero)	26.23	104+115+130+208	1

	3c	2,4,6, trifenil-1-esene (trimero)	33.89	117+207	0.2
--	----	--------------------------------------	-------	---------	-----

PET - I prodotti di degradazione ottenuti dall'analisi del PET sono presentati in fig.22d. Il principale percorso di degradazione termica dei poliesteri e degli esteri carbossilici in generale, comporta la formazione intermedia di oligomeri ciclici per reazioni di scambio intramolecolare. Questi si decompongono ulteriormente con una reazione di trasferimento di un β -idrogeno generando oligomeri a catena aperta con gruppi terminali carbossilici, ad esempio acido o esteri vinilici [71]–[73]. Questi composti subiscono un ulteriore degrado termico generando radicali fenilici, i quali vanno a produrre tutti i principali prodotti riportati in tabella 5d. Dal pirogramma si evince che quelli più abbondanti risultano essere l'acido benzoico, un estere di tale acido, il vinil benzoato e un estere dell'acido tereftalico ovvero il divinil tereftalato. In questa prima fase di studio qualitativo si evidenzia una non buona eluizione dei picchi in quanto risultano scodati, nonostante fosse stata utilizzata una colonna parzialmente polare (65% dimetil e 35% difenil polisilossano) a causa della polarità dei composti. In letteratura per l'analisi Py-GCMS del PET viene comunemente utilizzata una procedura di metilazione per ridurre la polarità dei composti generati dalla pirolisi [54]. Questo percorso analitico rende più complessa la procedura, per cui in questa fase l'attenzione si è focalizzata su picchi meglio eluiti quali il vinil benzoato e il divinil tereftalato; anche il comportamento dell'acido benzoico è stato oggetto di studio.

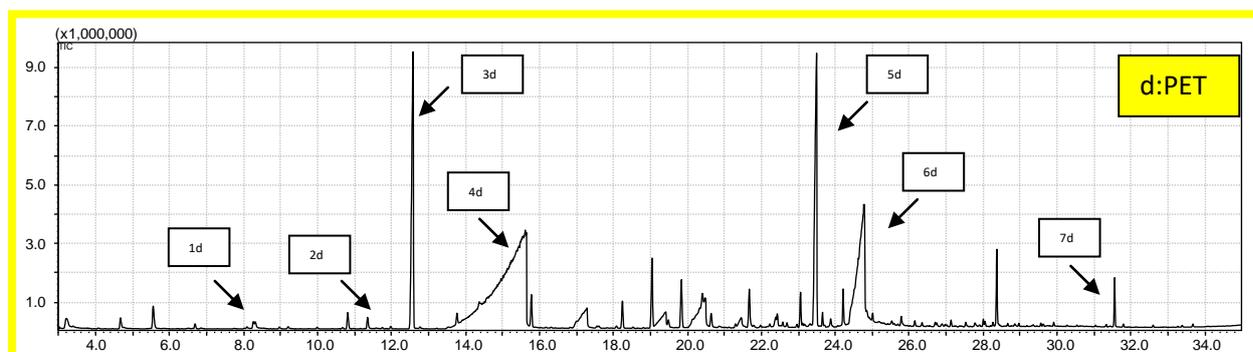


Figura 22d: pirogrammi in TIC di PET

Tabella 5d: riassunto prodotti caratteristici di PET

d PET	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area
	1d	Benzaldeide	8.27	77+106	<0.1
	2d	Acetofenone	11.36	77+105+120	<0.1
	3d	Vinil benzoato	12.59	51+77+105	0.9
	4d	Acido benzoico	15.15	77+105+122	4.5
	5d	Divinil tereftalato	23.49	104+132+175	1
	6d	4 - (vinilossi) carbonil benzoico acido	24.66	65+121+149	1.7
	7d	1,2-Etanediol, dibenzoato	31.55	105+227	0.1

PVC - Nel pirogramma del PVC (fig 22e), sono identificabili composti quali toluene, stirene e una serie di idrocarburi aromatici come indene, naftalene ecc.. I composti aromatici volatili derivano infatti dall'eliminazione di HCl come primo step, ovvero dalla deidroclorurazione e conseguente formazione di sequenze di polieni di diverse lunghezze. L'alta reattività delle catene, comporta successive reazioni di ciclizzazioni. Seguendo quanto già riportato da altri studi [54], [74], [75] si è scelto come marker due diversi isomeri di naftalene sostituiti da un gruppo metilico, i più riconducibili al polimero e meno interferenti con quanto è possibile trovare in matrici ambientali.

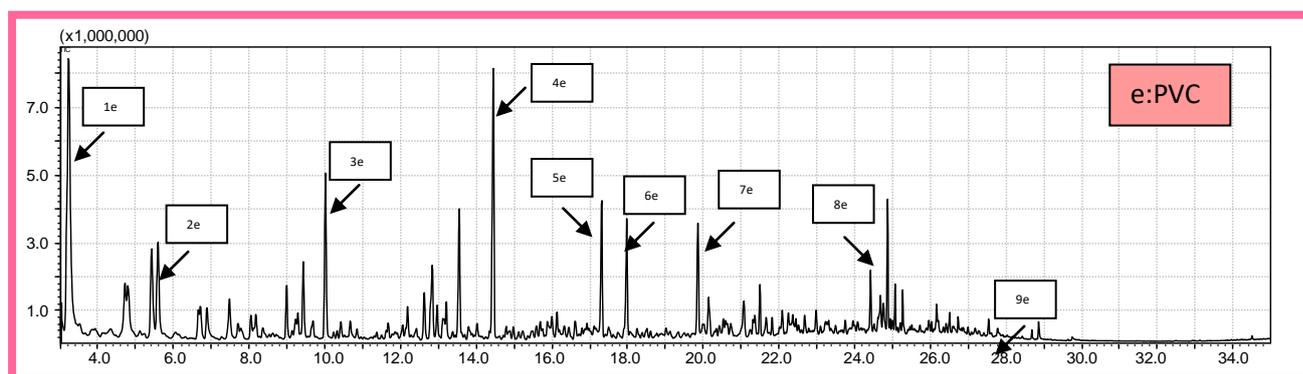


Figura: 22e: pirogrammi in TIC di PVC

Tabella 5e: riassunto prodotti caratteristici di PVC

e	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area
	1e	Toluene	3.22	65+91	4
	2e	Stirene	5.58	78+104	1.1
	3e	Indene	10.0	90+116+132	1.3

PVC	4e	Naftalene	14.44	102+128	2.1
	5e	2-metilnaftalene	17.30	115+142	1
	6e	1-metilnaftalene	17.96	115+142	0.9
	7e	Bifenile	19.84	115+141+154	0.8
	8e	Fluorene	24.40	82+139+166	0.5
	9e	Antracene	27.53	117+152+178	0.1

PA - L'ultimo pirogramma (fig.22f) riporta i prodotti di degradazione del PA. Ad un primo confronto con la letteratura, l'identificazione del tipo di Nylon utilizzato non è stata immediata come nel caso di polimeri precedenti [76]. Poiché vari tipi di Nylon danno prodotti di pirolisi differenti anche in termini di abbondanza, si è deciso di analizzare due microframmenti di Nylon i quali in letteratura riportavano risposte simili a quella in esame: uno standard di Nylon6 e uno di Nylon 66. L'analisi e la figura 23 dimostrano una quasi perfetta sovrapposizione dei due pirogrammi derivanti dal PA studiato (linea fucsia) e quello derivante dallo standard di Nylon6 (linea nera). Di fatti il Nylon 6 si decompone termicamente per scissione a catena omolitica *dell'*N-alchilammide o del legame ammidico. Il prodotto volatile di degradazione predominante risulta essere il β -caprolattame ed è quello individuato come marker nelle analisi successive, ed anche il monomero del polimero. Sono visibili anche altri prodotti come il ciclopentanone e alcuni nitrili a catena corta. Tra le ammidi, successivamente, con programmate più lunghe è stato anche identificato la 5-ciano-N-(pent-4-enil)pentanamide. Per semplicità in questo studio, il polimero commerciale analizzato sarà indicato come PA.

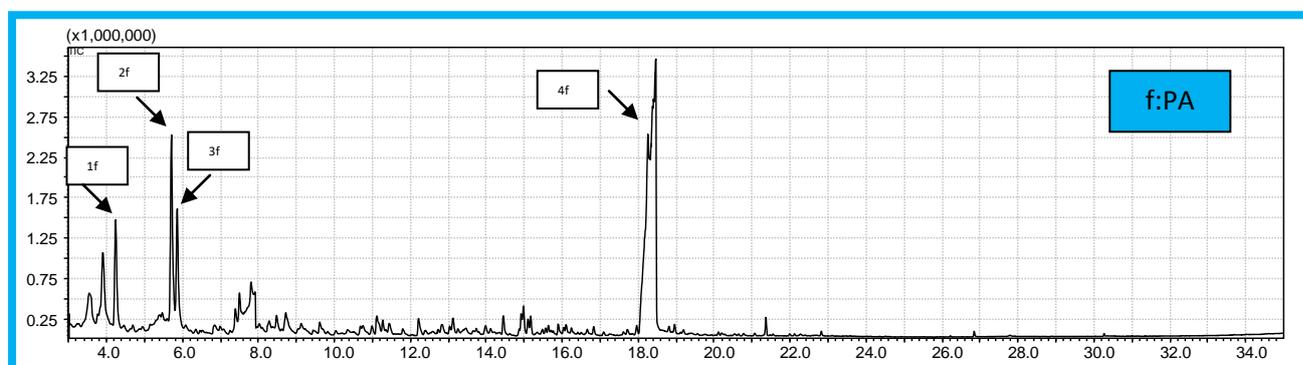


Figura: 22f: pirogrammi in TIC di PA

Tabella 5f: riassunto prodotti caratteristici di PA

f PA6	#	prodotto di decomposizione	RT/min	Ioni target	Area
	1f	Ciclopentanone	4.24	41+55+84	0.1
	2f	5 ciano-1-pentene	5.71	41+55+67+80	<0.1
	3f	esanonitrile	5.86	55+68+82	0.1
	4f	Caprolattame	18.34	55+85+113	1

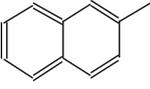
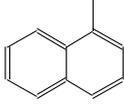
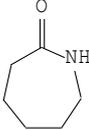


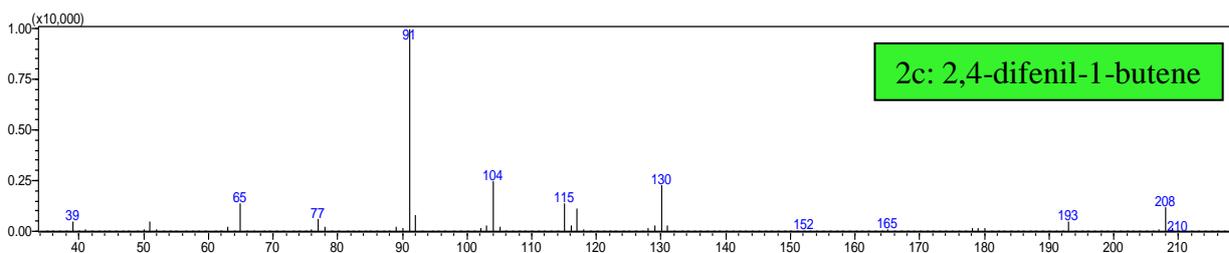
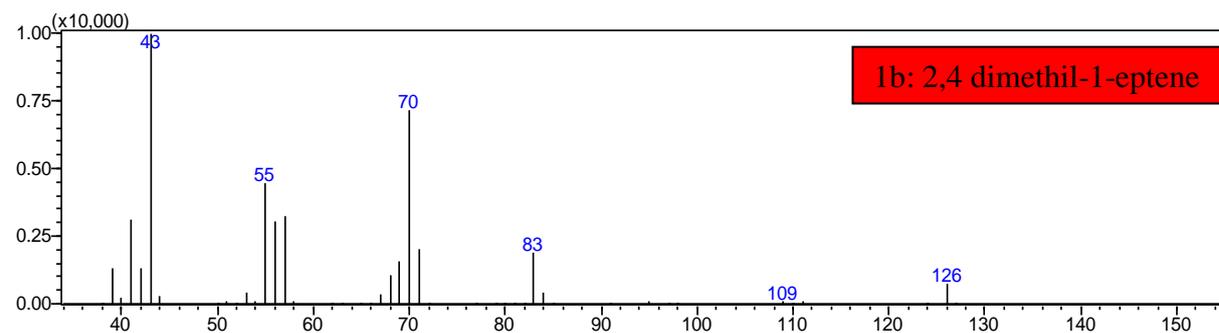
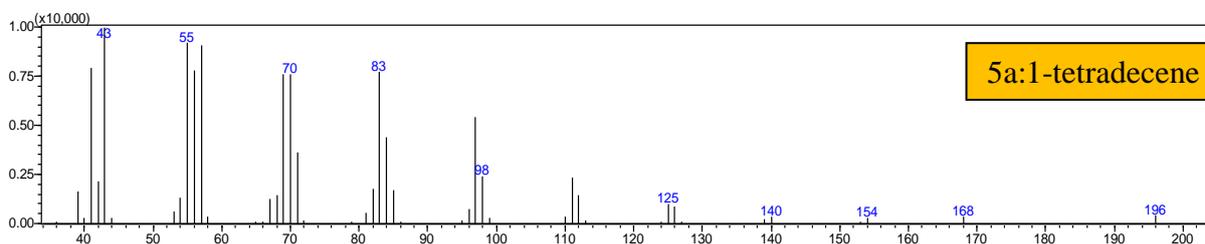
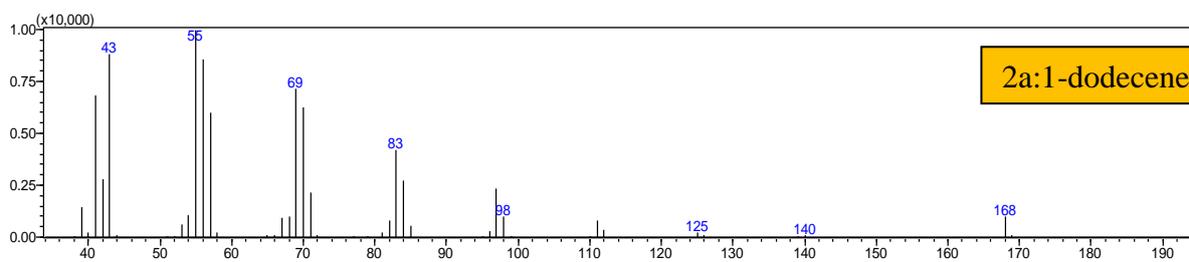
Figura 23: sovrapposizione pirogrammi PA e Nylon6 standard

Dopo questo primo lavoro di screening sono stati selezionati i markers e i loro rispettivi ioni target che consentono una identificazione simultanea dei sei polimeri considerati. La tabella 6 riassume i dati delle molecole selezionate mentre in figura 24 sono riportati gli spettri di massa risultanti.

Tabella 6: prodotti di pirolisi scelti come marker

Polimero	#	Prodotto di pirolisi	formula	m/z	RT min
PE	2a	1-dodecene	<chem>CCCCCCCCC=C</chem>	55+69+83	11.30
	5a	1-tetradecene	<chem>CCCCCCCCC=C</chem>	55+69+83	16.55
PP	1b	2,4 dimetil-1-eptene	<chem>CC(C)CC(C)=C</chem>	43+70+83+126	3.25
PS	2c	2,4-difenil-1-butene (dimero)	<chem>C=C(c1ccccc1)CCc2ccccc2</chem>	104+115+130+208	26.23
PET	3d	Vinil benzoato	<chem>C=COc1ccccc1</chem>	51+77+105	12.59
	5d	Divinil tereftalato	<chem>C=COc1ccc(cc1)C(=O)O=C</chem>	104+132+175	23.49

PVC	5e	2-metil naftalene		115+142	17.30
	6e	1-metil naftalene		115+142	17.96
PA	4f	Caprolattame		55+85+113	18.34



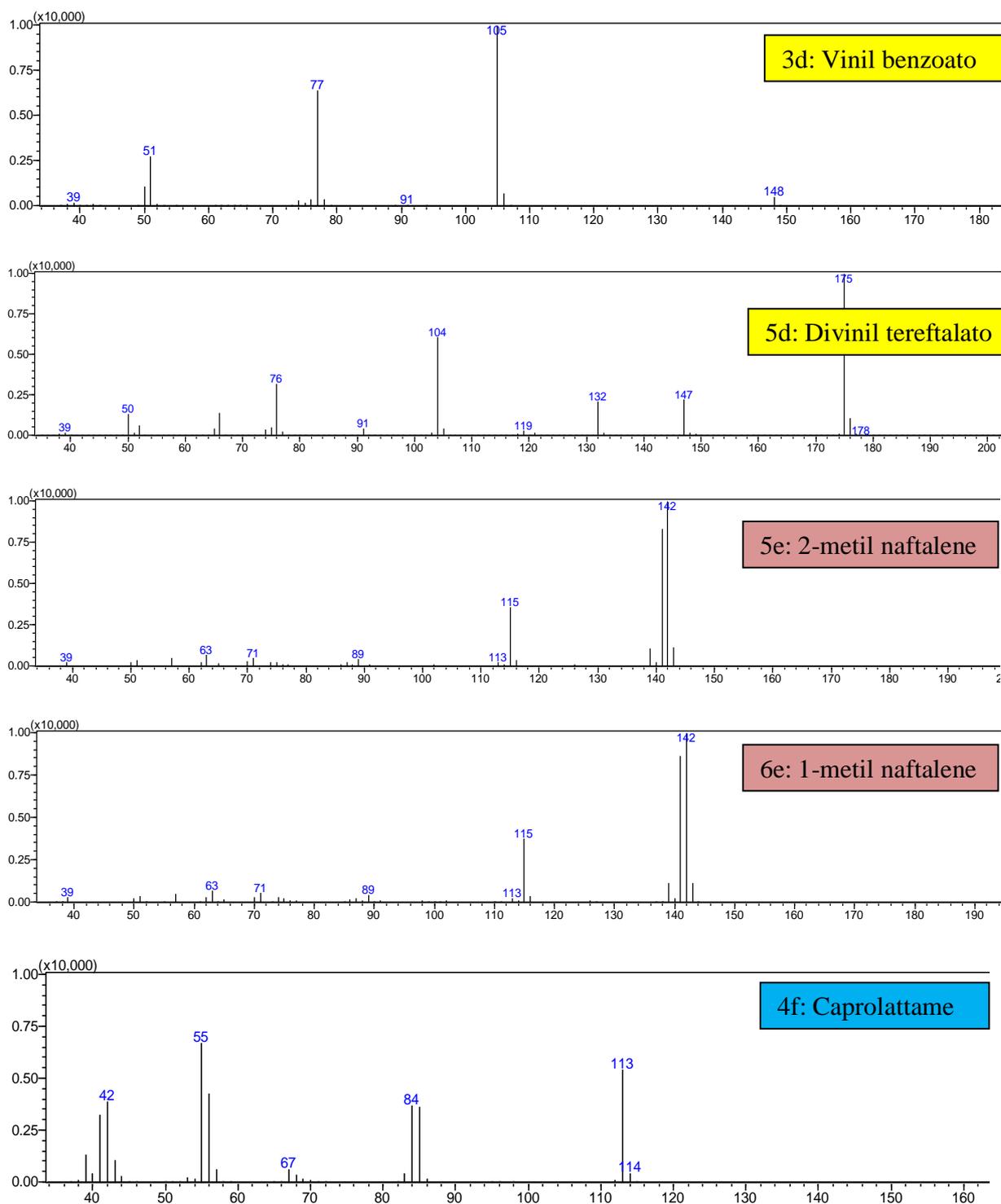


Figura 24: spettri di massa dei prodotti marker

4.1.1 Analisi qualitativa della miscela di polimeri

Dopo questa prima caratterizzazione e confronto con i dati di letteratura dei prodotti di degradazione termica in pirolisi analitica, si è proceduto con l'analisi della miscela polimerica per valutare i fenomeni di interferenza. Nei campioni ambientali infatti non è

mai presente un solo polimero, per cui la presenza di più composti potrebbe comportare la formazione di nuovi prodotti pirolitici derivanti da reazioni competitive. Tale aspetto è di notevole importanza soprattutto quando lo studio diventa di tipo quantitativo poiché si potrebbe tradurre in una variazione quantitativa del segnale pirolitico degli ioni marker.

Si è proceduto analizzando quindi una miscela dei sei polimeri sempre in formato granulare e con masse simili tra loro ed inferiori a 0.1 mg. Il segnale in massa è stato acquisito in modalità TIC con condizioni GC-MS ottimizzate per favorire la separazione cromatografica dei picchi (METODO 2). In dettaglio la modifica ha portato ad una miglior separazione dei picchi dei composti più volatili e una più rapida eluizione dei composti più pesanti.



Figura 25: esempio di pirogramma in TIC della miscela di sei polimeri

Sebbene nel pirogramma (figura 25) della miscela dei polimeri, siano stati identificati tutti i prodotti marker scelti (vedi tabella 6), si evidenzia l'assenza del picco corrispondente all'acido benzoico (4d) derivante dal PET, e un allargamento e forma anomala del picco del caprolattame (4f). Nelle prove effettuate si evidenzia che tali variazioni non si presentano se nella miscela polimerica è assente il PA. Andando quindi a studiare i rapporti tra le aree dei picchi più caratteristici di un singolo polimero posto in miscela e in miscela in assenza di PA è osservabile, (tabella 7), come il polimero PET presenti modifiche sostanziali anche in termini di aree. Anche per il PS si nota una certa variabilità, questo può essere dovuto da una saturazione del picco dello stirene. In ogni caso, anche per il PS, come per i restanti polimeri, si è deciso di non approfondire il suo comportamento poiché si ha già esperienza da studi precedenti sulla sua parte analitica e sulla buona riproducibilità dei suoi marker anche in presenza di altri polimeri. Le aree sono state identificate con

lettura SIM in MS per avere maggiore sensibilità, tra parentesi in tabella è riportato lo ione molecolare utilizzato (rimangono evidenziati in rosso i prodotti scelti come marker).

Tabella 7: confronto del rapporto delle aree in SIM di picchi caratteristici di singoli polimeri analizzati in miscela e in miscela in assenza di PA.

		Mix	Mix (assenza di PA)
PE	$\frac{\text{dodecene (55 m/z)}}{\text{tetradecene (55 m/z)}}$	0.73	0.67
PP	$\frac{2,4\text{dimethyl} - 1 - \text{eptene}(43 \text{ m/z})}{2,4,6,8 - \text{Tetramethyl} - 1 - \text{undecene}(69 \text{ m/z})}$	6.66	6.45
PS	$\frac{2,4 - \text{difetil} - 1 - \text{butene} (208 \text{ m/z})}{\text{stirene} (104 \text{ m/z})}$	0.01	0.02
PET	$\frac{\text{Vinil benzoato (105 m/z)}}{\text{Divinil tereftalato (175 m/z)}}$	2.27	2.26
	$\frac{\text{Vinil benzoato (105 m/z)}}{\text{Acido benzoico (105 m/z)}}$	2.79	0.32
PVC	$\frac{2 - \text{metilnaftalene (142 m/z)}}{1 - \text{metilnaftalene (142 m/z)}}$	1.32	1.25

Prima di approfondire la natura delle interferenze tra PA e PET in miscela, non essendoci dati di letteratura in merito, si è valutato se il problema fosse associato alle condizioni pirolitiche utilizzate effettuando modifiche del processo pirolitico. Infatti il processo di degradazione termica che avviene durante la pirolisi è influenzata da vari fattori tra cui la velocità di riscaldamento e il tempo di contatto tra prodotti generati nella camera di pirolisi. Dunque in questa fase la temperatura di pirolisi è stata aumentata e settata a 1000°C, mantenuta per un tempo superiore pari a 90 secondi (600°C per 60 secondi i valori fino ad ora settati) e si è analizzata nuovamente la miscela mix dei sei polimeri mantenendo invariata la metodica GC/MS. Confrontando il pirogramma ottenuto con quello analizzato in precedenza non si sono evidenziati cambiamenti apprezzabili, motivo per il quale si è scelto di approfondire, a tal punto dello studio, il comportamento pirolitico e quindi le reazioni indesiderate che si verificano in una miscela binaria costituita da PET e PA.

4.1.2 analisi qualitativa miscela PET+PA

Sono stati analizzate, quindi, miscele binarie di PA e di PET in pirolisi online mantenendo invariato il metodo di pirolisi e il metodo analitico in GC-MS (METODO 2). In figura 26a è riportata un'analisi della miscela binaria con quantità dei due polimeri simili e nell'ordine dei 0.1 mg, mentre la figura 26b riporta un pirogramma dei medesimi polimeri in quantità simili nell'ordine dei 50 µg, quantità più rappresentative dal punto di vista delle microplastiche in ambiente.

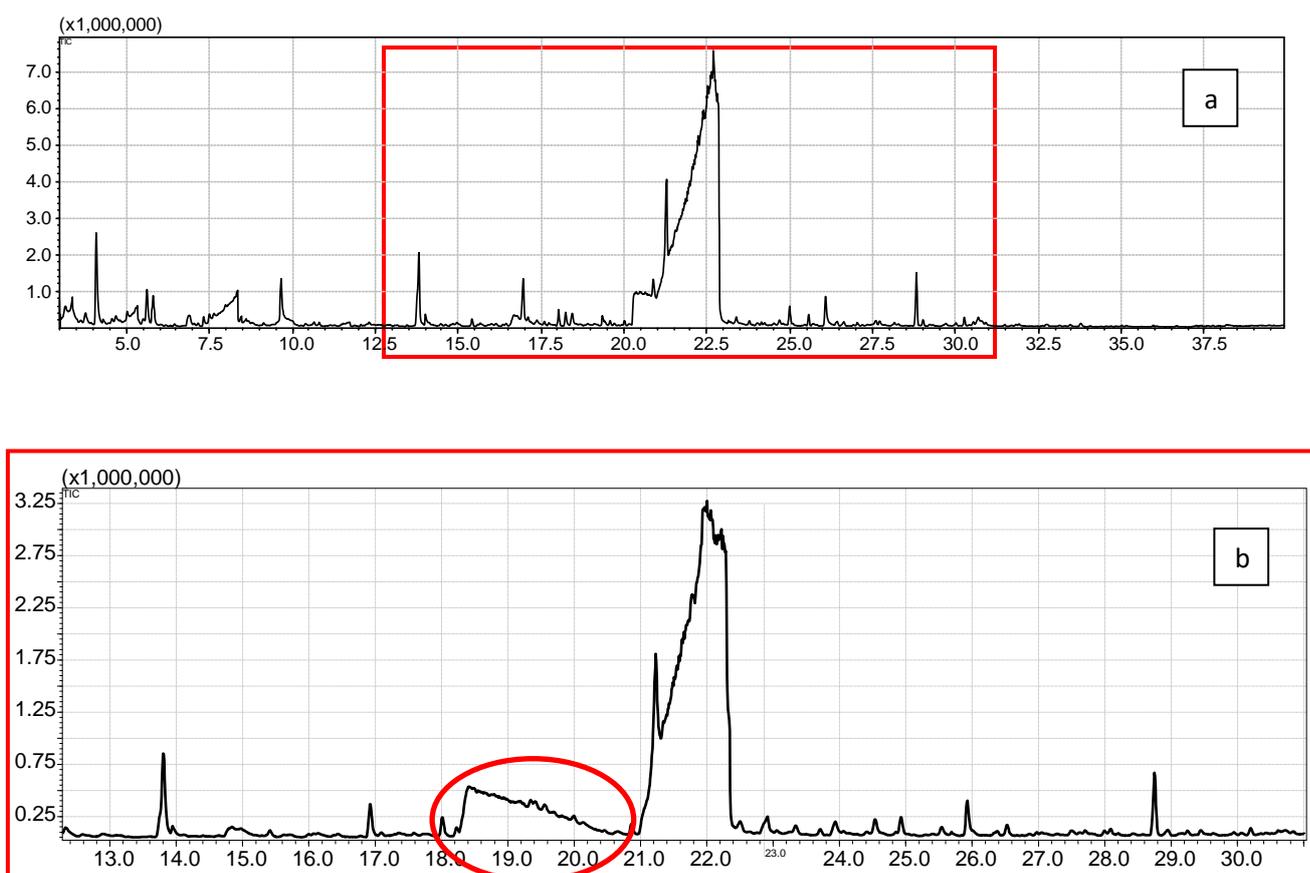


Fig. 26a/b: pirogrammi miscela di PA+PET

Il comportamento pirolitico dei due polimeri PET e PA nel mix analizzato precedentemente (Fig. 25) viene confermato dalla pirolisi nella miscela binaria (figura 26 a e b). Tra i 18 e 21 minuti, prima del picco del caprolattame c'è la presenza di un nuovo picco molto scodato. Confrontando con la libreria in dotazione dello strumento, i frammenti di massa di tale picco fittano per un 98% con quelli dell'acido benzoico, risultato inatteso in quanto tale molecola nell'analisi contenente solo PET ha un tempo di ritenzione di circa 3 minuti inferiore ed essendo rimaste invariate tutte le condizioni di analisi risulta anomala tale variazione. Inoltre risulta essere pure diversa la forma del

picco, con scodatura invertita. Questa eluizione ritardata dell'acido benzoico non ha trovato ancora delle spiegazioni supportate sperimentalmente. Per studiare più nel dettaglio tale interferenza è stato analizzato, utilizzando la stessa metodica, una piccola aliquota di acido benzoico puro e confrontando il pirogramma ottenuto con quello del singolo PET si è concluso confermando che il picco 4d è acido benzoico. La seconda analisi è stata effettuata aggiungendo nello stesso tubo di quarzo, un frammento di PA e una piccola aliquota di acido benzoico puro. Il risultato mostra una similitudine con il pirogramma della miscela binaria PET+PA, ovvero il picco di acido benzoico risulta eluire con lo stesso ritardo atteso. Tale risultato conferma l'interferenza appurata tra i due polimeri, ovvero che il prodotto acido benzoico derivante dal PET abbia una interazione chimica con un prodotto pirolitico del PA. In merito a quale prodotto pirolitico possa interagire rimane il dubbio se, ammine, nitrili o la stessa ammoniaca anche se prodotta in quantità nettamente inferiori [77] potrebbero essere responsabili di una reazione acido-base. Sovrapponendo il pirogramma della miscela binaria con quelli dei singoli polimeri, ad eccezione del acido benzoico (picco n4f), i maggior prodotti pirolitici individuati tutti in tabella 5d/f, sono stati identificati. Rimane comunque incerta la loro non reattività, studiabile solo in termini di quantità, la quale verrà approfondita nella sezione successiva. Infatti nella figura 27, la quale mostra sovrapposti i tre pirogrammi, dove in fucsia è riportato il PET, in blu il PA e in nero la miscela dei due, si nota una area dei picchi caratteristici molto diversa tra loro.

Da questo primo studio, a causa dell'interazione tra PA e PET, l'acido benzoico deve essere escluso tra i marker possibili per la quantificazione del PET, rimane da valutare la stabilità degli altri marker scelti, argomento principale della seconda parte della ricerca.

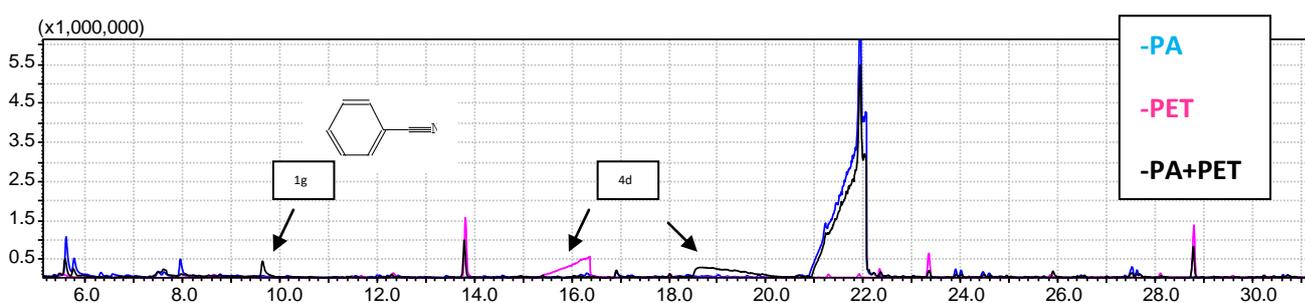


Figura 27: pirogrammi sovrapposti di PA, PET, PA+PET

I pirogrammi mostrano, inoltre, come alcuni picchi evidenti in colore nero non siano riconducibili a nessun prodotto pirolitico già studiato. Tra i nuovi prodotti che si formano

dalla pirolisi in miscela vi è il benzonitrile (NIST 98% di corrispondenza) con tempo di ritenzione di 9.70 min indicato con il numero 1g. La reazione interessata potrebbe prevedere una stadio intermedio di formazione di benzoammidi con una successiva disidratazione. Sono visibili dal confronto dei pirogrammi altri nuovi composti pirolitici, tuttavia molto meno rilevanti del precedente e non facili da identificare.

4.2 ANALISI QUANTITATIVA: PE, PP, PS, PET, PVC, PA

La procedura di calibrazione ha lo scopo di valutare la potenzialità della tecnica analitica di pirolisi di ottenere informazioni sulla quantità (massa) di uno specifico polimero presente in un campione.

Il protocollo di calibrazione consiste nella preparazione di campioni contenenti quantità variabili di polimero con l'aggiunta di una stessa quantità di standard interno (TTB). Il modello di calibrazione lineare è stato ottenuto con il modello dei minimi quadrati. Le rette di calibrazione sono state costruite per ogni polimero, preparazione del campione e metodiche di analisi PY-GCMS rimangono le medesime utilizzate nella sezione qualitativa (METODO 2). Le analisi in MS sono state eseguite in full scan ma le aree dei picchi su cui sono state costruite le rette sono state determinate su ioni selezionati per ogni marker, per avere una maggior risoluzione ed efficienza. Nel caso di polimeri con più di un marker individuato, le rette sono state costruite su entrambi, eccezione per il polimero PET che viene aggiunta anche la calibrazione sul acido benzoico per studiare in maniera più dettagliata il comportamento pirolitico in miscela. Le quantità analizzate per ciascun polimero sono riportate in tabella 8, pesate mediante microbilancia, inserite in tubi di quarzo e addizionate di 1 μ L di soluzione di standard interno con una microsiringa da 10 μ L, TTB 1000 mg/L. Il range di peso selezionato è tra 20 e i 150 μ g circa. Il valore massimo è stato scelto sulla base delle quantità di polimeri estraibili da matrici ambientali mentre il limite inferiore dai problemi tecnici associati al trasferimento della particella polimerica durante la pesata e preparazione del campione e non è stato determinato dal LOD o LOQ del sistema Py-GCMS. In tabella 8 sono riassunte inoltre le equazioni delle rette e i relativi coefficienti di correlazione, graficate in figura 28 a/b/c/d/e/f/g/h/i/j.

Tabella 8: dati calibrazione polimeri PE, PP, PS, PET, PVC e PA

	Quantità (µg)					Prodotto target	Ioni per integrazione	Equazione retta	R ²
PE	15	45	/	82	110	1-dodecene	55	$y = 9021.1x - 152856$	R ² =0.95557
						1-tetradecene	55	$y = 11357x - 220686$	R ² = 0.9632
PP	25	/	54	89	121	2,4 dimethyl-1-eptene	43	$y = 329022x - 3E+06$	R ² =0.9737
PS	22	46	/	97	151	2,4-difenil-1-butene (dimero)	208	$y = 20552x - 301250$	R ² =0.9896
PET	20	36	57	74	109	acido benzoico	105	$y = 109580x + 392162$	R ² = 0.9888
						vinil benzoato	105	$y = 264111x + 902981$	R ² = 0.9863
						divinil tereftalato	175	$y = 63308x - 83321$	R ² = 0.9916
PVC	24	36	67	/	111	2-metil naftalene	142	$y = 4924.3x - 55936$	R ² = 0.9755
						1-metil naftalene	142	$y = 4012.7x - 38606$	R ² = 0.9829
PA	22	41	59	84	109	caprolattame	113	$y = 316442x + 549212$	R ² = 0.9962

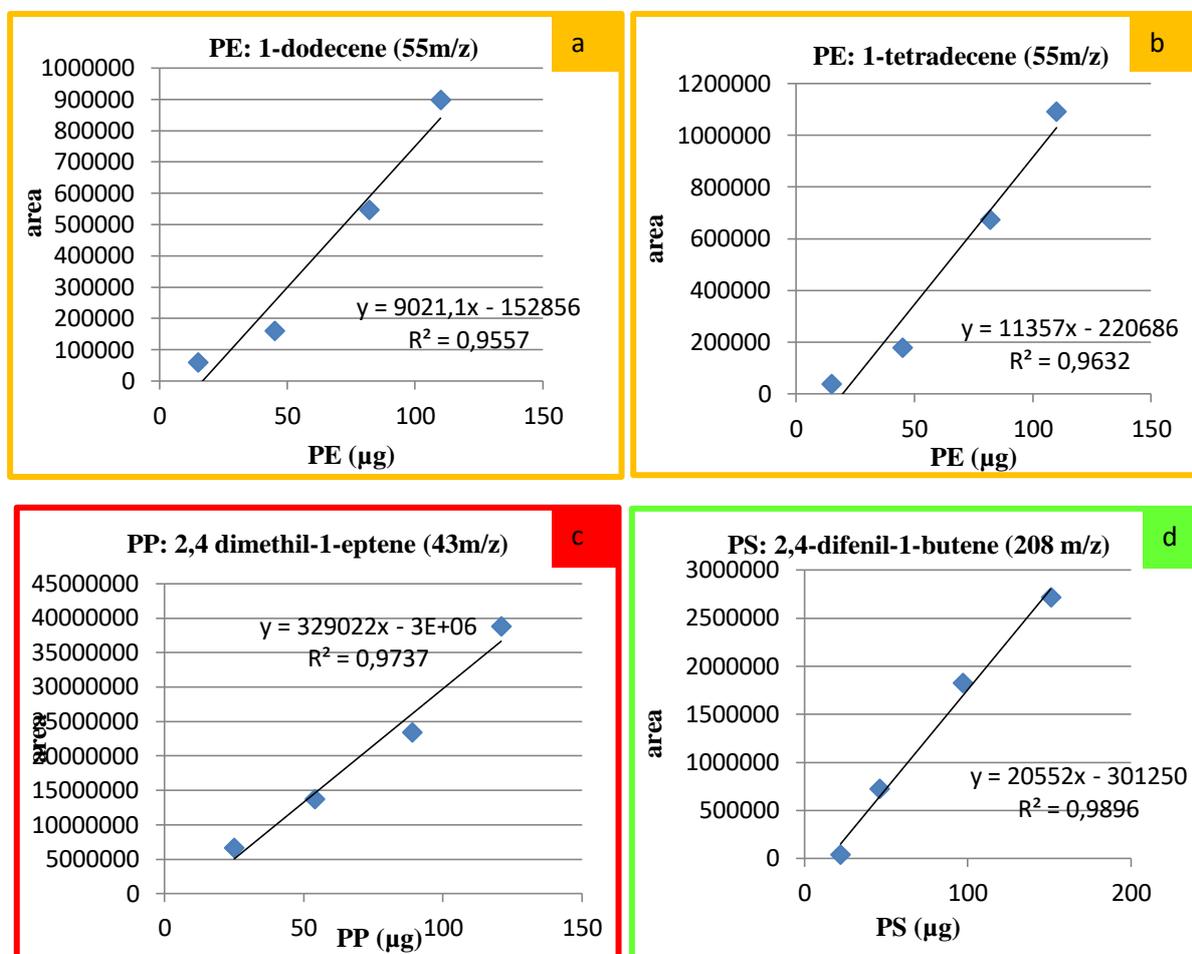


Figura 28 a/b/c/d: rette calibrazione di PE, PP, PS

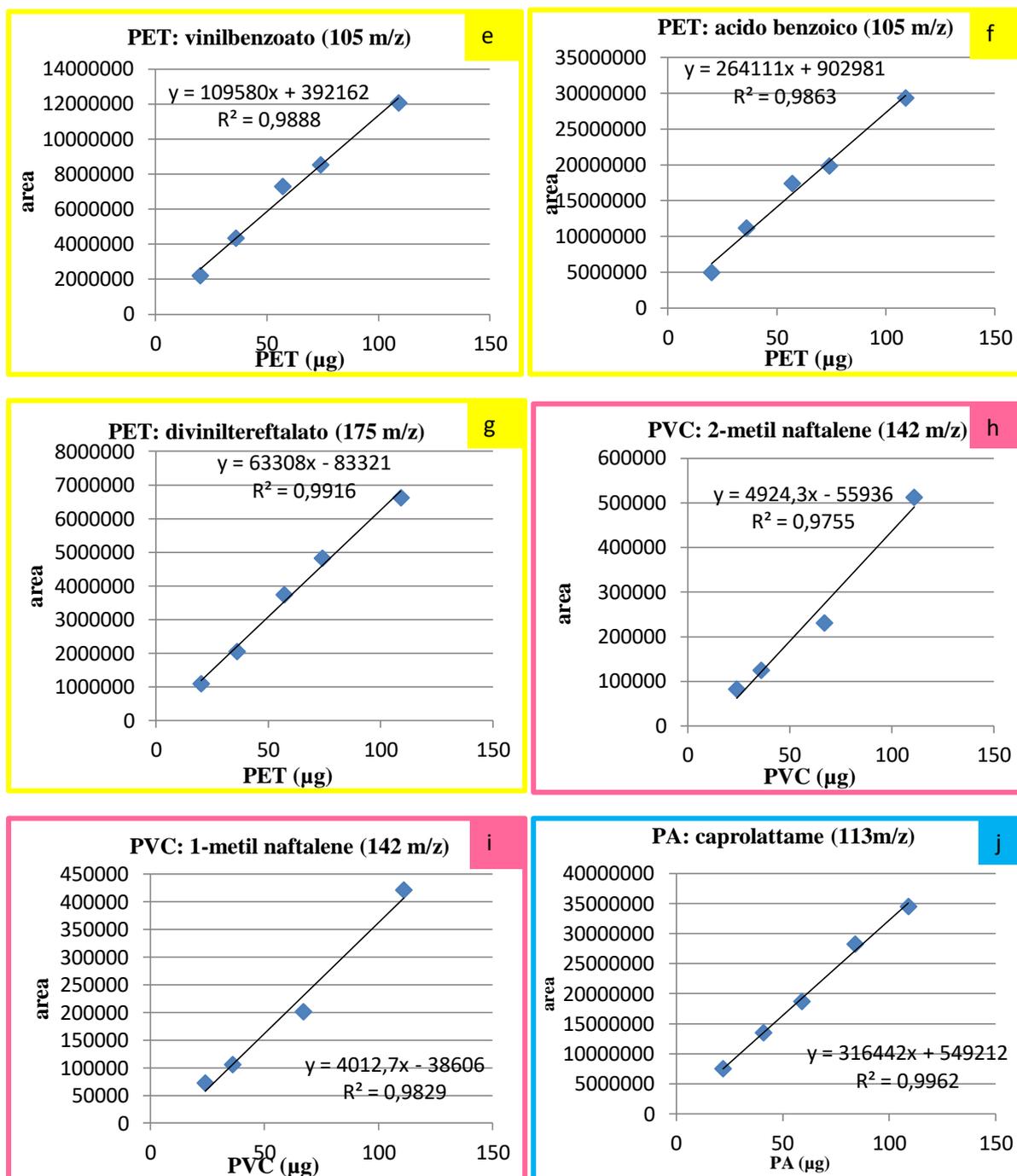


Figura 28 e/f/g/h/i/j: rette calibrazione di PET,PVC, PA

Non è stata riportata la calibrazione con standard interno poiché si è presentata una buona linearità anche in assenza di esso. Per tutti i polimeri i risultati ottenuti mostrano un andamento lineare di risposta rispetto alle quantità analizzate, quindi tale tecnica risulterebbe idonea ad una determinazione quantitativa. Tutte le rette mostrano un valore di R^2 soddisfacente, tali valori infatti risultano comparabili con i coefficienti presenti in letteratura (R^2 tra 0.94 e 0.99) [53], [54], [65]. Tuttavia quando si va a valori molto bassi nelle quantità di campioni si notano deviazioni dalla curva (esempio per il PE). Non tutte le

curve, infatti, presentano intercetta all'origine, questo perché la strumentazione py-GCMS in adozione dimostra una scarsa risposta di segnale per basse concentrazioni, ovvero sembrano esserci delle perdite di sistema. Tuttavia, la variabilità ottenuta oltre ad essere associata alla tecnica analitica di pirolisi in sé, può derivare dagli errori che possono esserci nella preparazione del campione. Infatti le perdite di campione in fase di trasferimento dalla pesata al tubo di quarzo, dovute anche ad effetti elettrostatici, possono essere non trascurabili soprattutto nei punti inferiori della curva, ulteriore motivo per il quale i punti più bassi possono risultare discostati dalla linearità.

4.2.1 Analisi quantitativa miscela PET+PA

Dimostrato che il sistema ha una buona linearità di risposta per tutti i sei polimeri singolarmente, il lavoro si è spostato sulla quantificazione di polimeri in miscela. In particolare è stato approfondito lo studio delle interferenze precedentemente evidenziate tra PET e PA per valutare l'influenza sul risultato quantitativo. Sono state preparate miscele con quantità note dei due polimeri, entrambi con valori compresi entro il range della retta di calibrazione mentre le condizioni di analisi PY-GCMS seguite risultano le medesime; è stato omesso in questa fase l'inserimento dello standard interno perché osservata una buona linearità già in fase di calibrazione anche in sua assenza. In tabella 9 sono riassunte le pesate degli otto campioni e le quantità determinate analiticamente, tra parentesi le differenze percentuale tra valore atteso e valore determinato sulla base delle curve di calibrazione ottenute dai diversi marker.

Tabella 9: massa pesata dei polimeri in miscela e massa estrapolata dalla calibrazione

#	Massa campione PA (µg)	Massa PA rilevata (retta caprolattame) (µg)	Massa campione PET (µg)	Massa PET rilevata (retta vinilbenzoato) (µg)	Massa PET rilevata (retta acido benzoico) (µg)	Massa PET rilevata (retta divinil tereftalato) (µg)
1	59	60 (+2%)	25	19 (-24%)	26 (+4%)	21 (-16%)
2	64	77 (+20%)	36	24 (-33%)	35 (-3%)	25 (-31%)
3	59	79 (+34%)	64	27 (-58%)	76 (+19%)	21 (-67%)
4	55	68 (+24%)	84	70 (-17%)	86 (+2%)	71 (-15%)
5	56	73 (+30%)	103	83 (-19%)	111 (+8%)	91 (-12%)

#	Massa campione PA (μg)	Massa PA rilevata (retta caprolattame) (μg)	Massa campione PET (μg)	Massa PET rilevata (retta vinilbenzoato) (μg)	Massa PET rilevata (retta acido benzoico) (μg)	Massa PET rilevata (retta divinil tereftalato) (μg)
6	56	78(+39%)	64	16(-75%)	48(-25%)	20(-69%)
7	39	41(+5%)	24	13(-46%)	15(-38%)	15(-38%)
8	92	120(+30%)	96	70(-27%)	104(+8%)	77(-20%)

Tra una analisi e quella successiva è stato sempre fatto un bianco procedurale e verificato che il sistema non presentasse tracce di composti derivanti dalle analisi precedenti (effetto memoria). Il segnale dei marker nei bianchi è risultato sempre inferiore allo 0.5% in termini di aree, quindi trascurato nei calcoli effettuati.

È evidente come nella quantificazione del PET si riscontri una maggior divergenza tra la quantità reale del polimero e quella calcolata. Per entrambi i marker scelti (vinilbenzoato e diviniltereftalato) si verifica una diminuzione del segnale da quello atteso di circa la stessa percentuale. Le prove numero 3 e 6 presentano i valori di scostamento più alti, con una sottostima da un 58 a un 75% in meno per entrambi i marker. Per questi campioni si potrebbe ipotizzare un errore di pesata oltre alle deviazioni di risposta dovute alla presenza del PA. Valutando il segnale del caprolattame, invece, la quantificazione del PA è sempre sovrastimata. Sono solo due i valori che superano un 30% in più dall'atteso e trattandosi nuovamente della prova numero 3 e 6, si conferma il possibile errore nella preparazione degli stessi.

Per valutare in modo migliore come variano i risultati in funzione del rapporto dei due polimeri, si è graficato il discostamento percentuale dal peso atteso (asse y) con il rapporto in peso della miscela dei due polimeri (asse x). I grafici sono riportati in figura 29 a/b/c.

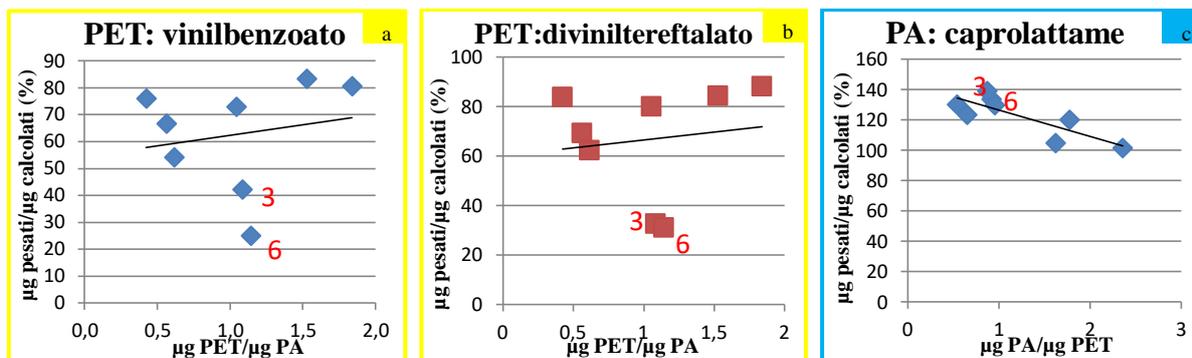


Figura 29 a/b/c: andamento percentuali μg pesati/ μg calcolati nelle miscele PET+PA

Dai grafici è possibile confermare visivamente come le prove 3 e 6 portino valori nettamente al di fuori dal trend risultante. I grafici mostrano che all'aumentare del rapporto in massa di PET su PA, ovvero tanto più la miscela contenga PET e poco PA, i valori abbiano un andamento crescente che tende ad avvicinarsi al 100%. Andamento opposto che si presenta quando si studia il marker caprolattame e quindi si vada a graficare lo scostamento dal peso atteso con il rapporto in massa tra PA e PET. Si evince che tale tecnica risulta non essere accurata nella determinazione quantitativa di polimeri quali PET e PA, presentando, per la maggioranza, valori di divergenza dal valore teorico superiori di un 20% [74], [78]. Si conclude che i due marker scelti per il PET subiscono reazioni secondarie per cui il segnale cala, ed una di queste possibili reazioni può essere associata alla formazione di benzonitrile, prodotto secondario individuato in precedenza in miscele PA e PET, in aggiunta ad altri prodotti pirolitici secondari non facilmente identificabili. In maniera opposta, i prodotti pirolitici del PET, sembrano promuovere la formazione di caprolattame, causandone un aumento del segnale, tuttavia con una deviazione molto più contenuta del PET.

Se l'attenzione passa al picco dell'acido benzoico, escluso in precedenza da uno dei possibili marker del poliestere in esame, è evidente come presenti divergenze minori dalla quantità realmente analizzata, per quasi la totalità delle prove all'interno dell'errore sperimentale, quindi una maggior riproducibilità.

L'attenzione del presente studio si sposta principalmente verso il singolo polimero PET con l'obiettivo principe di minimizzare le interferenze che hanno manifestato i marker scelti o individuarne dei nuovi più stabili. Poiché da questa prima analisi l'acido benzoico ha dimostrato avere risposte quantitative più attendibili, una ulteriore strada potrebbe essere

quella di migliorare la sua eluizione sia in termini di forma di picco, ora molto scodato e quindi di non semplice integrazione, sia in termini di interferenza (diverso tempo di eluizione), già osservata precedentemente.

4.3 STUDIO DELLE INTERFERENZE: confronto colonne cromatografiche con pirolisi off-line di PET, PA e miscela binaria

Questa parte dello studio ha l'obiettivo di migliorare le prestazioni GC, in particolare nella eluizione dei composti di pirolisi del PET, PA e della miscela binaria, confrontando la diversa efficienza gas cromatografica con due differenti fasi stazionarie: polare (colonna Agilent DB-FFAP) e apolare (colonna Agilent HP-5MS). I campioni sono stati sottoposti a pirolisi off-line, diversamente da quanto eseguito fino ad ora, poiché questo permetteva di raccogliere i prodotti di pirolisi tramite cartucce adsorbenti, eluirli in diclorometano e analizzarli successivamente in entrambi i sistemi cromatografici. Con la pirolisi off-line inoltre, è possibile analizzare quantità di campioni di un ordine superiore rispetto quanto prevede la tecnica online, rendendo meno complessa la fase di pesata e di preparazione del campione, dato che in questo caso si è lavorato con campioni di circa 1 mg. Nelle tre analisi effettuate la quantità di campione inserita nel sistema pirolitico si è mantenuta costante in tutte le prove. I metodi di analisi Py-GC/MS sono riportati in [materiali e metodi](#) e riassunti in tabella 10: essi differiscono per il tipo di fase stazionaria utilizzata. L'estrazione della cartuccia è stata eseguita tramite estrazione diretta con solvente (diclorometano) come descritto nella sezione [materiale e metodi](#).

In generale la pirolisi off-line dei polimeri PA e PET presenta gli stessi prodotti di degradazione osservati con la tecnica online, risultato che ci conferma l'indipendenza dal tipo di assetto del pirolizzatore nella formazione dei prodotti di pirolisi. L'uso della colonna polare, principalmente per il polimero PET, risulta essere migliore data la forma più gaussiana e meno scodata dei picchi di composti polari. L'acido benzoico però continua a presentare una grande codatura.

L'analisi dei prodotti di pirolisi della miscela binaria in colonna apolare ripropone problematiche identiche riscontrate in pirolisi on-line e utilizzo di una fase stazionaria con

polarità intermedia, ovvero un evidente ritardo di eluizione dell'acido benzoico. Diversamente, il pirogramma derivante dall'analisi con colonna polare non presenta questa anomalia nell'eluizione dell'acido benzoico come osservabile in figura 30. Sovrapponendo, il pirogramma derivato della miscela, linea blu e del singolo polimero PET, linea nera, si osserva un medesimo tempo di ritenzione dell'acido benzoico e stessa scodatura, confermato dalla somiglianza di spettri di massa del picco nei due pirogrammi (figura 31). Inoltre, diversamente da quanto osservato in py-online con colonna semipolare o in py-offline con colonna apolare, l'ordine di eluizione che presentano acido e caprolattame è invertita, l'acido benzoico ha un tempo di ritenzione maggiore.

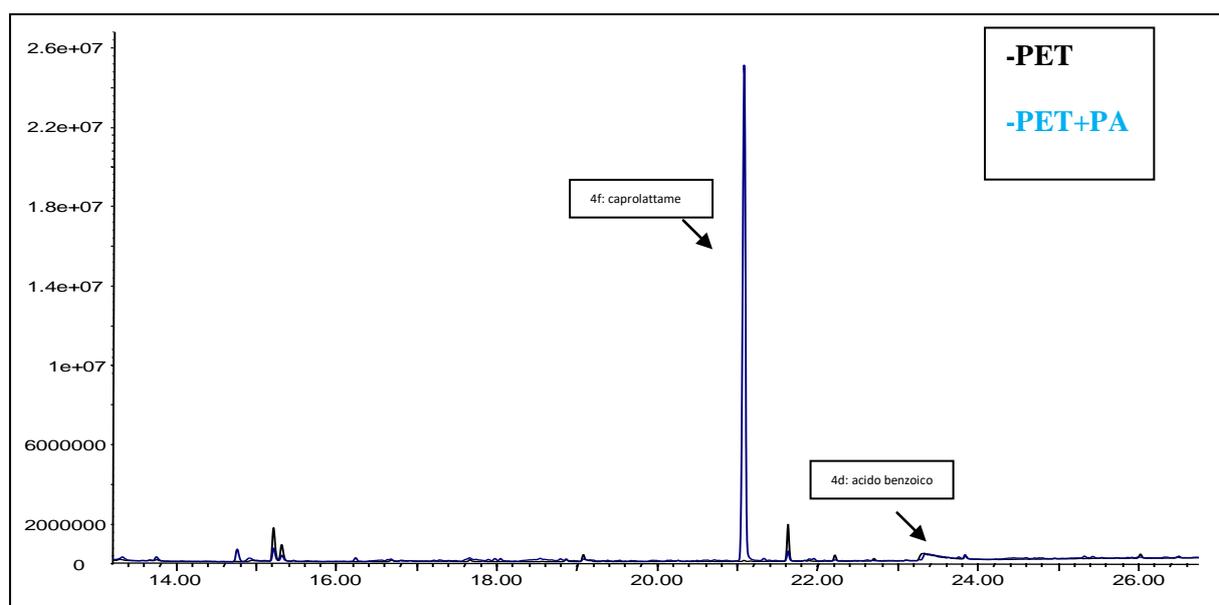


Figura 30: sovrapposizione pirogramma PET e miscela PET+PA colonna polare

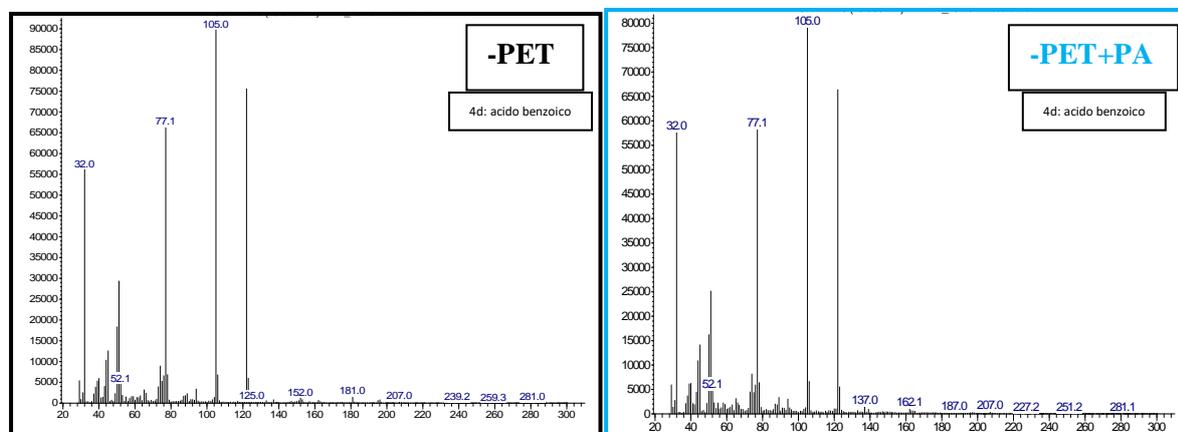


Figura 31: spettro di massa dell'acido benzoico derivante da pirogramma PET e da miscela PET+PA

Anche in pirolisi off-line si conferma tra le reazioni secondarie già osservate nel mix di PET/PA, la formazione di benzonitrile. Altri composti riscontrabili nella sola miscela sono associabili a benzene dicarbo nitrile $t=21.94$ min, al tempo 16.24 min il 4-metil benzonitrile entrambi con struttura base il benzonitrile (colonna polare figura 30).

Queste reazioni secondarie hanno spinto a non procedere con una analisi quantitativa articolata come eseguita in pirolisi online. Inoltre i risultati ottenuti, come mostrato in figura 30, indicano che il quantitativo di marker estratto è piuttosto basso ad esclusione del caprolattame. La causa va ricercata nel passaggio intermedio di estrazione con solvente della fase adsorbente. Non avendo come obiettivo la messa a punto della tecnica offline, si è deciso di non procedere ad ulteriori approfondimenti.

Per quanto riguarda l'ottimizzazione della separazione cromatografica, l'utilizzo di una fase stazionaria più polare elimina il comportamento anomalo nella eluizione dell'acido benzoico a seguito della pirolisi della miscela binaria, tuttavia l'integrazione del picco di questo marker risulta poco riproducibile a causa della forte asimmetria.

4.4 METILAZIONE: pirolisi online PET+PA con aggiunta di TMAH

Al fine di migliorare l'eluizione gascromatografica e ridurre le interferenze si è utilizzato un reagente metilante in fase di pirolisi quale il, tetrametilammonio idrossido (TMAH - 25% in H_2O) aggiunto ai campioni prima della pirolisi ([sezione materiale e metodi](#)). L'ambiente alcalino prodotto da TMAH svolge il ruolo di facilitare la scissione a catena di polimeri di condensazione come il PET e la metilazione dei prodotti di degradazione termica. La configurazione adottata in questa sezione è di pirolisi on-line, la fase stazionaria del gas cromatografo rimane la medesima utilizzata in precedenza, di media polarità. Le condizioni analitiche rimangono anche esse le medesime e vengono riportate in tabella 3 (METODO 2), dello stesso ordine di grandezza inoltre rimangono le quantità di polimero analizzate di circa 0.1 mg. Il comportamento pirolitico derivante è effettivamente cambiato per entrambi i polimeri (PA e PET), concorde con quanto riporta la letteratura [54], [61], [62], [79]. La metilazione pirolitica di PE, PP, PS, PVC è omessa in tale ricerca, tuttavia studi dimostrano che i loro meccanismi di

pirolisi non sono alterati dalla presenza di TMAH. I pirogrammi riportati in figura 32 a/b riguardano PET e PA in presenza di TMAH.

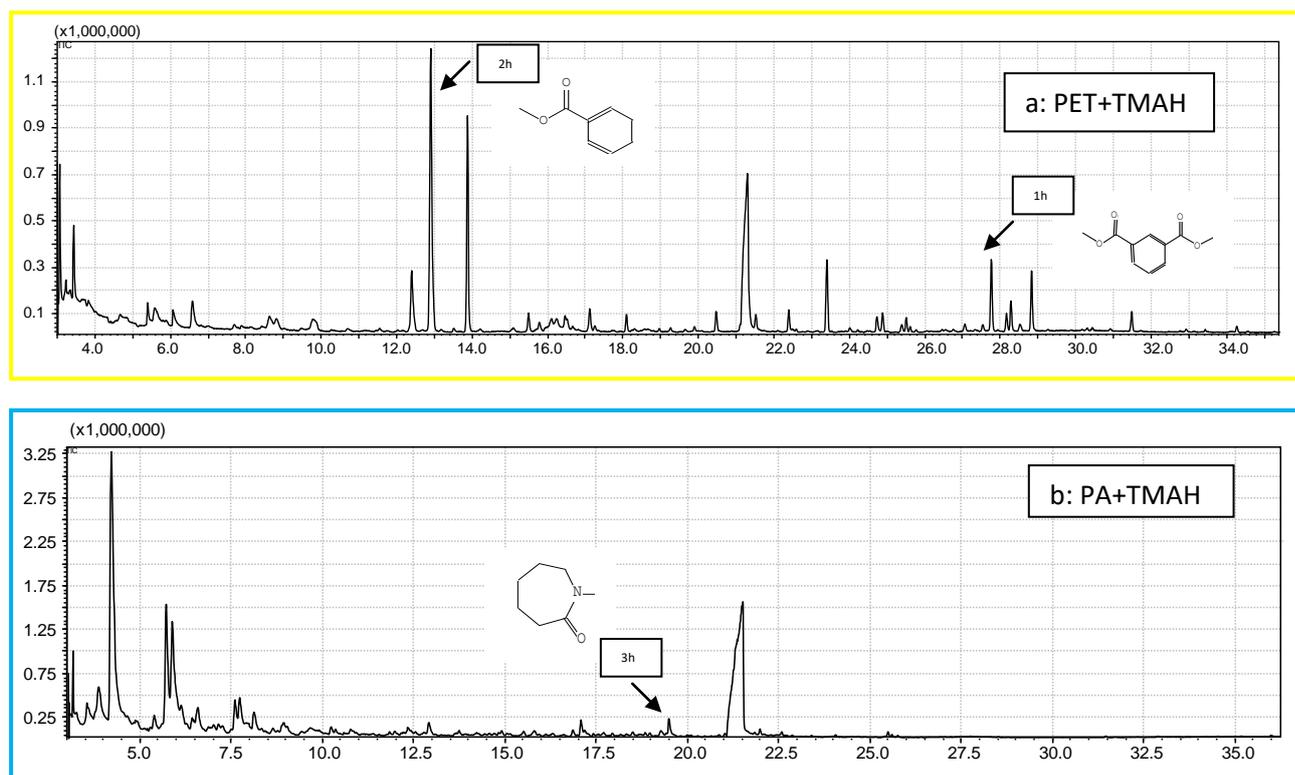


Fig.32 a/b:a) pirogramma PET+ TMAH; b) pirogramma PA+TMAH

Nella risposta del PET (fig 32a) vi è la presenza di nuovi prodotti formatosi per esterificazione o trans esterificazione dei prodotti derivanti la pirolisi non assistita del PET quali l'estere metilico dell'acido benzoico con un tempo di ritenzione di 12.92 min (picco n.2h), e l'estere dimetilico dell'acido tereftalico ovvero il dimetiltereftalato, picco n.1h con tempo di ritenzione 27.76 min. (evidenziati con frecce). Entrambi presentano una buona eluizione con picchi quindi molto meno scodati dei rispettivi acidi. Questo risultato positivo è però fortemente limitato dall'incompleta metilazione dell'acido benzoico che è possibile rilevare nel pirogramma. Inoltre altri prodotti già individuati in pirolisi online non assistita quali benzaldeide, acetofenone, vinil benzoato, acido benzoico, diviniltereftalato (tabella 5d) si ripresentano ad eccezione dei picchi del 4 - (vinilossi) carbonil benzoico acido e 1,2-Etanediol di benzoato. Nella risposta del PA (fig. 32b), invece, è presente un solo nuovo prodotto dato dalla

metilazione parziale del caprolattame, picco n.3h con tempo di ritenzione pari a 19.49; tale picco risulta essere di intensità molto minore rispetto al caprolattame.

La pirolisi assistita con metilazione è stata applicata anche in miscela binaria PET+PA. Sono state eseguite tre repliche, una delle quali è riportata in figura 33.

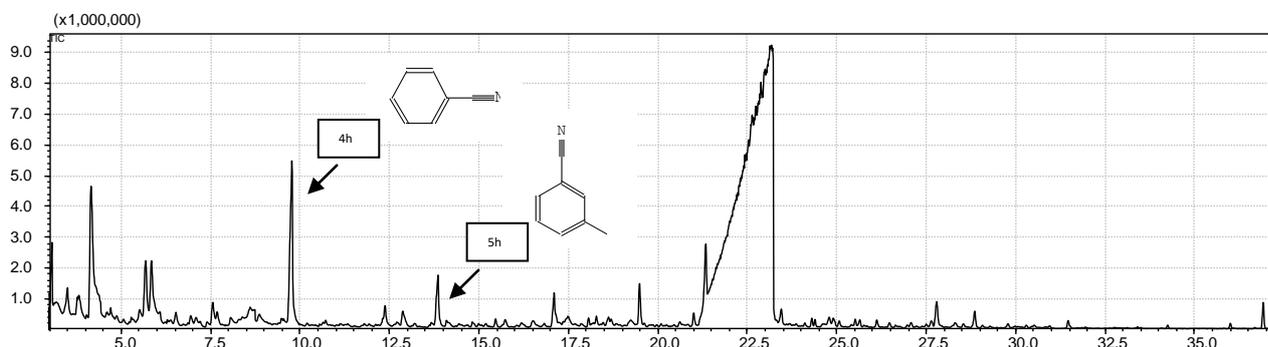


Figura 33: pirogramma miscela PET+PA+TMAH.

Le analisi presentano i medesimi picchi osservati nelle analisi dei singoli polimeri appena discussi (fig 32a/b). Inoltre è possibile riconoscere due nuove molecole, i cui picchi hanno un tempo di ritenzione pari a 9.75 min e 13.81 min (picco n.4h e 5h). Il secondo di essi risulta essere sovrapposto al picco caratteristico del PET quale il vinilbenzoato. I prodotti di pirolisi secondari individuati sono stati identificati (NIST 95% di corrispondenza) come benzonitrile per il primo (n.4f) e benzonitrile metilato (3-metil benzonitrile) (n.5f) per il secondo. Questo risultato non è del tutto inatteso e porta a riaffermare l'interazione presente tra i due polimeri PET e PA. Tuttavia la metilazione potrebbe suggerire nuovi marker per il PET come l'acido benzoico metilato o il dimetiltereftalato, usato già in qualche studio di letteratura [54], entrambi i picchi sono ben risolti e adatti ad una corretta integrazione.

4.4.1 analisi quantitativa PET, PA e miscele PET+PA con metilazione

Dopo le prove di metilazione e i buoni risultati ottenuti si è deciso di provare ad analizzare PET e PA in metilazione e verificare quantitativamente se si riscontravano ancora le medesime interazioni.

A differenza delle prove precedenti si è utilizzata una colonna apolare Rtx-5MS per allineare la procedura analitica a quanto riportato in letteratura. Le condizioni

analitiche adottate, anche se con fase stazionaria variata, risultano però le medesime (METODO2).

Dopo la verifica qualitativa dell'eluizione di prodotti di pirolisi con la nuova colonna sono state costruite le curve di calibrazione per PET e PA con i nuovi marker scelti: metil benzoato e dimetil tereftalato per il PET e N-metil caprolattame per il PA.

Per acido benzoico e caprolattame purtroppo si tratta di una metilazione non completa, anche dopo aver raddoppiato la quantità di metilante. Infatti, come conferma la letteratura, la quantità inserita di TMAH risulta essere già in eccesso rispetto alle esigue quantità di polimero analizzato. Sono riportati in tabella 10 le sei quantità analizzate di PET e PA, gli ioni selezionati su cui è stata eseguita l'integrazione, equazioni delle rette derivanti e i relativi indici di correlazione. In figura 34 a/b/c/d/e/f/g sono graficati i risultati della calibrazione.

Tabella 10 : dati calibrazione polimeri PET e PA con aggiunta di TMAH

	Quantità (µg)						Prodotto target	Ioni per integrazione	Equazione retta	R ²
PET	22	34	46	59	75	111	Metil benzoato	105	$y = 53881x - 1E+06$	R ² = 0.9481
							Acido benzoico	105	$y = 98209x - 2E+06$	R ² = 0.9786
							Metil benzoato + acido benzoico	105	$y = 63308x - 83321$	R ² = 0.9639
							Dimetil tereftalato	163	/	/
PA	21	35	51	66	81	101	N-metil caprolattame	127	/	/
							Caprolattame	113	$y = 394214x + 1E+06$	R ² = 0.9766
							N-metil caprolattame + caprolattame	127 + 113	$y = 395296x + 2E+06$	R ² = 0,9703

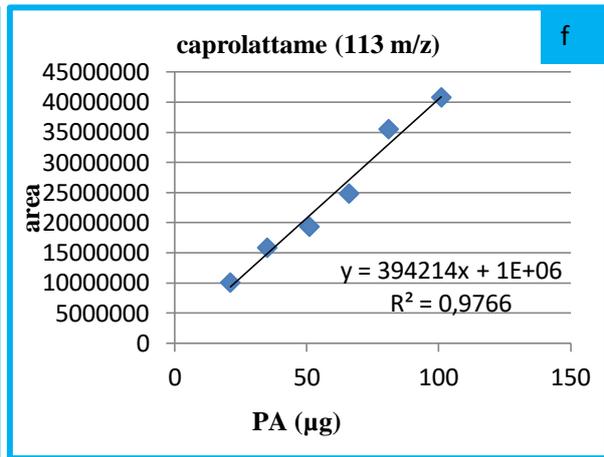
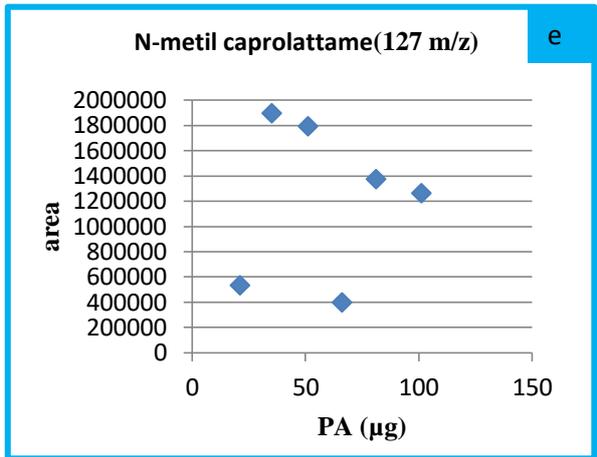
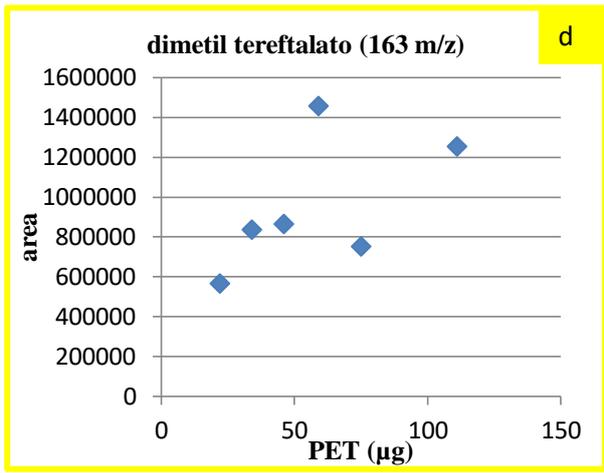
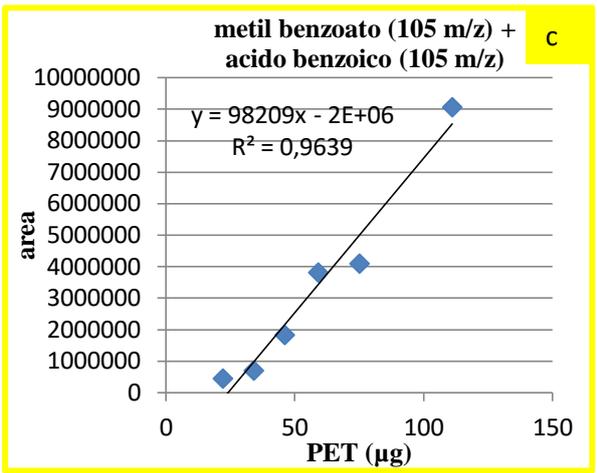
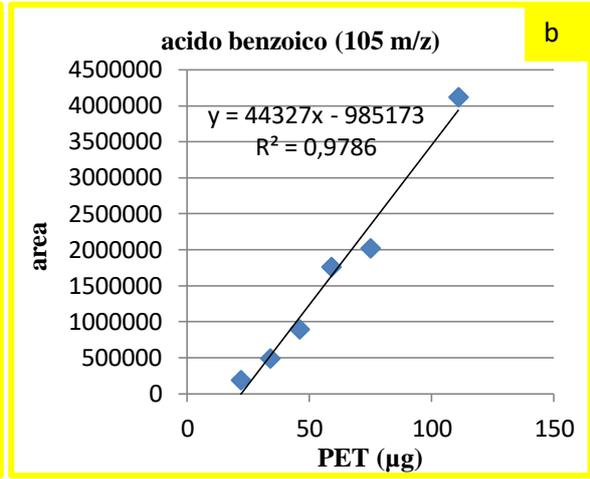
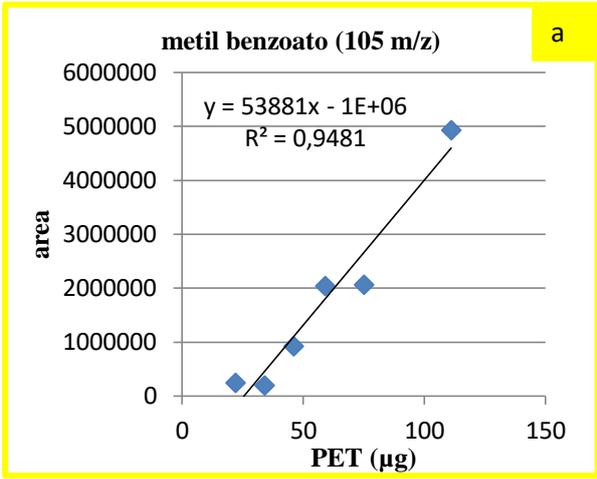


Figura 34 a/b/c/d/e/f: rette calibrazione di PET e PA con aggiunta di TMAH

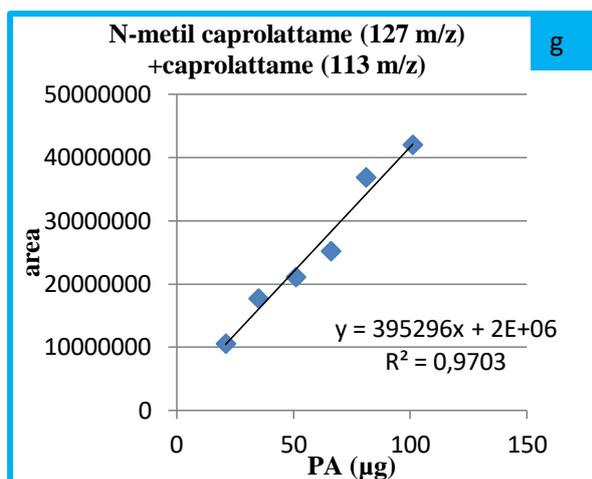


Figura 34 g: rettea calibrazione di PA con aggiunta di TMAH

I risultati ottenuti mostrano che la tecnica di derivatizzazione porta ad una metilazione in proporzioni variabili e a volte, come già detto, non complete, ciò accade per l'acido benzoico e il caprolattame. I prodotti che derivano esclusivamente dalla metilazione portano una scarsa riproducibilità e una linearità bassa o assente come per il dimetil tereftalato (grafico 34 d). Tale dato risulta non in linea con quanto riportano i lavori di letteratura i quali propongono il marker dimetil tereftalato come affidabile per la quantificazione di PET. Tale divergenza si può associare al diverso assetto Py-GCMS utilizzato, nel presente studio un pirolizzatore a filamento di platino ed in letteratura un pirolizzatore a punto di Curie. Il diverso riscaldamento del campione può incidere sul comportamento pirolitico, avendo i prodotti di pirolisi anche tempi diversi di contatto tra loro. Ne risulta che nel nostro sistema pirolitico il picco del dimetil tereftalato come marker nella quantificazione è da escludere. Anche la metilazione del caprolattame risulta non riproducibile, quella dell'acido benzoico presenta invece una risposta più lineare ($R^2=0.9481$), ma trattandosi entrambe di metilazioni parziali, una corretta quantificazione deve tenere in considerazione la somma dei picchi metilati e non, valore che per entrambi i polimeri presenta una linearità accettabile ($R^2= 0.9636$ per PET e $R^2= 0.9703$ per PA).

Lo studio si conclude con una valutazione sulla risposta pirolitica della miscela PET +PA in presenza di metilante.

In tabella 11 sono riassunte le pesate dei sette campioni delle miscele e le quantità determinate analiticamente. Si sono quindi studiate le variazioni della somma delle aree dei marker rispetto ai valori attesi da calibrazione, variazione percentuale riportata tra parentesi.

Tabella 11: massa pesata dei polimeri in miscela e massa estrapolata dalla calibrazione

#	Massa campione PA (μg)	Massa PA rilevata (retta N-metil caprolattame +caprolattame) (μg)	Massa campione PET (μg)	Massa PET rilevata (retta metil benzoato +acido benzoico) (μg)
1	24	15 (-38%)	23	24 (+4%)
2	47	44 (-6%)	47	38(-19%)
3	56	47(-16%)	58	44(-24%)
4	70	71(+1%)	48	43(-10%)
5	81	96(+19%)	81	78(-4%)
6	88	69(-22%)	80	46(-43%)
7	101	109(+8%)	101	55(-46%)

I valori delle aree del picco dimetil tereftalato derivate dalle 7 miscele binarie, non riportate nel presente studio, riconfermano l'enorme variabilità osservata nei pirogrammi di singolo polimero PET. Tuttavia i valori delle aree risultanti delle 7 miscele analizzate non evidenziano grandi divergenze, se non per 3 valori che presentano una sottostima di circa un 40%. Tali valori sono da considerare oltre il limite di errore sperimentale (20%) e quindi portano ad una lettura non corretta. Tuttavia il PA, in tali condizioni, presenta deviazioni di segnale, che a differenza della pirolisi non assistita, sono sia di sopra che sottostima. Complessivamente la pirolisi analitica assistita con metilazione, adottata per limitare le interferenze e migliorarne la quantificazione, ha registrato un piccolo miglioramento nella quantificazione, tuttavia tale risultato non si può considerare ancora pienamente soddisfacente, per cui occorrono mettere in campo nuove strategie; la letteratura infatti non riporta ancora soluzioni valide a tale problema.

5 CONCLUSIONI

La pirolisi analitica associata alla gas cromatografia si conferma una valida alternativa nel riconoscimento dei polimeri in miscele complesse come nel caso di campioni ambientali. Inoltre è una tecnica con grande potenzialità anche nel processo di quantificazione; risiede in questo ultimo punto la vera sfida, ovvero di ottenere dati quantitativi che possano essere accurati e riproducibili. Nello specifico si sono potuti confermare i dati riportati in letteratura, osservando una convergenza tra i prodotti pirolitici individuati dal sistema Py-GCMS adottato (pirolizzatore a filamento CDS Pyroprobe 5000 Series) e quelli presentati da altri studi. In questo studio si evidenzia però che la risposta pirolitica di un singolo polimero può essere influenzata dalla presenza di altri prodotti di degradazione termica. Questa variazione di risposta in termini quantitativi associata a delle reazioni secondarie, non è stata, a nostra conoscenza, ancora approfondita in letteratura. Lo studio ha messo in luce che polimeri quali PET e PA, i quali presentano produzione di marker acidi e basici in fase di pirolisi, interagiscono portando alla formazione di nuovi composti. Tale interazione, ha evidenziato la formazione di benzonitrile e una alterazione nella risposta dei marker, tipicamente usati in fase di quantificazione, durante il processo pirolitico, con un aumento del segnale del caprolattame (sovrastima del PA) e una diminuzione delle aree di vinil benzoato e divinil tereftalato (sottostima del PET) rispetto alle risposte date dai polimeri puri.

In aggiunta, anche l'acido benzoico presenta un comportamento anomalo nella sua eluizione cromatografica sia in colonne apolari che parzialmente polari.

Anche cambiando sistema pirolitico (off-line) si è confermata l'interazione dei prodotti di pirolisi tra questi due polimeri e una variazione nella polarità della fase stazionaria non ha portato a importanti miglioramenti delle condizioni cromatografiche.

Sebbene porti una complicazione nel processo pirolitico e analitico, la metilazione è stata adottata come diverso percorso per limitare gli effetti di interferenza. Essa ha portato un miglioramento delle condizioni analitiche, ma non una totale eliminazione delle reazioni secondarie, quindi presenta margini di miglioramento. In definitiva anche la metilazione

però non consente di avere una stima quantitativa di PA e PET in miscela accurata e riproducibile.

Lo studio ha evidenziato alcune criticità dell'analisi quantitativa in PyGCMS, ma rimane una delle tecniche più promettenti per la quantificazione delle microplastiche. In futuro sarà importante esplorare altre tecniche di derivatizzazione come la silylazione, mai applicata fino ad ora nello studio di microplastiche, la quale potrebbe portare a buoni risultati.

Infine, poiché, lo studio ha messo in luce nuovi prodotti associati a reazioni secondarie che possono avvenire tra i prodotti pirolitici di PA e PET, un approfondimento futuro delle condizioni che ne favoriscono la formazione potrà aiutare a identificare migliori condizioni di pirolisi per ridurre i fenomeni di interferenza.

6 BIBLIOGRAFIA

- [1] «Cosa sono le materie plastiche :: PlasticsEurope». <https://www.plasticseurope.org/it/about-plastics/what-are-plastics> (consultato feb. 23, 2020).
- [2] N. P. Ivleva, A. C. Wiesheu, e R. Niessner, «Microplastic in Aquatic Ecosystems», *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 56, n. 7, pagg. 1720–1739, 2017, doi: 10.1002/anie.201606957.
- [3] «A History of Plastics». https://www.bpf.co.uk/plastipedia/plastics_history/default.aspx (consultato lug. 05, 2020).
- [4] «La storia della plastica | Corepla - Consorzio Nazionale per la Raccolta, il Riciclo e il Recupero degli imballaggi in Plastica». <http://www.corepla.it/la-storia-della-plastica#> (consultato feb. 23, 2020).
- [5] «FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.pdf». Consultato: mar. 02, 2020. [In linea]. Available at: https://www.plasticseurope.org/application/files/9715/7129/9584/FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.pdf.
- [6] C. A. Harper, *Handbook of Plastics, Elastomers, and Composites, Fourth Edition*. McGraw-Hill Education, 2002.
- [7] B. Gewert, M. M. Plassmann, e M. MacLeod, «Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment», *Environ. Sci.: Processes Impacts*, vol. 17, n. 9, pagg. 1513–1521, set. 2015, doi: 10.1039/C5EM00207A.
- [8] P. G. Ryan, «A Brief History of Marine Litter Research», in *Marine Anthropogenic Litter*, M. Bergmann, L. Gutow, e M. Klages, A c. di Cham: Springer International Publishing, 2015, pagg. 1–25.
- [9] E. J. Carpenter, S. J. Anderson, G. R. Harvey, H. P. Miklas, e B. B. Peck, «Polystyrene Spherules in Coastal Waters», *Science*, vol. 178, n. 4062, pagg. 749–750, nov. 1972, doi: 10.1126/science.178.4062.749.
- [10] «Marine Litter Vital Graphics | GRID-Arendal». <https://www.grida.no/publications/60> (consultato lug. 05, 2020).
- [11] «Protecting the Oceans from Land-based Activities», *GESAMP*. <http://www.gesamp.org/publications/protecting-the-oceans-from-land-based-activities> (consultato lug. 05, 2020).
- [12] A. L. Andrady, «The plastic in microplastics: A review», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 119, n. 1, pagg. 12–22, giu. 2017, doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.01.082.
- [13] «Microplastics in the Antarctic», *Greenpeace International*. <https://www.greenpeace.org/international/publication/16899/microplastics-in-the-antarctic> (consultato lug. 05, 2020).
- [14] «Does size and buoyancy affect the long-distance transport of floating debris? - IOPscience». <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/10/8/084019> (consultato feb. 28, 2020).
- [15] R. C. Thompson *et al.*, «Lost at Sea: Where Is All the Plastic?», *Science*, vol. 304, n. 5672, pagg. 838–838, mag. 2004, doi: 10.1126/science.1094559.

- [16] «Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment (Part 1)», *GESAMP*. <http://www.gesamp.org/publications/reports-and-studies-no-90> (consultato lug. 05, 2020).
- [17] «Sources, Fate and Effects of Microplastics in the Marine Environment (Part 2)», *GESAMP*. <http://www.gesamp.org/publications/microplastics-in-the-marine-environment-part-2> (consultato lug. 05, 2020).
- [18] M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, e T. S. Galloway, «Microplastics as contaminants in the marine environment: A review», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 62, n. 12, pagg. 2588–2597, dic. 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.09.025.
- [19] dianna.parker, «Proceedings of the International Research Workshop on Microplastic Marine Debris | OR&R's Marine Debris Program», gen. 12, 2015. /proceedings-international-research-workshop-microplastic-marine-debris, <https://marinedebris.noaa.gov/proceedings-international-research-workshop-microplastic-marine-debris> (consultato lug. 05, 2020).
- [20] Q. Yu, X. Hu, B. Yang, G. Zhang, J. Wang, e W. Ling, «Distribution, abundance and risks of microplastics in the environment», *Chemosphere*, pag. 126059, feb. 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126059.
- [21] «The deep sea is a major sink for microplastic debris | Royal Society Open Science». <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsos.140317> (consultato feb. 28, 2020).
- [22] W. Wang e J. Wang, «Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis», *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 108, pagg. 195–202, nov. 2018, doi: 10.1016/j.trac.2018.08.026.
- [23] J. P. da Costa, A. C. Duarte, e T. A. P. Rocha-Santos, «Chapter 1 - Microplastics – Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment», in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 75, T. A. P. Rocha-Santos e A. C. Duarte, A. c. di Elsevier, 2017, pagg. 1–24.
- [24] K. Liu, X. Wang, T. Fang, P. Xu, L. Zhu, e D. Li, «Source and potential risk assessment of suspended atmospheric microplastics in Shanghai», *Science of The Total Environment*, vol. 675, pagg. 462–471, lug. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.110.
- [25] «Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels - ScienceDirect». https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749114005211?casa_token=AoKUaBa2jmkAAAAA:roee_mBYmwRL7gup2cqXraacX5nt-Sk4UDU-_rtRMd8TfXgFojahi5u4Zbrz3eih89nbq-kRVw (consultato lug. 09, 2020).
- [26] G. Caruso, «Microplastics as vectors of contaminants», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 146, pagg. 921–924, set. 2019, doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.052.
- [27] «EUR-Lex - 32011R0010 - EN - EUR-Lex». <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R0010> (consultato lug. 05, 2020).
- [28] S. Munn, M. Goumenou, e Institute for Health and Consumer Protection, *Thresholds for endocrine disrupters and related uncertainties: report of the Endocrine Disrupters Expert Advisory Group*. Luxembourg: Publications Office, 2013.

- [29] F. Galgani, «Marine litter, future prospects for research», *Front. Mar. Sci.*, vol. 2, 2015, doi: 10.3389/fmars.2015.00087.
- [30] L. Mai, L.-J. Bao, L. Shi, C. S. Wong, e E. Y. Zeng, «A review of methods for measuring microplastics in aquatic environments», *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, n. 12, pagg. 11319–11332, 2018, doi: 10.1007/s11356-018-1692-0.
- [31] S. Klein, I. K. Dimzon, J. Eubeler, e T. P. Knepper, «Analysis, Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment», in *Freshwater Microplastics : Emerging Environmental Contaminants?*, M. Wagner e S. Lambert, A c. di Cham: Springer International Publishing, 2018, pagg. 51–67.
- [32] B. Mausra e A. Foster, «Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment», pag. 39.
- [33] E. Dümichen, P. Eisentraut, C. G. Bannick, A.-K. Barthel, R. Senz, e U. Braun, «Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method», *Chemosphere*, vol. 174, pagg. 572–584, mag. 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.010.
- [34] V. Hidalgo-Ruz, L. Gutow, R. C. Thompson, e M. Thiel, «Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, n. 6, pagg. 3060–3075, mar. 2012, doi: 10.1021/es2031505.
- [35] European Commission, Joint Research Centre, Institute for Environment and Sustainability, e MSFD Technical Subgroup on Marine Litter, *Guidance on monitoring of marine litter in European seas*. Luxembourg: Publications Office, 2013.
- [36] A. B. Silva, A. S. Bastos, C. I. L. Justino, J. P. da Costa, A. C. Duarte, e T. A. P. Rocha-Santos, «Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review», *Analytica Chimica Acta*, vol. 1017, pagg. 1–19, ago. 2018, doi: 10.1016/j.aca.2018.02.043.
- [37] M.-T. Nuelle, J. H. Dekiff, D. Remy, e E. Fries, «A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments», *Environmental Pollution*, vol. 184, pagg. 161–169, gen. 2014, doi: 10.1016/j.envpol.2013.07.027.
- [38] G. Renner, T. C. Schmidt, e J. Schram, «Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics: Which are fit for purpose?», *Current Opinion in Environmental Science & Health*, vol. 1, pagg. 55–61, feb. 2018, doi: 10.1016/j.coesh.2017.11.001.
- [39] R. R. Hurley, A. L. Lusher, M. Olsen, e L. Nizzetto, «Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, n. 13, pagg. 7409–7417, lug. 2018, doi: 10.1021/acs.est.8b01517.
- [40] A. Ceccarini *et al.*, «The Hidden Microplastics: New Insights and Figures from the Thorough Separation and Characterization of Microplastics and of Their Degradation Byproducts in Coastal Sediments», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, n. 10, pagg. 5634–5643, mag. 2018, doi: 10.1021/acs.est.8b01487.
- [41] «Analysis of poly(vinyl chloride) and other polymers in sediments and suspended matter of a coastal lagoon by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry»,

- Analytica Chimica Acta*, vol. 413, n. 1–2, pagg. 3–11, mag. 2000, doi: 10.1016/S0003-2670(00)00766-2.
- [42] G. Dierkes, T. Lauschke, S. Becher, H. Schumacher, C. Földi, e T. Ternes, «Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography», *Anal Bioanal Chem*, vol. 411, n. 26, pagg. 6959–6968, ott. 2019, doi: 10.1007/s00216-019-02066-9.
- [43] J. La Nasa, G. Biale, D. Fabbri, e F. Modugno, «A review on challenges and developments of analytical pyrolysis and other thermoanalytical techniques for the quali-quantitative determination of microplastics», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 149, pag. 104841, ago. 2020, doi: 10.1016/j.jaap.2020.104841.
- [44] W. J. Shim, S. H. Hong, e S. E. Eo, «Identification methods in microplastic analysis: a review», *Anal. Methods*, vol. 9, n. 9, pagg. 1384–1391, mar. 2017, doi: 10.1039/C6AY02558G.
- [45] M. Eriksen *et al.*, «Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 77, n. 1, pagg. 177–182, dic. 2013, doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.10.007.
- [46] J. Gago, F. Galgani, T. Maes, e R. C. Thompson, «Microplastics in Seawater: Recommendations from the Marine Strategy Framework Directive Implementation Process», *Front. Mar. Sci.*, vol. 3, 2016, doi: 10.3389/fmars.2016.00219.
- [47] M. Mistri *et al.*, «Small plastic debris in sediments from the Central Adriatic Sea: Types, occurrence and distribution», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 124, n. 1, pagg. 435–440, nov. 2017, doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.07.063.
- [48] L. Cai *et al.*, «Characteristic of microplastics in the atmospheric fallout from Dongguan city, China: preliminary research and first evidence», *Environ Sci Pollut Res*, vol. 24, n. 32, pagg. 24928–24935, nov. 2017, doi: 10.1007/s11356-017-0116-x.
- [49] M. G. J. Löder, M. Kuczera, S. Mintenig, C. Lorenz, e G. Gerdt, «Focal plane array detector-based micro-Fourier-transform infrared imaging for the analysis of microplastics in environmental samples», *Environ. Chem.*, vol. 12, n. 5, pagg. 563–581, ago. 2015, doi: 10.1071/EN14205.
- [50] P. Ribeiro-Claro, M. M. Nolasco, e C. Araújo, «Chapter 5 - Characterization of Microplastics by Raman Spectroscopy», in *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 75, T. A. P. Rocha-Santos e A. C. Duarte, A c. di Elsevier, 2017, pagg. 119–151.
- [51] R. Peñalver, N. Arroyo-Manzanares, I. López-García, e M. Hernández-Córdoba, «An overview of microplastics characterization by thermal analysis», *Chemosphere*, vol. 242, pag. 125170, mar. 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125170.
- [52] M. Majewsky, H. Bitter, E. Eiche, e H. Horn, «Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC)», *Science of The Total Environment*, vol. 568, pagg. 507–511, ott. 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.017.
- [53] E. Fries, J. H. Dekiff, J. Willmeyer, M.-T. Nuelle, M. Ebert, e D. Remy, «Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles

- using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy», *Environ. Sci.: Processes Impacts*, vol. 15, n. 10, pagg. 1949–1956, set. 2013, doi: 10.1039/C3EM00214D.
- [54] M. Fischer e B. M. Scholz-Böttcher, «Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry», *Environmental Science and Technology*, vol. 51, n. 9, pagg. 5052–5060, 2017, doi: 10.1021/acs.est.6b06362.
- [55] D. Fabbri, «Use of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to study environmental pollution caused by synthetic polymers: a case study: the Ravenna Lagoon», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 58–59, pagg. 361–370, apr. 2001, doi: 10.1016/S0165-2370(00)00170-4.
- [56] D. Fabbri *et al.*, «Off-line analytical pyrolysis GC–MS to study the accumulation of polystyrene microparticles in exposed mussels», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 149, pag. 104836, ago. 2020, doi: 10.1016/j.jaap.2020.104836.
- [57] L.-M. Krauskopf, H. Hemmerich, L. Dsikowitzky, e J. Schwarzbauer, «Critical aspects on off-line pyrolysis-based quantification of microplastic in environmental samples», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, pag. 104830, apr. 2020, doi: 10.1016/j.jaap.2020.104830.
- [58] «Pyrolysis-GCMS | SHIMADZU EUROPA».
<https://www.shimadzu.eu.com/pyrolysis-gcms> (consultato lug. 03, 2020).
- [59] T. Ohra-aho, J. Ropponen, e T. Tamminen, «Thermochemolysis using TMAAc and TMAH reagents as means to differentiate between free acids and esters», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 103, pagg. 31–35, set. 2013, doi: 10.1016/j.jaap.2012.09.015.
- [60] «Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 61, n. 1–2, pagg. 3–34, nov. 2001, doi: 10.1016/S0165-2370(01)00146-2.
- [61] M. Fischer e B. M. Scholz-Böttcher, «Microplastics analysis in environmental samples – recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data», *Anal. Methods*, vol. 11, n. 18, pagg. 2489–2497, mag. 2019, doi: 10.1039/C9AY00600A.
- [62] A. Gomiero, K. B. Øysæd, T. Agustsson, N. van Hoytema, T. van Thiel, e F. Grati, «First record of characterization, concentration and distribution of microplastics in coastal sediments of an urban fjord in south west Norway using a thermal degradation method», *Chemosphere*, vol. 227, pagg. 705–714, lug. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.04.096.
- [63] M. Fischer, I. Goßmann, e B. M. Scholz-Böttcher, «Fleur de Sel—An interregional monitor for microplastics mass load and composition in European coastal waters?», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 144, pag. 104711, nov. 2019, doi: 10.1016/j.jaap.2019.104711.
- [64] E. D. Okoffo *et al.*, «Identification and quantification of selected plastics in biosolids by pressurized liquid extraction combined with double-shot pyrolysis gas chromatography–mass spectrometry», *Science of The Total Environment*, vol. 715, pag. 136924, mag. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136924.

- [65] Z. Steinmetz, A. Kintzi, K. Muñoz, e G. E. Schaumann, «A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 147, pag. 104803, mag. 2020, doi: 10.1016/j.jaap.2020.104803.
- [66] D. P. Serrano, J. Aguado, J. M. Escola, J. M. Rodríguez, e G. San Miguel, «An investigation into the catalytic cracking of LDPE using Py-GC/MS», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 74, n. 1, pagg. 370–378, ago. 2005, doi: 10.1016/j.jaap.2004.11.026.
- [67] L. Soják, R. Kubinec, H. Jurdáková, E. Hájeková, e M. Bajus, «High resolution gas chromatographic–mass spectrometric analysis of polyethylene and polypropylene thermal cracking products», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 78, n. 2, pagg. 387–399, mar. 2007, doi: 10.1016/j.jaap.2006.09.012.
- [68] «Intermediate pyrolysis and product identification by TGA and Py-GC/MS of green microalgae and their extracted protein and lipid components», *Biomass and Bioenergy*, vol. 49, pagg. 38–48, feb. 2013, doi: 10.1016/j.biombioe.2012.12.006.
- [69] T. Faravelli, M. Pincioli, F. Pisano, G. Bozzano, M. Dente, e E. Ranzi, «Thermal degradation of polystyrene», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 60, n. 1, pagg. 103–121, giu. 2001, doi: 10.1016/S0165-2370(00)00159-5.
- [70] M. Julinová, L. Vaňharová, e M. Jurča, «Water-soluble polymeric xenobiotics – Polyvinyl alcohol and polyvinylpyrrolidon – And potential solutions to environmental issues: A brief review», *Journal of Environmental Management*, vol. 228, pagg. 213–222, dic. 2018, doi: 10.1016/j.jenvman.2018.09.010.
- [71] C. H. DePuy e R. W. King, «Pyrolytic Cis Eliminations.», *Chem. Rev.*, vol. 60, n. 5, pagg. 431–457, ott. 1960, doi: 10.1021/cr60207a001.
- [72] B. J. Holland e J. N. Hay, «The thermal degradation of PET and analogous polyesters measured by thermal analysis–Fourier transform infrared spectroscopy», *Polymer*, vol. 43, n. 6, pagg. 1835–1847, mar. 2002, doi: 10.1016/S0032-3861(01)00775-3.
- [73] E. J. Dziwiński, J. Iłowska, e J. Gniady, «Py-GC/MS analyses of poly(ethylene terephthalate) film without and with the presence of tetramethylammonium acetate reagent. Comparative study», *Polymer Testing*, vol. 65, pagg. 111–115, feb. 2018, doi: 10.1016/j.polymertesting.2017.11.009.
- [74] L. Hermabessiere *et al.*, «Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, n. 25, pagg. 6663–6676, 2018, doi: 10.1007/s00216-018-1279-0.
- [75] «Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior As Determined via Microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR | Environmental Science & Technology». <https://pubs-acrs-org.ezproxy.unibo.it/doi/10.1021/acs.est.7b05829> (consultato feb. 19, 2020).
- [76] S. Tsuge, H. Ohtani, e C. Watanabe, *Pyrolysis - GC/MS Data Book of Synthetic Polymers*. 2011.

- [77] Casazza Alessandro, Spennati Elena, Converti Attilio, e Busca Guido, «Study on the Thermal Decomposition of Plastic Residues», *Chemical Engineering Transactions*, vol. 74, pagg. 1141–1146, mag. 2019, doi: 10.3303/CET1974191.
- [78] «Detection and quantification of traces of bisphenol A and bisphenol S in paper samples using analytical pyrolysis-GC/MS - Analyst (RSC Publishing)». <https://pubs-rsc-org.ezproxy.unibo.it/en/content/articlelanding/2012/AN/c2an15961a#!divAbstract> (consultato feb. 21, 2020).
- [79] «Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments | SpringerLink». <https://link-springer-com.ezproxy.unibo.it/article/10.1007%2Fs00216-018-1185-5> (consultato feb. 19, 2020).
- [80] C. A. Peters, E. Hendrickson, E. C. Minor, K. Schreiner, J. Halbur, e S. P. Bratton, «Pyr-GC/MS analysis of microplastics extracted from the stomach content of benthivore fish from the Texas Gulf Coast», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 137, pagg. 91–95, 2018, doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.09.049.
- [81] «A Simple Method for Quantifying Polycarbonate and Polyethylene Terephthalate Microplastics in Environmental Samples by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry | Environmental Science & Technology Letters». <https://pubs-acsc-org.ezproxy.unibo.it/doi/10.1021/acs.estlett.7b00454> (consultato feb. 19, 2020).
- [82] P. Kusch, «Application of Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Py-GC/MS)», *Comprehensive Analytical Chemistry*, vol. 75, pagg. 169–207, 2017, doi: 10.1016/bs.coac.2016.10.003.
- [83] E. Duemichen, P. Eisentraut, M. Celina, e U. Braun, «Automated thermal extraction-desorption gas chromatography mass spectrometry: A multifunctional tool for comprehensive characterization of polymers and their degradation products», *Journal of Chromatography A*, vol. 1592, pagg. 133–142, mag. 2019, doi: 10.1016/j.chroma.2019.01.033.
- [84] J. H. Dekiff, D. Remy, J. Klasmeier, e E. Fries, «Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney», *Environmental Pollution*, vol. 186, pagg. 248–256, mar. 2014, doi: 10.1016/j.envpol.2013.11.019.
- [85] S. M. Rodrigues, C. M. R. Almeida, e S. Ramos, «Adaptation of a laboratory protocol to quantify microplastics contamination in estuarine waters», *MethodsX*, vol. 6, pagg. 740–749, gen. 2019, doi: 10.1016/j.mex.2019.03.027.
- [86] N. Sathish, K. I. Jeyasanta, e J. Patterson, «Abundance, characteristics and surface degradation features of microplastics in beach sediments of five coastal areas in Tamil Nadu, India», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 142, pagg. 112–118, mag. 2019, doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.03.037.
- [87] L. S. Fendall e M. A. Sewell, «Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 58, n. 8, pagg. 1225–1228, ago. 2009, doi: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.025.
- [88] W. Yuan, X. Liu, W. Wang, M. Di, e J. Wang, «Microplastic abundance, distribution and composition in water, sediments, and wild fish from Poyang

- Lake, China», *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 170, pagg. 180–187, apr. 2019, doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.126.
- [89] S. M. Rodrigues *et al.*, «Microplastic contamination in an urban estuary: Abundance and distribution of microplastics and fish larvae in the Douro estuary», *Science of The Total Environment*, vol. 659, pagg. 1071–1081, apr. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.273.
- [90] T. Rocha-Santos e A. C. Duarte, «A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment», *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 65, pagg. 47–53, feb. 2015, doi: 10.1016/j.trac.2014.10.011.
- [91] G. Pellini *et al.*, «Characterization of microplastic litter in the gastrointestinal tract of *Solea solea* from the Adriatic Sea», *Environmental Pollution*, vol. 234, pagg. 943–952, mar. 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2017.12.038.
- [92] J. Li *et al.*, «Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution», *Environmental Pollution*, vol. 244, pagg. 522–533, gen. 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2018.10.032.
- [93] R. Li, L. Zhang, B. Xue, e Y. Wang, «Abundance and characteristics of microplastics in the mangrove sediment of the semi-enclosed Maowei Sea of the south China sea: New implications for location, rhizosphere, and sediment compositions», *Environmental Pollution*, vol. 244, pagg. 685–692, gen. 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2018.10.089.
- [94] «Accumulation of Microplastic on Shorelines Woldwide: Sources and Sinks | Environmental Science & Technology». <https://pubs-acsc-org.ezproxy.unibo.it/doi/10.1021/es201811s> (consultato feb. 20, 2020).
- [95] A. Dehaut *et al.*, «Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization», *Environmental Pollution*, vol. 215, pagg. 223–233, ago. 2016, doi: 10.1016/j.envpol.2016.05.018.
- [96] F. C. Alam, E. Sembiring, B. S. Muntalif, e V. Suendo, «Microplastic distribution in surface water and sediment river around slum and industrial area (case study: Ciwalengke River, Majalaya district, Indonesia)», *Chemosphere*, vol. 224, pagg. 637–645, giu. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.02.188.
- [97] F. M. Baalkhuyur *et al.*, «Microplastic in the gastrointestinal tract of fishes along the Saudi Arabian Red Sea coast», *Marine Pollution Bulletin*, vol. 131, pagg. 407–415, giu. 2018, doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.04.040.
- [98] J. Pinto da Costa, V. Reis, A. Paço, M. Costa, A. C. Duarte, e T. Rocha-Santos, «Micro(nano)plastics – Analytical challenges towards risk evaluation», *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 111, pagg. 173–184, feb. 2019, doi: 10.1016/j.trac.2018.12.013.
- [99] E. Dümichen *et al.*, «Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method», *Water Research*, vol. 85, pagg. 451–457, nov. 2015, doi: 10.1016/j.watres.2015.09.002.
- [100] M. Llana-Ruíz-Cabello *et al.*, «Pyrolysis-gas chromatography–isotope ratio mass spectrometry for monitoring natural additives in polylactic acid active food packages», *Journal of Chromatography A*, vol. 1525, pagg. 145–151, nov. 2017, doi: 10.1016/j.chroma.2017.10.023.

- [101] X. Wei, X. Ma, X. Peng, Z. Yao, F. Yang, e M. Dai, «Comparative investigation between co-pyrolysis characteristics of protein and carbohydrate by TG-FTIR and Py-GC/MS», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 135, pagg. 209–218, ott. 2018, doi: 10.1016/j.jaap.2018.08.031.
- [102] K. L. Sobeih, M. Baron, e J. Gonzalez-Rodriguez, «Recent trends and developments in pyrolysis-gas chromatography», *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, n. 1–2, pagg. 51–66, 2008, doi: 10.1016/j.chroma.2007.10.017.
- [103] P. Doyen *et al.*, «Occurrence and identification of microplastics in beach sediments from the Hauts-de-France region», *Environ Sci Pollut Res*, vol. 26, n. 27, pagg. 28010–28021, set. 2019, doi: 10.1007/s11356-019-06027-8.
- [104] A. Ter Halle *et al.*, «Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre», *Environ. Sci. Technol.*, vol. 51, n. 23, pagg. 13689–13697, dic. 2017, doi: 10.1021/acs.est.7b03667.
- [105] «Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes», *Water Research*, vol. 98, pagg. 64–74, lug. 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.03.015.
- [106] J. M. Challinor, «A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography technique for the structural elucidation of some synthetic polymers», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 16, n. 4, pagg. 323–333, nov. 1989, doi: 10.1016/0165-2370(89)80015-4.
- [107] «Evaluating emission levels of polycyclic aromatic hydrocarbons from organic materials by analytical pyrolysis», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 75, n. 2, pagg. 150–158, mar. 2006, doi: 10.1016/j.jaap.2005.05.003.
- [108] C. G. Bannick *et al.*, «Development and testing of a fractionated filtration for sampling of microplastics in water», *Water Research*, vol. 149, pagg. 650–658, feb. 2019, doi: 10.1016/j.watres.2018.10.045.
- [109] K. M. Unice, M. L. Kreider, e J. M. Panko, «Use of a Deuterated Internal Standard with Pyrolysis-GC/MS Dimeric Marker Analysis to Quantify Tire Tread Particles in the Environment», *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 9, n. 11, pagg. 4033–4055, nov. 2012, doi: 10.3390/ijerph9114033.
- [110] R. S. Lehrle, I. W. Parsons, e M. Rollinson, «Thermal degradation mechanisms of nylon 6 deduced from kinetic studies by pyrolysis-g.c.», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 67, n. 1, pagg. 21–33, gen. 2000, doi: 10.1016/S0141-3910(99)00112-3.
- [111] E. Duemichen, U. Braun, R. Senz, G. Fabian, e H. Sturm, «Assessment of a new method for the analysis of decomposition gases of polymers by a combining thermogravimetric solid-phase extraction and thermal desorption gas chromatography mass spectrometry», *Journal of Chromatography A*, vol. 1354, pagg. 117–128, ago. 2014, doi: 10.1016/j.chroma.2014.05.057.
- [112] «The first application of quantitative ¹H NMR spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET, and PS) | SpringerLink». <https://link-springer-com.ezproxy.unibo.it/article/10.1007%2Fs00216-018-1510-z> (consultato feb. 20, 2020).

- [113] D. K. Sharma, H. Dhawan, T. Morgan, e M. Crocker, «Py-GCMS studies of Indian coals and their solvent extracted products», *Fuel*, vol. 256, pag. 115981, nov. 2019, doi: 10.1016/j.fuel.2019.115981.
- [114] X. Han, X. Lu, e R. D. Vogt, «An optimized density-based approach for extracting microplastics from soil and sediment samples», *Environmental Pollution*, vol. 254, pag. 113009, nov. 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113009.
- [115] «Two Birds with One Stone—Fast and Simultaneous Analysis of Microplastics: Microparticles Derived from Thermoplastics and Tire Wear | Environmental Science & Technology Letters». <https://pubs-acsc-org.ezproxy.unibo.it/doi/10.1021/acs.estlett.8b00446> (consultato feb. 20, 2020).
- [116] «Kinetics of the Low-Temperature Pyrolysis of Polyethylene, Polypropene, and Polystyrene Modeling, Experimental Determination, and Comparison with Literature Models and Data | Industrial & Engineering Chemistry Research». <https://pubs-acsc-org.ezproxy.unibo.it/doi/10.1021/ie960501m> (consultato feb. 20, 2020).
- [117] «Scopus - Document details». <https://www-scopus-com.ezproxy.unibo.it/record/display.uri?eid=2-s2.0-0030469880&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=Recognition+of+Chitin+and+Proteins+in+Invertebrate+Cuticles+Using+Analytical+Pyrolysis%2f+Gas+Chromatography+and+Pyrolysis%2fGas+Chromatography%2fMass+Spectrometry&st2=&sid=b98163c33eb1e18a6959e73339099ffb&sot=b&sdt=b&sl=172&s=TITLE-ABS-KEY%28Recognition+of+Chitin+and+Proteins+in+Invertebrate+Cuticles+Using+Analytical+Pyrolysis%2f+Gas+Chromatography+and+Pyrolysis%2fGas+Chromatography%2fMass+Spectrometry%29&relpos=0&citeCnt=113&searchTerm=> (consultato feb. 20, 2020).
- [118] «Sulphurous additives for polystyrene: Influencing decomposition behavior in the condensed phase - Braun - 2015 - Journal of Applied Polymer Science - Wiley Online Library». <https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.unibo.it/doi/full/10.1002/app.41665> (consultato feb. 20, 2020).
- [119] Y. K. Müller *et al.*, «Microplastic analysis—are we measuring the same? Results on the first global comparative study for microplastic analysis in a water sample», *Anal Bioanal Chem*, vol. 412, n. 3, pagg. 555–560, gen. 2020, doi: 10.1007/s00216-019-02311-1.
- [120] «Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects | Environmental Sciences Europe | Full Text». <https://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-015-0069-y> (consultato feb. 20, 2020).
- [121] J. P. Lozoya *et al.*, «Plastics and microplastics on recreational beaches in Punta del Este (Uruguay): Unseen critical residents?», *Environmental Pollution*, vol. 218, pagg. 931–941, nov. 2016, doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.041.
- [122] «Assessment of microplastics in freshwater systems: A review», *Science of The Total Environment*, vol. 707, pag. 135578, mar. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135578.

- [123] E. Duemichen, U. Braun, R. Kraemer, P. Deglmann, e R. Senz, «Thermal extraction combined with thermal desorption: A powerful tool to investigate the thermo-oxidative degradation of polyamide 66 materials», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 115, pagg. 288–298, set. 2015, doi: 10.1016/j.jaap.2015.08.006.
- [124] P. Zuccarello *et al.*, «Exposure to microplastics (<10 µm) associated to plastic bottles mineral water consumption: The first quantitative study», *Water Research*, vol. 157, pagg. 365–371, giu. 2019, doi: 10.1016/j.watres.2019.03.091.
- [125] N. Dimitrov, L. Kratofil Krehula, A. Ptiček Siročić, e Z. Hrnjak-Murčić, «Analysis of recycled PET bottles products by pyrolysis-gas chromatography», *Polymer Degradation and Stability*, vol. 98, n. 5, pagg. 972–979, mag. 2013, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2013.02.013.
- [126] B. J. Holland e J. N. Hay, «Thermal degradation of nylon polymers», *Polymer International*, vol. 49, n. 9, pagg. 943–948, 2000, doi: 10.1002/1097-0126(200009)49:9<943::AID-PI400>3.0.CO;2-5.
- [127] U. Braun, H. Bahr, e B. Schartel, «Fire retardancy effect of aluminium phosphinate and melamine polyphosphate in glass fibre reinforced polyamide 6», *E-Polymers*, 2010.
- [128] H. Ohtani, T. Nagaya, Y. Sugimura, e S. Tsuge, «Studies on thermal degradation of aliphatic polyamides by pyrolysis-glass capillary chromatography», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 4, n. 2, pagg. 117–131, set. 1982, doi: 10.1016/0165-2370(82)80003-X.
- [129] N. Bartsch *et al.*, «Thermal Stability of Polymer Additives: Comparison of Decomposition Models Including Oxidative Pyrolysis», *Journal of Vinyl and Additive Technology*, vol. 25, n. s2, pagg. E12–E27, 2019, doi: 10.1002/vnl.21654.
- [130] J. M. Challinor, «Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 61, n. 1, pagg. 3–34, nov. 2001, doi: 10.1016/S0165-2370(01)00146-2.
- [131] «Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS)», in *Basic Gas Chromatography*, John Wiley & Sons, Ltd, 2008, pagg. 156–169.
- [132] «Screening of anthropogenic compounds in polluted sediments and soils by flash evaporation/pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry | Analytical Chemistry». <https://pubs-acs-org.ezproxy.unibo.it/doi/abs/10.1021/ac00121a055> (consultato feb. 21, 2020).
- [133] D. Fabbri, C. Trombini, e I. Vassura, «Analysis of Polystyrene in Polluted Sediments by Pyrolysis--Gas Chromatography--Mass Spectrometry», *Journal of Chromatographic Science*, vol. 36, n. 12, pagg. 600–604, dic. 1998, doi: 10.1093/chromsci/36.12.600.
- [134] S.-H. Yang, J. Y. Shen, M. S. Chang, e G. J. Wu, «Quantification of vehicle paint components containing polystyrene using pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry», *Anal. Methods*, vol. 4, n. 7, pagg. 1989–1995, giu. 2012, doi: 10.1039/C2AY05809J.
- [135] A. Asperger, W. Engewald, e T. Wagner, «Quantitative determination of acrylate-based copolymer retarding layers on drug granules using pyrolysis–gas

- chromatography», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 49, n. 1, pagg. 155–164, feb. 1999, doi: 10.1016/S0165-2370(98)00093-X.
- [136] A. Kronimus e J. Schwarzbauer, «Analysis of structurally modified polyacrylamides by on-line thermochemolysis-GC–MS», *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 80, n. 2, pagg. 471–476, ott. 2007, doi: 10.1016/j.jaap.2007.06.004.
- [137] A. Witkowski, A. A. Stec, e T. R. Hull, «Thermal Decomposition of Polymeric Materials», in *SFPE Handbook of Fire Protection Engineering*, M. J. Hurley, D. Gottuk, J. R. Hall, K. Harada, E. Kuligowski, M. Puchovsky, J. Torero, J. M. Watts, e C. Wieczorek, A c. di New York, NY: Springer, 2016, pagg. 167–254.
- [138] S. C. Moldoveanu, «Pyrolysis GC/MS, present and future (recent past and present needs)*», *Journal of Microcolumn Separations*, vol. 13, n. 3, pagg. 102–125, 2001, doi: 10.1002/mcs.1028.
- [139] V. Castelvetro, A. Corti, S. Bianchi, A. Ceccarini, A. Manariti, e V. Vinciguerra, «Quantification of poly(ethylene terephthalate) micro- and nanoparticle contaminants in marine sediments and other environmental matrices», *Journal of Hazardous Materials*, vol. 385, pag. 121517, mar. 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121517.
- [140] Y. Lin, X. Huang, Q. Liu, Z. Lin, e G. Jiang, «Thermal fragmentation enhanced identification and quantification of polystyrene micro/nanoplastics in complex media», *Talanta*, vol. 208, pag. 120478, feb. 2020, doi: 10.1016/j.talanta.2019.120478.

RINGRAZIAMENTI

Al termine di questo lavoro, mi sento di dover ringraziare, prima di ogni altra persona, il mio relatore Ivano Vassura che oltre ad avermi accettata come tesista e affidato un lavoro dal tema di estrema attualità mi ha dato la possibilità di vivere questa esperienza di tirocinio come una esperienza di crescita personale. Oltre ad avermi accompagnato in questo lavoro con estrema prontezza e dedizione ha saputo migliorare la parte più insicura di me dandomi sempre tanta fiducia. Infine, ma non per ordine di importanza, vorrei ringraziarlo per l'estrema pazienza che ha sempre dimostrato in qualunque situazione e che è riusucito ad infondere grazie alla sua passione in una personalità ansiogena come la mia.

I miei ringraziamenti vanno anche al mio correlatore Daniele Fabbri, che con la sua affermata conoscenza in materia, si è dimostrato sempre disponibile a chierire dubbi o perplessità e a indicarmi nuovi suggerimenti per migliorare il mio lavoro.

Ringrazio di cuore mia madre, ormai parte integrante di me e mio padre e tutta la mia famiglia, che sono sempre stati capaci a colmare nel migliore dei modi i migliaia chilometri che ci separano. È anche grazie ai miei genitori se sono arrivata fino a qui, poiché mi hanno permesso di intraprendere questo percorso universitario, non privandomi mai di nulla. A tal punto mi sento in dovere di ringraziare mio zio che fin dalla prima parola di questa tesi mi ha sempre accompagnata con la sua forza insegnandomi cosa significhi “lottare”.

Dico grazie all'università che mi ha dato la possibilità di lavorare in un ambiente come quello del Tecnopolo, di aver conosciuto non semplici compagni di laboratorio ma persone con le quali, in questo anno di tesi, ho potuto condividere sia momenti di pura incazzatura che di puro divertimento.

Infine desidero ringraziare loro, tutti i miei amici dei quali non potrei fare a meno. Che siano amici di facoltà, di Cesena, o che sia la mia migliore amica Lisa non importa, ognuno ha sempre saputo prendermi per mano nei momenti miei più instabili e portarmi avanti. Li ringrazio per quelli che sono, un po' vicaci, un po' chiacchieroni o lamentoni come me, ma il grazie più sincero forse lo dirò il giorno della mia laurea quando li avrò tutti davanti a me.

E infine anche un po' grazie a me.