Blue Lakes

No microplastics, just waves.

NO MICROPLASTICS, JUST WAVES.

MONITORING PROTOCOL

ACTION B.2

BENEFICIARIO COORDINATORE

LEGAMBIENTE

BENEFICIARI ASSOCIATI

Autorità di Bacino Distrettuale dell'Appennino Centrale

Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale dell'Umbria

ENEA AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE, L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

Global Nature Fund

Bodensee Stiftung

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

PROGETTO COFINANZIATO DA

PlasticsEurope

www.lifebluelakes.eu / info@lifebluelakes.eu

Action B.2 Monitoring Protocol:
Pilot on Trasimeno and Bracciano Lakes

Deliverable B.2.2

October 2021

Referente
Maria Sighicelli
ENEA C.R. CASACCIA - Roma
Laboratorio Biodiversità e Servizi Ecosistemici
maria.sighicelli@enea.it

Hanno contribuito al Report: Patrizia Menegoni (ENEA), Miriam Pierotti (ENEA), Francesca Lecce (ENEA), Paolo Stranieri (ARPA UMBRIA), Valentina Della Bella (ARPA UMBRIA), Lucia Coscia (ARPA UMBRIA), Stefania Di Vito (LEGAMBIENTE), Annalisa Leone (LEGAMBIENTE), Loris Pietrelli (LEGAMBIENTE).

Executive Summary

Since the first widespread use of plastics in the early 1950s, plastic materials have strongly contributed to societal development and the annual global production rose from 1.5 million tons in 1950 to 368 million tons in 2019 (PlasticsEurope 2020). As predicted in 1972 by Carpenter and Smith, microplastic pollution became widespread with significant implications for ecosystems and organisms. The combination of increasing production rates, material longevity, inappropriate use of plastic products, and insufficient or non-existent waste management lead to the introduction of plastic waste into the environment. Due to the material properties, plastics hardly decompose and thus remain for a long time in the environment. Exposure to environmental conditions alters the material and slowly forms plastic debris with a large range of sizes, from meter to micrometer range.

Despite the large amount of literature describing microplastics (MPs) occurrence and accumulation in marine environments, yet very little data is available for freshwater systems. Several studies highlighted that rivers and effluents are major pathways for plastics of terrestrial sources. 80% of all marine plastic pollution is sourced directly from inland, particularly from urban areas. Several pathways exist for MPs to enter the terrestrial and aquatic environment have recently been identified.
There is a knowledge gap related to MPs abundance and dispersion in freshwater, and, particularly, little is known regarding the situation in lakes. Due to the role of rivers and lakes as suppliers of plastics to the marine environment, to assess the potential risks towards the ecosystem it is important and necessary to collect more data on MPs abundance from freshwater environments. At the current stage, reports on MPs in the environment suffer from a general incomparability of generated data due to lack of harmonization in sampling and analytics.

This document builds on the knowledge and experience gained during the first year of the Blue Lakes monitoring campaign and previous surveys of Goletta dei Laghi. It provides methodological procedures for sampling and analysing microplastics content in lakes to support monitoring and assessment programmes for MPs in freshwater. Methods of sample processing and instrumental analytics for particle identification are mostly the same for freshwater and marine systems. Many other aspects require the adaptation of sampling techniques and the design of monitoring programmes according to specific freshwater conditions.
The report aims to quantify MPs across environmental compartments applying harmonized methods. It highlights MP sampling, processing and analysis for surface and water column, and sediment beach samples. This is necessary for understanding the mechanisms that determine the abundance and distribution of MPs in freshwater as well as their flow paths. Lake Bracciano in Lazio Region and Lake Trasimeno in Umbria Region were chosen as model-lakes in this context.

- PREMESSA 2
- INTRODUZIONE 3
- OBIETTIVI, CAMPO DI APPLICAZIONE E SVILUPPO 4
- PROTOCOLLO MONITORAGGIO ACQUE SUPERFICIALI 5
  - Protocollo operativo di campionamento 6
    - Strumentazione e attrezzatura 6
    - Procedura 6
  - Protocollo operativo di analisi 7
    - Strumentazione 7
    - Procedura 8
- PROTOCOLLO MONITORAGGIO COLONNA 11
- PROTOCOLLO MONITORAGGIO SEDIMENTI SPIAGGE 12
  - Protocollo operativo di campionamento 12
    - Strumentazione e attrezzatura 12
    - Procedura 12
  - Protocollo operativo di analisi 13
    - Strumentazione 13
    - Procedura 13
- APPENDICE 16
- BIBLIOGRAFIA 20

• PREMESSA

L'importanza di questa azione di progetto è legata al fatto che la maggior parte della ricerca sui detriti di plastica è attualmente focalizzata sui mari e gli oceani. Di conseguenza, le tecniche e i protocolli di campionamento disponibili sono stati sviluppati per i sistemi marini.
Questi possono essere in parte applicati in ambienti di acqua dolce, ma richiedono ad ogni modo un adattamento funzionale alle diverse condizioni ambientali delle acque dolci, comprese le acque in movimento di fiumi e torrenti, sottoposte ad una maggiore incidenza di micro e nano-plastiche dovuta alle numerose attività antropiche e alla vicinanza di sistemi urbani eterogenei. Le differenze tra i sistemi di acqua dolce e quelli marini sono per lo più limitate alle tecniche di campionamento. Molti fattori specifici dei sistemi di acqua dolce influenzano maggiormente le procedure di campionamento rispetto all'analisi di laboratorio, che tende ad essere simile all'analisi dei campioni di acqua di mare.
Il nucleo centrale di questa azione, quindi, è lo sviluppo di un protocollo standardizzato per la progettazione e attuazione di un programma di monitoraggio stagionale delle microplastiche funzionale alle autorità di gestione responsabili della qualità delle acque dolci e di quadri politici comunitari. In tale contesto la condivisione di un piano di monitoraggio contribuisce a migliorare la conoscenza sulla presenza e dinamica delle micro-particelle di plastica negli ecosistemi d'acqua dolce, i cui percorsi sono complessi e i meccanismi di trasporto non sono ancora ben compresi.

Come evidenziato in precedenza, negli ultimi decenni numerosi studi scientifici sulla presenza e sulla dispersione delle microplastiche sono stati condotti in ambiente marino, così come in termini di normativa già dal 2008, la Direttiva Quadro della Strategia Marina (MSFD 2008/56/CE) includeva le microplastiche come descrittore da misurare.
Contrariamente, la Direttiva Quadro sulle Acque (2000/60), normativa che stabilisce indicatori e limiti per monitorare la qualità delle acque interne, non considera tuttora la presenza delle microplastiche come parametro da monitorare.
Se nel 2018 l'Organizzazione Mondiale della Sanità non raccomandava ancora un monitoraggio frequente delle microplastiche nell'acqua potabile, dopo due anni il sintomo crescente di questa necessità a livello europeo è dato dalla nuova Direttiva UE 2020/2184 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano. Questa costituisce il nuovo riferimento nazionale che gli Stati Membri devono recepire entro il 2023, in cui il controllo della presenza delle microplastiche diventa una priorità, per cui entro il 12 gennaio 2024 sarà richiesta l'armonizzazione dei metodi di analisi.

Per valutare l'impatto delle microplastiche negli ecosistemi lacustri occorre necessariamente applicare una visione olistica del problema. L'avvio di tale visione richiede l'elaborazione di un protocollo condiviso di monitoraggio che includa la raccolta di campioni, l'analisi e la caratterizzazione delle microplastiche isolate, e la gestione dei dati.

Occorre eseguire misurazioni stagionali per valutare la distribuzione spazio-temporale delle particelle nei sistemi lacustri, utilizzando metodi di campionamento armonizzati e una procedura coerente di gestione dei dati e dei metadati.
A seguito della collaborazione tra ENEA, ARPA UMBRIA e LEGAMBIENTE orientata al raggiungimento della standardizzazione e armonizzazione dei metodi di indagine sono stati realizzati e raggruppati in questo primo documento i protocolli per il campionamento e l'analisi delle microplastiche nelle diverse matrici esaminate: acque superficiali, colonna d'acqua e sedimenti di spiagge lacustri.

Il documento è strutturato in una sezione introduttiva sulle microplastiche nei sistemi lacustri che evidenzia lo stato di conoscenze, i limiti attuali e le nuove sfide; una sezione generale Blue Lakes sul contributo dell'attività di monitoraggio svolta nei primi due anni di progetto; e tre sezioni specifiche sul protocollo di ciascuna matrice, ognuna a loro volta è articolata in sub-sezioni funzionali alla descrizione delle fasi operative di campo e di laboratorio.

Nonostante i ritardi causati dall'emergenza-Covid19, che hanno determinato una riprogrammazione delle attività previste e di conseguenza una rimodulazione e spostamento di date, è stato possibile sviluppare il protocollo nella sua versione preliminare di sintesi al termine del primo anno di monitoraggio Blue Lakes nelle due aree pilota di Bracciano e Trasimeno. Come previsto il protocollo sarà implementato e testato in versione definitiva in ciascun lago pilota nel corso della seconda campagna di campionamento. Quest'ultima inoltre consente di consolidare la condivisione e diffusione del protocollo con i tecnici e personale delle altre Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente, che nell'estate 2022 parteciperanno al corso di formazione di tre giorni sul protocollo standardizzato di monitoraggio delle microplastiche. Questa prima ampia raccolta nazionale di dati stagionali sulla concentrazione di microplastiche nei principali laghi italiani con metodi armonizzati sarà condivisa a vari livelli in un sistema di gestione dati sviluppato ad hoc in grado di esportare le informazioni in esso contenute.

• INTRODUZIONE

La microplastica è considerata un contaminante ambientale che suscita crescente preoccupazione. L'uso ubiquitario degli oggetti di plastica in numerosi aspetti della vita umana ha portato a tassi di produzione di plastica in aumento a livello globale. La combinazione di tassi di produzione crescenti, longevità dei materiali, uso inappropriato o singolo di prodotti in plastica e gestione dei rifiuti insufficiente o inesistente porta all'introduzione di rifiuti di plastica nell'ambiente (GESAMP 2015; Lambert e Wagner 2018). Poiché la maggior parte dei polimeri plastici è ottimizzata per la durata, i rifiuti di plastica si accumulano nell'ambiente. Diversi studi hanno dimostrato che la plastica è diffusa in tutte le sfere ambientali, compresa l'atmosfera, la biosfera, criosfera, idrosfera e pedosfera. Ciò ha indotto a suggerire la plastica come indicatore stratigrafico del cosiddetto Antropocene, l'epoca in cui l'uomo ha dominato i processi geologici di superficie sulla terra (Zalasiewicz et al. 2016).
Le particelle di plastica nell'ambiente sono esposte a condizioni ambientali che ne favoriscono la degradazione. Questa degradazione porta alla continua frammentazione della plastica in unità più piccole, principalmente a causa della foto-ossidazione dei raggi UV e dell'abrasione meccanica. Quando le particelle di plastica raggiungono una dimensione <5 mm nel loro asse maggiore si definiscono

microplastiche (Thompson et al. 2004, Arthur et al. 2009). La continua frammentazione delle microplastiche può generare particelle <1 µm definite nano-plastiche (Koelmans et al. 2015). Oltre ad una produzione secondaria per frammentazione, sia le micro che le nanoplastiche presentano una produzione primaria nella rispettiva classe dimensionale per usi diversi, come scrub abrasivi nei cosmetici (GESAMP 2015) e particelle di supporto per farmaci (Stenzel 2021). Le particelle di plastica contenute in tali prodotti finiscono spesso nel sistema di drenaggio e possono poi entrare nell'ambiente.
La frammentazione di oggetti di plastica più grandi e l'introduzione di particelle di plastica prodotte a dimensioni microscopiche portano all'arricchimento di microplastiche in tutti i comparti ambientali. Mentre gli oceani del mondo rappresentano il serbatoio di raccolta finale per le microplastiche nell'ambiente, le acque dolci sono i principali percorsi per le microplastiche dalle loro fonti prevalentemente terrestri all'ambiente marino. Gli organismi di tutti i livelli trofici incontrano le microplastiche nei loro habitat e possono ingerirle accidentalmente o intenzionalmente. Oltre agli effetti negativi sull'organismo ricevente, le microplastiche possono essere accumulate e amplificate all'interno della catena alimentare e quindi essere presenti nel cibo umano.
A causa dell'incertezza per i possibili rischi connessi alla salute dei consumatori, le microplastiche sono oggetto di numerosi dibattiti da parte delle autorità competenti. In linea con le procedure del regolamento REACH per la restrizione di sostanze che presentano un rischio per l'ambiente e la salute, il 20 marzo 2019 la Commissione ha chiesto all'ECHA di valutare i dati scientifici che giustificano un'azione normativa a livello UE in merito alle microplastiche aggiunte intenzionalmente a prodotti di qualsiasi tipo. Se adottata questa restrizione potrebbe ridurre la quantità di microplastiche rilasciate nell'ambiente nell'UE di circa 400 mila tonnellate in 20 anni.
Tuttavia, non è del tutto chiaro fino a che punto le microplastiche rappresentino un rischio per la funzione dell'ecosistema o per la salute umana, ciò è in parte dovuto alla mancanza di dati coerenti sull'abbondanza di microplastiche nell'ambiente. Il confronto dei dati tra i diversi studi è tuttora limitato dalla mancanza di armonizzazione metodica tra i gruppi di lavoro e da una quantità complessiva di dati ancora insufficiente. Soprattutto le acque dolci sono sottorappresentate nella ricerca sulle microplastiche, nonostante esse comprendano importanti fonti di immissione per la stretta relazione con le attività antropiche. Inoltre, i dati presenti nelle acque dolci sono per lo più limitati a particelle relativamente grandi (>300 µm) campionate sulla superficie dei corpi idrici solo una quota piuttosto piccola della quantità complessiva di microplastiche nelle acque dolci è stata caratterizzata. In tale contesto risulta determinante il ruolo della ricerca nell'intraprendere indagini integrate per quantificare la presenza di microplastiche nelle acque interne e comprendere il contributo specifico delle diverse fonti urbane, terrestri, idriche e atmosferiche necessario a definire soluzioni tecniche e interventi normativi funzionali alla gestione di un fenomeno complesso nella sua dinamica.

• OBIETTIVI, CAMPO DI APPLICAZIONE E SVILUPPO

Questo deliverable è inserito nel quadro delle attività di monitoraggio del progetto Blue Lakes finalizzate a raccogliere dati sulla concentrazione e diffusione delle microplastiche nella matrice acqua e sedimenti di spiagge del lago Trasimeno e del lago di Bracciano attraverso l'implementazione e la condivisione di un protocollo

sviluppato per standardizzare le procedure di prelievo dei campioni e di analisi in laboratorio, oltre che armonizzare i metodi.
I due laghi scelti come modelli per il progetto Blue Lakes sono stati oggetto di indagine già da alcuni anni da parte di ENEA e Legambiente attraverso le campagne di campionamento di microplastiche della Goletta dei Laghi. Ottimizzando l'esperienza e i risultati ottenuti dalle precedenti campagne, è stato possibile integrare dati ed elaborare informazioni funzionali alle due fasi di pianificazione del protocollo di monitoraggio.
Nella fase di **ANALISI PRELIMINARE** sono state esaminate le condizioni locali di ciascun lago: le caratteristiche geomorfologiche,climatiche, la direzione e intensità dei venti prevalenti, la distribuzione delle aree maggiormente antropizzate; sulla base di questa indagine sono state identificate aree di accumulo e zone critiche, e stimate le possibili fonti di inquinamento in relazione alla presenza di attività antropiche locali. Nella valutazione generale dell'area di studio un importante aspetto riguarda la disponibilità e tipologia di mezzi e le relative autorizzazioni per la navigazione, come nel caso specifico di Bracciano e Trasimeno entrambi Parchi Regionali con limiti di navigabilità.
Questa fase dello studio ha permesso la definizione di un **DISEGNO DI MONITORAGGIO** comprensivo delle indicazioni relative a numero e posizione dei transetti rappresentativi della dimensione superficiale di ciascun lago, della presenza di aree di hot-spot e di bianco rispetto ad attività antropiche; alla frequenza e tempistica di ogni campionamento in relazione alla variabilità stagionale dei siti. L'elaborazione delle informazioni acquisite ha contribuito a delineare per entrambi i laghi pilota 5 transetti in acqua e 4 sulle spiagge, e di programmare nel primo anno di monitoraggio 4 campagne di campionamento nelle diverse stagioni (estate 2020, autunno 2020, inverno 2021, primavera 2021) funzionali a comprendere la variabilità nella presenza e distribuzione delle microplastiche associata ai percorsi di flusso nelle diverse condizioni ambientali.
Quindi integrando pratiche comuni individuate in letteratura con l'attività di monitoraggio dei laghi pilota è stata sviluppata una procedura operativa standard per il campionamento e l'estrazione di microplastiche dall'acqua e dai sedimenti di spiagge. Per ogni matrice ambientale è stato elaborato sia un protocollo operativo di campionamento con descrizione delle attrezzature necessarie sia un protocollo operativo di analisi dei campioni prelevati.

• PROTOCOLLO MONITORAGGIO ACQUE SUPERFICIALI

L'attività di monitoraggio stagionale svolto nel primo anno oltre ad ampliare il database sulle microplastiche nelle due aree-pilota, ha permesso:

- di valutare due diversi campionatori, retino Manta e retino Bongo, utilizzati per eseguire rispettivamente retinate in orizzontale e verticale;
- di testare l'idoneità del retino Bongo nel campionamento di superficie;
- di confrontare maglie di dimensioni diverse: Manta con maglie di dimensioni di 330 micron e Bongo con maglie di 100 micron;
- di verificare le specifiche peculiarità di ciascun retino (peso, assetto, vuoto di maglia) e valutare la migliore funzionalità anche in termini di manovrabilità e di recupero del campione;
- di ottimizzare tempo e risorse in previsione di trasferimento del protocollo ai tecnici ARPA.

○ Protocollo operativo di campionamento

■ Strumentazione e attrezzatura

- Retino Manta (maglia 330µm-apertura bocca 40x20 cm)
- Retino Bongo (maglia 100µm-diametro di ciascun anello 25 cm)
- GPS
- Scheda dati di campo
- Setaccio 0,1 mm
- Soluzione di perossido d'idrogeno
- Vaschetta
- Spruzzetta
- Pinzette in acciaio
- Cucchiaio di metallo
- Imbuto acciaio
- Barattoli in vetro con coperchio metallico (da 0,5 o 1l)
- Pennarello indelebile
- Etichette per barattoli di vetro
- Corde
- Pennarello indelebile/Matite
- Macchina fotografica
- Batterie di scorta flussimetro

■ Procedura

In ciascun lago-pilota su ogni transetto sono state effettuate trainate da 20 minuti e successiva replica, calando entrambi i retini al di fuori della scia del motore. Nella retinata con il Bongo uno dei due campioni prelevati è stato considerato come replica e quindi analizzato separatamente.

In ogni trainata prima di calare i due retini è necessario segnare il numero indicato sui rispettivi flussimetri. In generale, si deve avere cura di segnare i seguenti dati di campo secondo la scheda di campo riportato come esempio in Appendice:

- Data campionamento
- ID transetto
- ID campione
- Orario inizio-fine campionamento
- Waypoint di inizio-intermedi-fine transetto
- Velocità di navigazione (tra 2 e 3 nodi)
- Direzione di navigazione (controcorrente-controvento)
- Direzione del vento
- Numero giri flussimetro, prima e dopo aver calato i retini
- Tipologia rete campionatore
- Condizioni meteorologiche al momento della navigazione (si sconsiglia di campionare con vento sostenuto) e dei giorni precedenti (indicare eventi di pioggia)
- Etichettare il campione
- Note relative al campione (se già sono visibili particelle plastiche, presenza di eventuale materiale organico come macrofite che bloccano

flussimetro

Al termine di ogni retinata i due campionatori vengono recuperati a bordo dove si procede a sciacquare con acqua dall'alto verso il basso e dall'esterno per pulire ogni retino e convogliare tutto il materiale raccolto nelle maglie verso i collettori. In seguito il campione viene raccolto in contenitori di vetro risciacquando attentamente le pareti dei collettori con acqua distillata. Come prima cosa pezzi più grandi di materiale biologico, inclusi ad esempio foglie, insetti, alghe più grandi o legno vengono prelevati dai campioni con pinzette metalliche e accuratamente risciacquati con acqua distillata, che viene raccolta nuovamente nel contenitore per evitare la perdita di microplastiche.
Particelle di plastica più grandi, meso- (>0,5-< 2,5 cm) e/o macro-(> 2,5 cm), vengono prelevati e sciacquati allo stesso modo, ma invece di kscartarli vengono contati e conservati per ulteriori analisi. Infine il campione raccolto nel collettore viene accuratamente trasferito nei barattoli conservati al buio e in condizioni refrigerate in attesa di trasferirli in laboratorio. Una volta in laboratorio i campioni vengono congelati a -20°C fino alla successiva analisi.

Nota su contaminazione e biosicurezza

Durante il campionamento e la manipolazione dei campioni, è importante identificare potenziali fonti di contaminazione dei campioni ambientali raccolti. Il rischio maggiore è associato alla contaminazione aerotrasportata, in particolare le fibre sintetiche derivanti da indumenti, attrezzi e ricadute atmosferiche. Ridurre la contaminazione durante il campionamento in barca può essere difficile, tuttavia è sufficiente prendere in considerazioni alcune misure precauzionali. Per mitigare i rischi le possibili fonti di contaminazione possono essere eliminate o ridotte pulendo tutte le attrezzature prima di ogni campionamento; se possibile indossare indumenti o tute e guanti di cotone; prendere nota del tipo e del colore dei vestiti indossati dagli operatori; preferire l'uso di materiali non plastici.
Spesso in barca a causa dei limiti di peso gli oggetti in vetro possono costituire un problema e i contenitori di plastica sono l'alternativa più conveniente. In questi casi, è opportuno riempire alcuni contenitori con acqua del lago da utilizzare come campioni bianchi. Questi seguiranno le stesse procedure di laboratorio di tutti gli altri campioni e serviranno come valutazione della contaminazione a bordo.
Per valutare la contaminazione aerotrasportata, è consigliato posizionare dei filtri di controllo intorno all'area di lavoro del campionamento.
Infine, dopo ogni campionamento effettuare in laboratorio una disinfezione delle reti e delle corde utilizzate con la nebulizzazione di una soluzione di diluita di e sciacquare abbondantemente con acqua, al fine di eliminare eventuali uova/cisti/propaguli di specie aliene invasive rimasti attaccati alle reti e corde e prevenire la diffusione in altri corpi idrici monitorati.

○ Protocollo operativo di analisi

■ Strumentazione

- Piastra Petri in vetro
- Pinzette in acciaio punta sottile
- Ago
- Stereomicroscopio dotato di fotocamera

- Provette per conservazione particelle
- Pennarello indelebile
- Setacci in acciaio inox (diametro 100 mm e vuoto di maglia 1 e 0,15 mm)
- Guida fotografica riconoscimento microplastiche
- Scheda dati

Procedura

Se i campioni sono stati congelati, scongelarli a temperatura ambiente. I campioni di microplastiche in fase acquosa sono solitamente un concentrato di particolato sospeso nell'acqua residua. Questa complessa miscela è costituita principalmente da materiale organico biogenico. Pertanto, è necessario purificare i campioni poiché l'efficacia e la velocità dell'analisi successiva dipenderanno in gran parte dallo stato di purificazione dei campioni stessi.
La digestione della materia organica biogena viene solitamente condotta applicando diversi agenti chimici o enzimi.

- Se la quantità di contenuto organico è bassa, i campioni vengono setacciati direttamente come riportato di seguito nelle fasi di separazione e sorting.
- Se la quantità di contenuto organico è elevata per consentire l'esame diretto, i campioni vengono pre-filtrati utilizzando un setaccio da 0,1 mm e trasferiti in una beuta da 200 ml. Viene eseguito un pre-trattamento del campione con una soluzione al 30% di perossido di idrogeno per la digestione dei tessuti. La soluzione viene aggiunta in rapporto volume campione:soluzione 1:1 per digerire il materiale biologico. La miscela viene posta in forno a temperatura controllata di 40°C per 48 ore fino a un massimo di 72. È molto importante non superare la temperatura raccomandata come riportato in letteratura, l'alta temperatura potrebbe degradare e ridurre il tasso di recupero di alcuni polimeri.
- Se la digestione della materia organica non è stata completata, potrebbe essere necessaria un'ulteriore fase di separazione per densità. Tale procedura viene eseguita qualora la digestione della materia organica non sia completa: si consiglia pertanto di utilizzare una soluzione satura di cloruro di sodio (NaCl – 1.2 g cm-3),in cui i polimeri meno densi galleggiano facilitando così la loro separazione. Tuttavia, questo metodo non consente la separazione di polimeri più densi come il cloruro di polivinile (PVC) o il polietilene tereftalato (PET). In tal caso occorre utilizzare una soluzione di NaI (4,4 M), con una densità di circa 1,6 g cm-3.

- ***Separazione***

- Indossare abbigliamento da laboratorio in cotone per limitare le contaminazioni ambientali causate principalmente da fibre sintetiche
- Impilare i due setacci in acciaio inox : 1000 µm (superiore) e 150 µm (inferiore)
- Sotto scorrimento di acqua distillata procedere versando il campione sui setacci e pulendo tutto l'eventuale materiale organico presente per facilitare il distacco e la caduta di particelle plastiche eventualmente adese
- Sciacquare più volte il contenitore del campione per essere sicuri di aver rimosso tutte le particelle dalle sue pareti

- Con l'aiuto di una spruzzetta raccogliere il materiale su di un punto del setaccio e con pinzetta e cucchiaio in acciaio versare il materiale nelle provette aiutandosi con imbuto da laboratorio in vetro
- Osservare le maglie del setaccio allo stereoscopio per assicurarsi di aver rimosso tutte le eventuali particelle microplastiche adese
- Annotare sulla superficie del barattolo: ID campione, frazione setaccio, data campionamento
- Raccogliere separatamente i due subcampioni setacciati: >1000 µm e 150 µm> e <1000.

- ***Osservazione e sorting***

- Indossare abbigliamento da laboratorio in cotone per limitare le contaminazioni ambientali causate principalmente da fibre sintetiche
- Versando di volta in volta una piccola aliquota in una piastra di Petri in vetro, procedere ad osservare allo stereomicroscopio ogni sub-campione precedentemente setacciato
- Una volta rinvenuta una particella rimuoverla dalla piastra Petri e depositarla in una piastra o vetrino puliti (senza il mezzo acquoso è più facile maneggiarla per la fotografia). Misurare e fotografare la particella. Trasferirla con pinzette in acciaio nella provetta o su capsula Petri

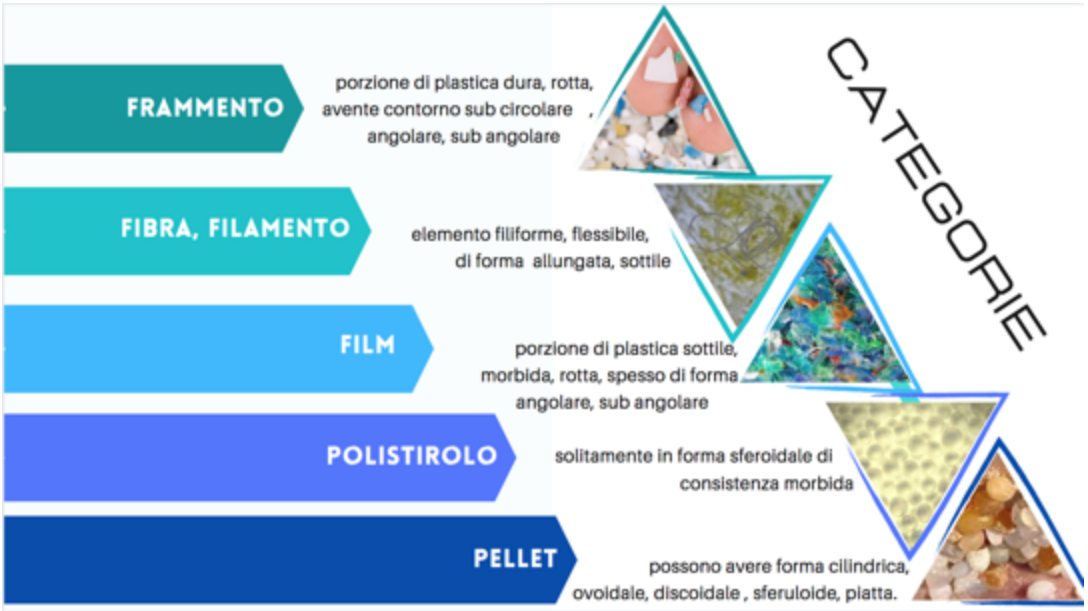
- ***Misurazione e registrazione dati***

Per armonizzare la procedura e standardizzare la metodologia, i criteri rilevanti da considerare durante l'identificazione e caratterizzazione delle particelle includono le proprietà fisiche (dimensione, tipo, colore) e chimiche (composizione polimerica). È ormai globalmente accettato che il valore di dimensione inferiore per le microplastiche sia 1 µm (Tabella in Allegato). Le attuali tecnologie di elaborazione consentono di identificare particelle fino a 10 µm (µ-FTIR con un rilevatore FPA) o fino a 1-2 µm (µ-RAMAN). I dati sulla microplastica dovrebbero essere registrati in tre classi dimensionali, che riflettono le attuali pratiche di campionamento e lavorazione, vale a dire: 1 ≤ 100 µm; 100 ≤ 350 µm e da 350 µm a ≤5 mm, in quanto ciò consentirebbe di confrontare più facilmente gli studi. Tuttavia, ai fini di questa attività di monitoraggio condiviso con ARPA, il limite di dimensione inferiore raccomandato per le microplastiche è di 100 µm.

- Per ogni particella si registrano su file:
  - ID subcampione
  - Data campionamento
  - Categoria particella (secondo la forma)
  - Dimensioni (diametro per le particelle sferiche/cilindriche, diametro di Feret per le particelle irregolari)
  - Colore
  - ID foto
  - Frazione in cui la particella è stata rinvenuta (>1000 µm e 150 µm-1000 µm)
  - Ulteriori informazioni (se associato ad altre particelle, biofilm presenti sulla superficie, possibile origine del frammento)

- ***Forma***

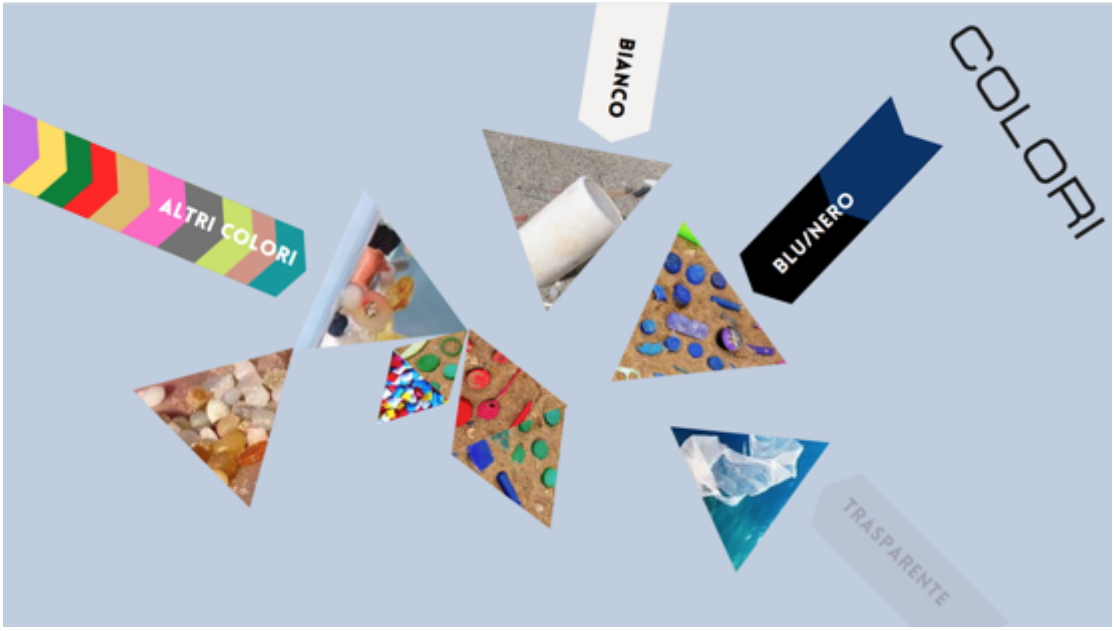
Questo criterio di caratterizzazione qualitativa dei campioni è basato sui tipi di forme maggiormente descritti in letteratura. Le categorie suggerite nel protocollo BLUE LAKES comunemente identificate nell'osservazione visiva sono le seguenti: frammento, filamento/fibra(tessile), film, pellet/beads, foam/pallina polistirolo.



- ***Colore***

Annotare il colore di tutte le particelle rinvenute secondo l'elenco che segue:

- nero/blu
- bianco
- trasparente
- altri colori (per questa categoria specificare nelle note di quale colore si tratta)



- ***Dimensioni***

Annotare la lunghezza delle particelle considerando il diametro di Feret ovvero la distanza più lunga tra due punti qualsiasi lungo il confine di selezione, noto anche come calibro massimo.
Tutte le particelle appartenenti alle classi dimensionali definite dai setacci (>1000 µm e >150 µm<1000 µm) vanno inserite insieme in una provetta apposita sulla cui superficie va scritto:

- ID campione (es: 1M)
- 1000 µm oppure >150 µm<1000 µm
- Data campionamento

- ***Composizione chimica***

L'identificazione dei polimeri può essere effettuata attraverso diverse tecniche di spettrometria (FT-IR; Raman) e gas-cromatografia(Py-GC MS). Nel monitoraggio BLUE LAKES si è scelto di utilizzare spettroscopia infrarossa in trasformata di Fourier a riflessione totale attenuata (ATR-FT-IR) per le microplastiche più grandi (*large microplastics*, tabella riporta in Appendice) fino a 300µm, come classe dimensionale intermedia delle particelle più piccole. Si consiglia l'utilizzo di micro-FTIR e/o di micro-Raman per le microplastiche più piccole (*small microplastics*, tabella riporta in Appendice).
Sono necessari ulteriori progressi tecnologici per risolvere i problemi relativi al campionamento, all'elaborazione e all'identificazione del limite di intervallo molto più basso delle microplastiche 1-20 µm. Su questo problema delle dimensioni, una raccomandazione in futuro è quella di riportare i dati sulla microplastica in tre classi di dimensioni, che riflettono le attuali pratiche di campionamento e lavorazione, vale a dire: 1≤100µm; 100≤350µm e da 350µm a ≤5mm, in quanto ciò consentirebbe di confrontare più facilmente gli studi. È probabile che i programmi di monitoraggio attuali e futuri riporteranno in gran parte microplastiche ≥100µm e, dove viene monitorata solo l'acqua superficiale, microplastiche ≥300µm.

Controllo contaminazione

Indossare camici da laboratorio in cotone pulito e guanti in nitrile durante tutte le fasi della procedura. Filtrare con filtri di vetro (GF/C, dimensione dei pori 1.2 µm, Whatman) tutte le soluzioni utilizzate per evitare ogni possibile contaminazione. Durante l'osservazione allo stereomicroscopio, predisporre una capsula Petri pulita aperta con filtro vergine vicino all'operatore per rilevare la possibilità di deposizione atmosferica ed eseguire regolarmente controlli procedurali del bianco sulla procedura di estrazione delle particelle.

● PROTOCOLLO MONITORAGGIO COLONNA

I dati provenienti solo da attività di monitoraggio delle acque superficiali non forniscono un quadro completo della quantità di microplastiche nell'acqua. In letteratura le indagini sulla presenza di microplastica all'interno della colonna d'acqua hanno ricevuto meno attenzione rispetto agli studi sulle microplastiche nelle acque superficiali. Molte di queste indagini sono limitate ai campioni prelevati a pochi metri sotto la superficie, mentre com'è noto l'eterogeneità della distribuzione di microplastiche nella colonna d'acqua è soggetta agli strati di gradiente di densità

presenti nei sistemi acquatici nelle diverse stagioni. Pertanto nel primo anno di campionamento BLUE LAKES sono stati raccolti campioni stagionali di microplastiche superficiali con retino MANTA e contemporaneamente con retino Bongo trainato orizzontalmente attraverso la colonna d'acqua fino ad una profondità massima di 50 m nell'area-pilota del lago di Bracciano. Le procedure di campionamento e di analisi delle microplastiche in colonna sono state eseguite seguendo il protocollo del monitoraggio superficiale. Velocità e tempi di trainata, scelta dei transetti sono gli stessi.

● PROTOCOLLO MONITORAGGIO SEDIMENTI SPIAGGE

Le spiagge sono sistemi dinamici e come tali presentano condizioni in continua evoluzione nel corso delle stagioni. Pertanto occorre campionare i sedimenti per valutare, oltre alla quantità delle microplastiche presenti, la complessa dinamica di scambio tra ambiente terrestre e acquatico e migliorare la comprensione dei percorsi delle microplastiche negli ecosistemi lacustri.

○ Protocollo operativo di campionamento

■ Strumentazione e attrezzatura

- Campionatore cilindrico acciaio inox (5 cm Ø, 15 cm h) (meglio se dotato di stantuffo interno),
- GPS,
- Fettuccia metrica,
- Indicatori di vertice transetto (due asticelle),
- Cordino metrato,
- Barattoli in vetro con coperchio,
- Pennarello indelebile,
- Etichette per barattoli di vetro,
- Scheda campionamento del sito di indagine,
- Macchina fotografica/cellulare,
- Sacchetti per eventuali macro- e meso-plastiche.

■ Procedura

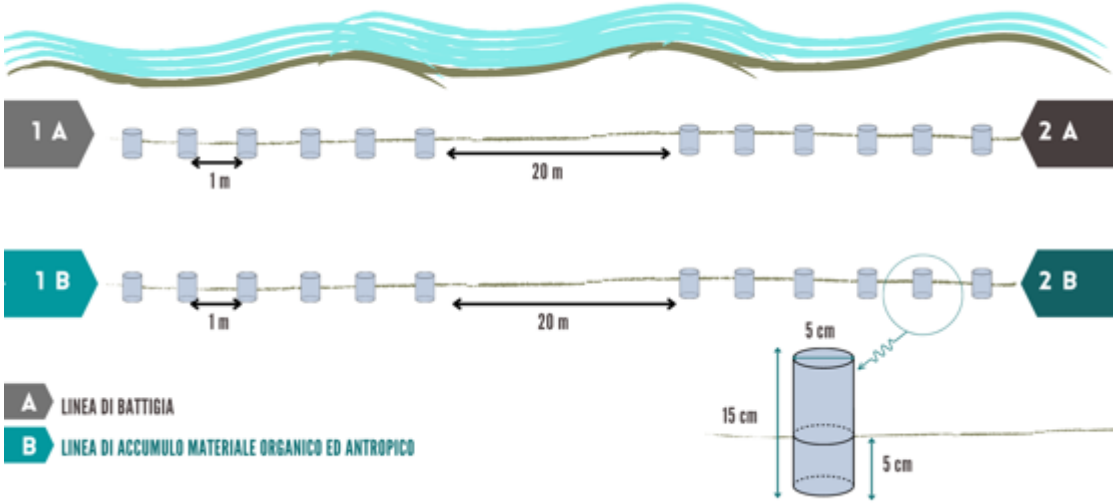
Sono stati scelti quattro siti di campionamento, spiagge rappresentative sia sul piano geomorfologico che per il loro utilizzo da parte dell'uomo.
Lo schema di campionamento utilizzato viene riprodotto nella Fig. 1. Per il prelievo dei sedimenti è stato utilizzato un carotatore cilindrico in metallo in acciaio inox di 5 cm di diametro e 15 cm di altezza.

Individuazione 2 transetti di campionamento: transetto della battigia (Linea A) e transetto di primo deposito materiale (Linea B).
Ogni transetto è composto da due sub-transetti che rappresentano le repliche dello stesso campione, distanziati l'uno dall'altro di almeno 20 m: 1A, 1B e 2A, 2B.
Entro ogni sub-transetto si effettuano 6 carotaggi, distanziati di 1 metro, inserendo il carotatore fino ad una profondità di 5 cm. Lunghezza totale del sub transetto = 5m.

Le 6 carote di sedimento raccolte vengono inserite in un barattolo di vetro avendo cura di annotare il nome del sub-transetto e la data di campionamento.
Rilevare le coordinate geografiche di inizio e fine transetto.
Annotare nella scheda di campo le seguenti note informative relative la stazione di campionamento:

- Data, ora di inizio e di fine campionamento;
- Condizioni metereologiche pregresse e al momento del campionamento;
- Eventuali input antropici (stabilimento balneare, scarichi fognari, attività ricreative e di ristorazioni limitrofe, ultima pulizia della spiaggia se conosciuta);

FIG 1: SCHEMA DI CAMPIONAMENTO SPIAGGE



○ Protocollo operativo di analisi

■ Strumentazione

- Vaschette in alluminio
- stufa o incubatore
- pinzette in acciaio
- setaccio in metallo con vaglio di maglia di 10 mm, 5 mm, 2,5 mm, 1 mm righello
- stereomicroscopio e fotocamera
- piccoli barattoli di vetro/capsule Petri
- etichette
- pennarello indelebile
- guida fotografica alle microplastiche
- scheda dati

■ Procedura

- ***Essiccazione***

Versare i campioni in vaschette di alluminio (dimensione 23X23X5 cm). Annotare sul fianco della vaschetta ID campione con pennarello indelebile. Essiccare i sedimenti in stufa a 70°C per 24 h. In mancanza di una stufa i campioni possono essere messi a temperatura ambiente coperti con carta d'alluminio per abbattere il tenore di umità (praticare dei fori per evitare condense e la crescita di muffe) e poi in incubatore microbiologico a 50°C per 5 giorni (togliere carta di alluminio).
Una volta essiccati i campioni sono pronti per essere setacciati. In attesa di setacciatura e sorting si possono riporre in un armadio chiuso avendo cura di ricoprire il campione con foglio di alluminio per evitare contaminazioni ambientali.

- ***Setacciatura***

Preparare una batteria di setacci con luce di maglia: 10 mm, 5 mm, 2,5 mm e 1 mm e riporla in una vaschetta. Versare il campione nel setaccio superiore. L'intera batteria viene così sottoposta all'azione di un agitatore meccanico per un periodo di circa 5 minuti, al fine di ottenere la completa vagliatura del materiale. Il campione si distribuirà nei setacci in virtù della granulometria della matrice e della grandezza delle particelle in esso contenute costituendo dei sub campioni.
Le particelle plastiche raccolte dai setacci verranno suddivise così in 5 classi dimensionali (scala Udden-Wentworth) (Fig. 2).

Processamento campioni

- ***Massa delle frazioni granulometriche***

Successivamente si procede alla stima del peso di ogni singola frazione trattenuta all'interno di ogni setaccio, valutandone la percentuale rispetto al peso totale iniziale per ogni singola classe granulometrica di appartenenza.

- ***Osservazione del campione e sorting***

L'attività di osservazione e separazione del materiale minerale, vegetale e animale dalle materie plastiche deve essere effettuata con camice da laboratorio in cotone.
È preferibile indossare al di sotto del camice indumenti in fibre naturali (colore bianco). Si consiglia di pulire il banco di lavoro con alcol denaturato.

Durante il tempo di analisi del campione lasciare in esposizione sul banco di lavoro una piastra Petri di controllo.
Avviare ad analisi solo le prime 4 frazioni granulometriche. L'ultima frazione (<1mm) va solo pesata e conservata per eventuali future analisi.
Per analizzare la piastra nella sua interezza procedere ad osservare il campione prima nel perimetro della capsula e poi spostarsi a mano a mano verso il centro.

- ***Misurazione particelle, registrazione dati***

In questa fase si procede ad osservare, misurare le particelle rinvenute di ogni subcampione e a registrare tutte le informazioni relative. Per ogni particella si registrano:

- Data campionamento
- Transetto
- ID campione
- ID subcampione (setaccio di provenienza=Frazione granulometrica in cui la particella è stata rinvenuta)
- ID particella/foto
- Dimensioni (diametro per le particelle sferiche/cilindriche, diametro di Feret per le particelle irregolari);
- Categoria particella (vedi sotto);
- Colore;
- **note** (descrivere morfologia della particella, biofilm presenti sulla superficie, possibile origine del frammento).

Dimensioni

Annotare la lunghezza delle particelle considerando il diametro di Feret ovvero la distanza più lunga tra due punti qualsiasi lungo il confine di selezione, noto anche come calibro massimo (Ferreira and Rasband, 2011).
Tutte le particelle appartenenti alla stessa categoria dimensionale vanno inserite insieme in una provetta apposita sulla cui superficie va scritto con pennarello indelebile:

- ID subcampione
- Data campionamento
- Elenco particelle trovate (su piastra Petri)

Schema di attribuzione ID particella per la registrazione su database fotografico e foglio dati

ID particella/foto: [nome replica campione] - [iniziale stagione di campionamento + anno campionamento] - [numero progressivo particella rinvenuta nel subcampione]

- **APPENDICE**

Immagine dei due campionatori utilizzati per il campionamento delle microplastistiche in acqua superficiale e in colonna. A sinistra il retino Bongo a destra il retino Manta.

Immagine dei due campionatori nel corso del campionamento di acque superficiali dell'area-pilota del lago di Bracciano utilizzati in parallelo e valutazione tecniche di manovrabilità e confronto dimensione maglia della reta. A sinistra il retino Manga (330µm); a destra il retino Bongo (100µm).

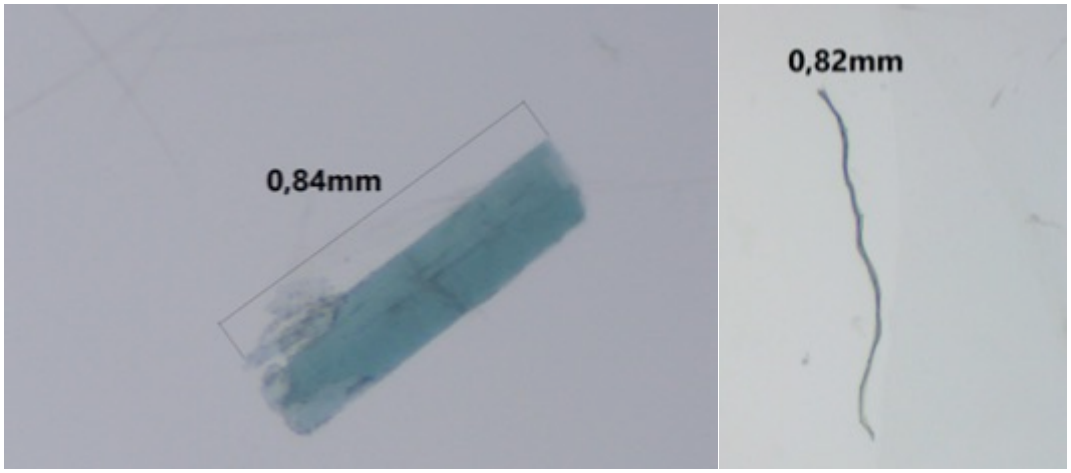
*Esempio di mappa dove sono numero e posizione dei transetti selezionati per il monitoraggio stagionale nell'area-pilota del Lago Trasimeno: **1**. Polvese (Breccola); **2.** Centro Lago; **3.** Monte del lago-Passignano; **4**. Castiglione del Lago; **5**. Tuoro sul Trasimeno.*

SURFACE WATER SAMPLING										PAGE ------OF------
FIELD STATE										NOTE
DATE	SITE ID	SITE DESCRIPTION	WIND DIRECTION	WIND SPEED	CURRENT DIRECTION	AIR TEMPERATURE	WATER TEMPERATUURE	RAINFALL		
MANTA NET TRAVEL										
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	FLOW METER	BOAT SPEED	BOAT DIRECTION	DISTANCE	VOLUME	
	START:									
	END:									
BONGO NET TRAVEL										
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	FLOW METER	BOAT SPEED	BOAT DIRECTION	DISTANCE	VOLUME	
	START:									
	END:									
MANTA NET TRAVEL										
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	FLOW METER	BOAT SPEED	BOAT DIRECTION	DISTANCE	VOLUME	
	START:									
	END:									
BONGO NET TRAVEL										
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	FLOW METER	BOAT SPEED	BOAT DIRECTION	DISTANCE	VOLUME	
	START:									
	END:									

Esempio di scheda di bordo sintetica per la registrazione dei dati di campo durante il campionamento delle microplastiche in acqua superficiale. Analoga struttura per la registrazione dei dati per il campionamento in colonna con il solo retino Bongo.

BEACH SEDIMENT SAMPLING									
FIELD STATE									
DATE	SITE ID	SITE DESCRIPTION	LAT (N)	LONG (E)	LENGTH	WIDTH	SEDIMENT TYPE-GRANULOMETRY	PERCENTAGE COVEREGE	BEACH TOPOGRAPHY
SEDIMENT COLLECTION									
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	AREA	STAFF NOTE			
	START:								
	END:								
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	AREA	STAFF NOTE			
	START:								
	END:								
TRANSECT ID	SAMPLING TIME		LAT	LONG	AREA	STAFF NOTE			
	START:								
	END:								

Esempio di scheda di campo sintetica per la registrazione dei dati durante il campionamento delle microplastiche nei sedimenti di spiaggia.



Esempi di immagine acquisite alla steromicroscopio in fase di sorting visivo di particelle selezionate e caratterizzate per forma dimensione e colore.

Definizione	Range dimensionale
Macroplastica	> 2,5 cm
Mesoplastica	5 mm - ≤ 2,5 cm
Large Microplastica	1 - ≤ 5 mm
Small Microplastica	1 µm - ≤ 1 mm
Nanoplastica	1 nm - ≤ 1 µm

Definizione delle diverse classi dimensionali in cui sono suddivise in letteratura le categorie di plastica presente nell'ambiente.

• BIBLIOGRAFIA

Akdogan, Z., Guven, B., **2019**. Microplastics in the environment: a critical review of current understanding and identification of future research needs. Environ. Pollut. 254, 24. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113011.

Alimi, O.S., Budarz, J.F., Hernandez, L.M., Tufenkji, N., **2018**. Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport. Environ. Sci. Technol. 52 (4), 1704–1724. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05559.

Araujo, C.F., Nolasco, M.M., Ribeiro, A.M.P., Ribeiro-Claro, P.J.A., **2018**. Identification of microplastics using Raman spectroscopy: latest developments and future prospects. Water Res. 142, 426–440. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.060.

Ballent, A., Purser, A., de Jesus Mendes, P., Pando, S. and Thomsen, L. **2012.** Physical transport properties of marine microplastic pollution. Biogeosciences Discuss., 9, 18755–18798,

Barrows, A.P.W., Neumann, C.A., Berger, M.L., Shaw, S.D., **2017**. Grab vs. neuston tow net: a microplastic sampling performance comparison and possible advances in the field. Anal. Methods 9 (9), 1446–1453. https://doi.org/10.1039/c6ay02387h.

Brander, S.M., Renick, V.C., Foley, M.M., Steele, C., Woo, M., Lusher, A., Carr, S., Helm, P., Box, C., Cherniak, S.L., Andrews, R.C., Rochman, C., **2020**. Sampling and QA/QC: a guide for scientists investigating the occurrence of microplastics across matrices. Appl. Spectrosc. 74 (9), 1099–1125. https://doi.org/10.1177/0003702820945713.

Carpenter, E.J., Smith, K.L., **1972**. Plastics on the Sargasso Sea Surface. Science 175, 1240–1241. https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1240

de la Fuente, R., Drótos, G., Hernández-García, E., López, C., and van Sebille, E.: Sinking microplastics in the water column: simulations in the Mediterranean Sea, Ocean Sci., 17, 431–453, https://doi.org/10.5194/os-17-431-2021, 2021.

Dris, R., Imhof, H., Sanchez, W., Gasperi, J., Galgani, F., Tassin, B., Laforsch, C., **2015**. Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-)plastic parti- cles. Environ. Chem. 12 (5), 539–550. https://doi.org/10.1071/EN14172.

Ferreira, T. and Rasband, W. **2011**: ImageJ User Guide IJ 1.45m, 179 pp.

Frias, J.P.G.L, Nash, R., (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. Marine Pollution Bulletin 138, pp. 145-147. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022

GESAMP, **2019**. Guidelines or the monitoring and assessment of plastic litter and microplastics in the ocean (Kershaw P.J., Turra A. and Galgani F. editors), (IMO/FAO/UNESCO- IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP/ISA Joint Group of

Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Stud. GESAMP No. 99, 130p.

Gigault, J., Halle, A.T., Baudrimont, M., Pascal, P.Y., Gauffre, F., Phi, T.L., El Hadri, H., Grassl, B., Reynaud, S., **2018**. Current opinion: what is a nanoplastic? Environ. Pollut. 235, 1030–1034. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024.

Gong, J., Xie, P., **2020**. Research progress in sources, analytical methods, eco-environmental effects, and control measures of microplastics. Chemosphere 254. https://doi.org/ 10.1016/j.chemosphere.2020.126790.

Hanvey, J.S., Lewis, P.J., Lavers, J.L., Crosbie, N.D., Pozo, K., Clarke, B.O., **2017**. A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. Anal. Methods 9 (9), 1369–1383. https://doi.org/10.1039/c6ay02707e.

Hartmann, N.B., Hüffer, T., Thompson, R.C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L., Wagner, M., **2019**. Are we speaking the same language? Recommenda- tions for a definition and categorization framework for plastic debris. Environ. Sci. Technol. 53 (3), 1039–1047. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297.

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. En- viron. Sci. Technol. 46 (6), 3060–3075. https://doi.org/10.1021/es2031505.

Imhof, H.K., Schmid, J., Niessner, R., Ivleva, N.P., Laforsch, C., 2012. A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments. Limnology and Oceanography-Methods 10, 524–537. https://doi.org/ 10.4319/lom.2012.10.524.

Käppler, A., Fischer, D., Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K.J., Voit, B.,2016. Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? Anal. Bioanal. Chem. 408 (29), 8377–8391. https://doi.org/10.1007/ s00216-016-9956-3.

Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C.K., Romano, N., Bin Ho, Y., Salamatinia, B., **2017**. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. Sci. Total Environ. 578, 485–494. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.213.

Koelmans, A.A., Nor, N.H.M., Hermsen, E., Kooi, M., Mintenig, S.M., De France, J., **2019**. Microplastics in freshwaters and drinking water: critical review and assessment of data quality. Water Res. 155, 410–422. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.054.

Lambert, S., Wagner, M., **2018**. Microplastics Are Contaminants of Emerging Concern in Freshwater Environments: An Overview, in: Wagner, M., Lambert, S. (Eds.), Freshwater Microplastics, The Handbook of Environmental Chemistry. Springer International Publishing, Cham, pp. 1– 23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_1

Lenaker, P.L., Baldwin, A.K., Corsi, S.R., Mason, S.A., Reneau, P.C., Scott, J.W., 2019. Vertical distribution of microplastics in the water column and surficial sediment from the Mil- waukee River basin to Lake Michigan. Environ. Sci. Technol. 53 (21), 12227–12237.https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03850.

Li, C.R., Busquets, R., Campos, L.C., **2020**. Assessment of microplastics in freshwater systems: a review. Sci. Total Environ. 707, 12. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135578.

Li, J., Liu, H., Paul Chen, J., **2018**. Microplastics in freshwater systems: a review on occur- rence, environmental effects, and methods for microplastics detection. Water Res. 137, 362–374. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.056.

Loder, M.G.J., Imhof, H.K., Ladehoff, M., Loschel, L.A., Lorenz, C., Mintenig, S., Piehl, S., Primpke, S., Schrank, I., Laforsch, C., Gerdts, G., 2017. Enzymatic purification of microplastics in en- vironmental samples. Environ. Sci. Technol. 51 (24), 14283–14292. https://doi.org/ 10.1021/acs.est.7b03055.

Lu, H-C., Ziajahromi, S., Neale,P.A.,Leusch F.D.L., **2021.** A systematic review of freshwater microplastics in water and sediments: Recommendations for harmonisation to enhance future study comparisons. Sci. Total Environ. 781,146693. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146693

Mai, L., Bao, L.J., Shi, L., Wong, C.S., Zeng, E.Y., **2018**. A review of methods for measuring microplastics in aquatic environments. Environ. Sci. Pollut. Res. 25 (12), 11319–11332.https://doi.org/10.1007/s11356-018-1692-0.

Mendoza, L.M.R., Balcer, M., 2019. Microplastics in freshwater environments: a review of quantification assessment. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 113, 402–408.https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.020.

PlasticsEurope, **2020**. Plastics - the Facts 2020. An analysis of European plastics production, demand and waste data. https://www.plasticseurope.org/download_file/force/4261/181

Prata, J.C., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., 2019. Methods for sampling and de- tection of microplastics in water and sediment: a critical review. TrAC - Trends in An- alytical Chemistry 110, 150–159. https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029.

Sighicelli, M., Pietrelli, L., Lecce, F., Iannilli, V., Falconieri, M., Coscia, L., Di Vito, S., Nuglio, S., Zampetti, G., **2018**. Microplastic pollution in the surface waters of Italian Subalpine Lakes. Environ. Pollut. 236, 645–651. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.02.008.

Stock, F., Kochleus, C., Bansch-Baltruschat, B., Brennholt, N., Reifferscheid, G., 2019. Sam- pling techniques and preparation methods for microplastic analyses in the aquatic environment - a review. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 113, 84–92. https:// doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.014.

Strungaru, S.A., Jijie, R., Nicoara, M., Plavan, G., Faggio, C., 2019. Micro- (nano) plastics in freshwater ecosystems: abundance, toxicological impact and

quantification method- ology. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 110, 116–128. https://doi.org/10.1016/j. trac.2018.10.025.

Szymańska, M., Obolewski, K., 2020. Microplastics as contaminants in freshwater environ- ments: a multidisciplinary review. Ecohydrol. Hydrobiol. https://doi.org/10.1016/j. ecohyd.2020.05.001.

Uurasjarvi, E., Hartikainen, S., Setala, O., Lehtiniemi, M., Koistinen, A., 2020. Microplastic concentrations, size distribution, and polymer types in the surface waters of a north- ern European lake. Water Environ. Res. 92 (1), 149–156. https://doi.org/10.1002/ wer.1229.

Wagner, M., Scherer, C., Alvarez-Muñoz, D., Brennholt, N., Bourrain, X., Buchinger, S., Fries, E., Grosbois, C., Klasmeier, J., Marti, T., Rodriguez-Mozaz, S., Urbatzka, R., Vethaak, A.D., Winther-Nielsen, M., Reifferscheid, G., 2014. Microplastics in freshwater ecosys- tems: what we know and what we need to know. Environ. Sci. Eur. 26 (1), 1–9.https://doi.org/10.1186/s12302-014-0012-7.

Wong, J.K.H., Lee, K.K., Tang, K.H.D., Yap, P.S., 2020 Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. Sci. Total Environ. 719. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137512.

Xu, J.L., Thomas, K.V., Luo, Z., Gowen, A.A., 2019. FTIR and Raman imaging for microplastics analysis: state of the art, challenges and prospects. TrAC - Trends in Analytical Chem- istry 119. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115629.

Yao, P., Zhou, B., Lu, Y.H., Yin, Y., Zong, Y.Q., Chen, M.T., O'Donnell, Z., 2019. A review of microplastics in sediments: spatial and temporal occurrences, biological effects, and an- alytic methods. Quat. Int. 519, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.quaint.2019.03.028.

Zbyszewski, M., Corcoran, P.L., 2011. Distribution and degradation of fresh water plastic particles along the beaches of Lake Huron, Canada. Water Air Soil Pollut. 220 (1–4), 365–372. https://doi.org/10.1007/s11270-011-0760-6.

Zhang, K., Su, J., Xiong, X., Wu, X., Wu, C., Liu, J., 2016. Microplastic pollution of lakeshore sediments from remote lakes in Tibet Plateau, China. Environ. Pollut. 219, 450–455.https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.048.

Zhang, S., Wang, J., Liu, X., Qu, F., Wang, X., Wang, X., Li, Y., Sun, Y., 2019a. Microplastics in the environment: a review of analytical methods, distribution, and biological effects. TrAC - Trends in Analytical Chemistry 111, 62–72. https://doi.org/10.1016/j. trac.2018.12.002.

Zalasiewicz, J., Waters, C.N., Ivar do Sul, J.A., Corcoran, P.L., Barnosky, A.D., Cearreta, A., Edgeworth, M., Gałuszka, A., Jeandel, C., Leinfelder, R., McNeill, J.R., Steffen, W., Summerhayes, C., Wa- greich, M., Williams, M., Wolfe, A.P., Yonan, Y., **2016**. The geological cycle of plastics and their use as a stratigraphic indicator of the Anthropocene. Anthropocene 13, 4–17. https://doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.002