

U. Cornelli, C. Casella, M. Recchia, S.J. Ballaz, G. Zanoni

RIASSUNTO

Le microplastiche (MPs) e le nanoplastiche (NPs) sono diventate i più comuni neoinquinanti del globo terracqueo.

Molto raramente gli alimenti di qualsiasi genere (animali o vegetali) e l'aria sono privi di queste sostanze. MPs e NPs sono, per propria natura, composti molto stabili con limitata tendenza a reagire, ma nel tempo le condizioni dell'ambiente consentono la depolimerizzazione delle MPs in frammenti con pesi molecolari di circa decine di nanometri (nm), le NPs.

In termini dimensionali, da 1 μ m a 5 mm sono definibili MPs, mentre al disotto di 1 μ m sono classificabili come NPs.

Queste ultime sono più biodisponibili delle MPs e possono esercitare un effetto tossico più marcato, innescando processi infiammatori, caratteristica comune di questi inquinanti.

Infatti, gli studi di cinetica hanno dimostrato la presenza di frammenti di MPs/NPs nel sangue e nei restanti organi e Tessuti umani con effetti proinfiammatori, genotossici e neurotossici.

Sono state documentate lesioni aterosclerotiche, nonché malattie gastrointestinali dovute alla loro presenza, al punto da essere identificate come possibili agenti coadiuvanti di neoplasie.

Mentre è molto difficile "liberare" l'ambiente (atmosfera, terra, acqua) da questi inquinanti, si può limitarne la biodisponibilità "intrappolandoli" nel Tratto gastrointestinale con una fibra cationica naturale, Plastikdren (Guna).

Plastikdren si è dimostrato in grado di legare le MPs/NPs e consentire l'intrappolamento delle particelle al suo l'interno, aumentando la loro eliminazione.

 In questo studio si riportano i dati rilevati in esperimenti in vitro dove, per ottenere informazioni di tipo strutturale/morfologico, è stata utilizzata la microscopia elettronica a scansione (SEM).

Per quanto concerne il conteggio delle MPs, è stata utilizzata la stereomicroscopia.

 I risultati dell'indagine dimostrano che Plastikdren consente di legare agevolmente le MPs/NPs.

PAROLE CHIAVE

GASTROENTERICO, INQUINAMENTO, MI-CROPLASTICHE, NANOPLASTICHE, PLA-STIKDREN

SUMMARY: Microplastics (MPs) and nanoplastics (NPs) have become the most common neopollutants on the globe. Very rarely food of any kind (animal or vegetable) and the air are free of these substances. MPs and NPs are, by their nature, very stable compounds with a limited tendency to react, but over time, environmental conditions allow MPs to depolymerise into fragments with molecular weights in the tens of nanometres (nm), the NPs.

IL SAPORE DELLA PLASTICA: LE MICROPLASTICHE E LE NANOPLASTICHE NEGLI ALIMENTI – LORO EFFETTI E PROTEZION

- LORO EFFETTI E PROTEZIONE CON PLASTIKDREN

- SECONDA PARTE

THE TASTE OF PLASTIC: MICROPLASTICS AND NANOPLASTICS IN FOOD.

- THEIR EFFECTS AND PROTECTION WITH PLASTIKDREN

- SECOND PART

ggetto di questa ricerca è la dimostrazione *in vitro*, attraverso l'utilizzo della **microscopia elettronica a scansione** (SEM, Scanning Electron Microscopy) e l'analisi stereomicroscopica, del legame tra Plastikdren e le MPs/NPs.

MATERIALI E METODI SPERIMENTALI

Come prototipo delle plastiche è stato utilizzato **HDPE** (**Polietilene ad alta densità**), tra i più comuni inquinanti e

In terms of size, from 1 µm to 5 mm are definable as MPs, while below 1 µm they are classifiable as NPs. The latter are more bioavailable than MPs and can exert a more pronounced toxic effect, triggering inflammatory processes, a common feature of these pollutants.

Indeed, kinetics studies have shown the presence of MPs/NPs fragments in blood and in the rest of human organs and Tissues with proinflammatory, genotoxic and neurotoxic effects.

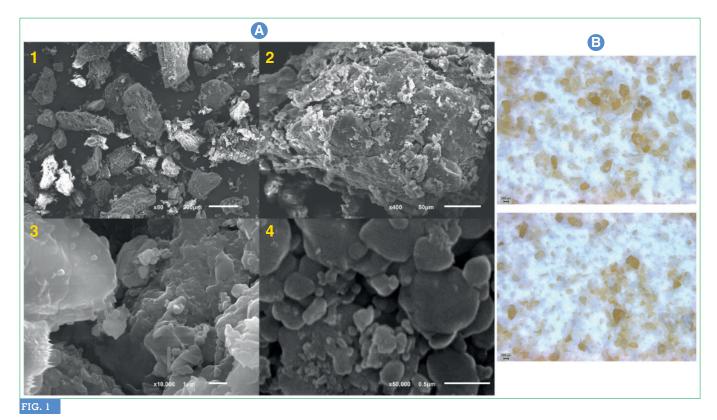
Atherosclerotic lesions as well as gastrointestinal diseases have been documented due to their presence, to the point of being identified as possible adjuvant agents of neoplasms.

While it appears to be very difficult to "rid" the environment (atmosphere, soil, water) of these

pollutants, attempts are being made to limit their bioavailability by "trapping" them in the gastrointestinal tract with a natural cationic fibre, Plastikdren (Guna), which has been shown to bind MPs/NPs and thus allow them to be trapped inside, increasing their elimination.

- In this study, data from in vitro experiments are reported; scanning electron microscopy (SEM) was used to obtain structural/morphological information, while for counting MPs, stereomicroscopy was used.
- The results of the investigation show that Plastikdren can easily bind MPs/NPs.

KEY WORDS: GASTROENTERIC APPARATUS, POLLUTION, MICROPLASTICS, NANOPLASTICS, PLASTIKDREN



Caratteristiche di Plastikdren: analisi SEM e stereomicroscopica.

- Legenda:

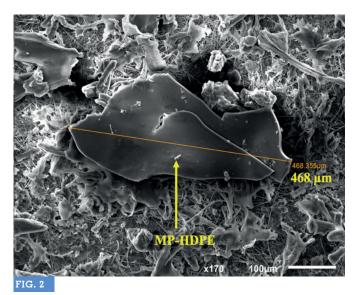
A) Plastikdren visualizzzato al SEM, a diversi ingrandimenti (1: x80; 2: x400; 3: x10.000; 4: x50.000); B) Plastikdren (giallo-arancio) visualizzato in stereomicroscopia.

con <u>caratteristiche lipofile simili</u> a quelle delle MPs presenti negli alimenti.

 Le MPs di HDPE sono state ottenute utilizzando tappi di plastica di colore viola delle bottiglie di acqua minerale.

Il materiale è stato finemente triturato con l'ausilio di Cgoldenwall (*High Speed Grinder* 2400 W a 28.000 rpm) per 5 volte, con intervalli di 3 minuti/triturazione, per evitare il sovra-riscaldamento del materiale.

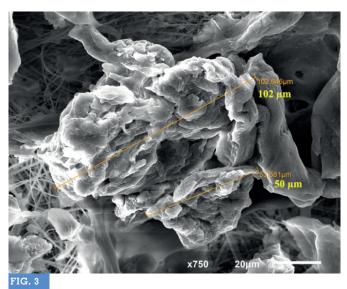
- Una volta ottenute le MPs di HDPE



MPs ottenute dalla triturazione di HPDE (immagini SEM).

- Legenda:

Le dimensioni sono parametrate al valore in basso a destra.



MP di HDPE completamente avvolta da Plastikdren alla concentrazione di 1mg/mL.

- Legenda:

Le dimensioni sono parametrate al valore in basso a destra.

polverizzate si è proceduto all'isolamento delle microparticelle attraverso un set di setacci in acciaio, caratterizzati da griglie di diverse dimensioni (500, 250, 100, 20 µm), che consentono di isolare le MPs di HDPE in funzione delle loro dimensioni.

- L'intervallo di concentrazione di Plastikdren usato per studiarne il comportamento di interazione con le MPs di HDPE variava da 0,5 a 30 mg/mL. Plastikdren (85% di deacetilazione), è stato completamente sciolto in una soluzione 0,1 N di HCl.
- scopio elettronico a scansione (SEM) JEOL 6610LV con microanalisi. Per l'esame di stereomicroscopia è stato utilizzato uno strumento semiautomatico (Leica M205 FA) con fotocamera digitale a colori ad alta risoluzione (Leica DFC310 FX; 1,4 Mpixel, CCD) collegata.

- Per l'esame è stato utilizzato il Micro-

Per la quantificazione del numero di MPs di HDPE in ciascun campione, si è fatto uso del *software* ImageJ (Confocal UniOvi ImageJ - Fiji) che consente anche di stimare le <u>dimensioni</u> delle <u>fibre</u> e dei <u>frammenti amorfi</u> derivanti dalla triturazione di HDPE.

Per le misurazioni del pH, è stato utilizzato un pHmetro da banco (ORP sensION+ PH3 - HACH).

- Fluido gastrico simulato (SGF)

Il SGF è stato preparato utilizzando 8,3 mL di HCl 0,1 N (37% - VWR Chemicals) e 0,5 g di NaCl (99% - Fluka Analytical) in 1 L di acqua distillata filtrata.

Gli esperimenti sono stati condotti con l'apparecchiatura Flocculation Tester JLT6 - VELP Scientifica; Jar Test. Il Jar Test è dotato di 6 posizioni per bic-

chieri in vetro con display digitale, un

sistema elettronico di regolazione della velocità (10-300 giri/min) ed un *timer* programmabile (0-99 h).

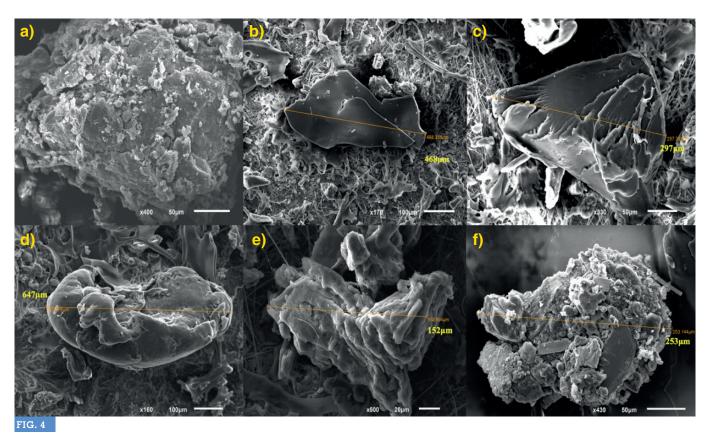
– Plastikdren è stato aggiunto nelle quantità sperimentali (da 0,5 a 30 mg/mL) e sottoposto ad agitazione compresa tra 70 e 80 rpm.

Successivamente, è stato concesso un periodo di sedimentazione di 1 ora. Infine, il surnatante è stato filtrato sottovuoto utilizzando filtri in microfibra di vetro, poro 0,7 µm - Whatman).

La garanzia di qualità e controllo di qualità (QA/QC) sono state condotte secondo standard internazionali (1,2). Tutti gli esperimenti e le analisi sono stati condotti almeno in duplicato.

RISULTATI

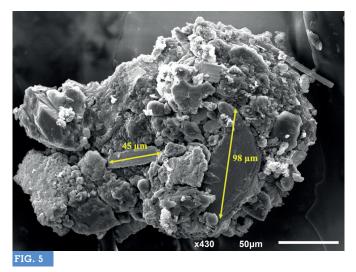
La prima caratteristica analizzata è stato



Legami tra Plastikdren e MP di HDPE.

- Legenda:

a) particella di Plastikdren come tale a 1,0 mg/mL; b) MP di HDPE come tale <500 μ m; c) MP di HDPE <500 μ m parzialmente avvolta da Plastikdren; d) MP di HDPE >500 μ m parzialmente ricoperta da Plastikdren; e) MP di HDPE (150 μ m \approx) completamente ricoperta di Plastikdren; f) agglomerato di più MPs di HDPE di dimensioni di 50-100 μ m \approx (parti lisce) con Plastikdren che forma una struttura con diametro di dimensioni pari a 250 μ m \approx .



Agglomerato di Plastikdren contenente più MPs di HDPE.

Legenda

Le dimensioni relative sono parametrate sul valore riportato in basso a destra; le parti lisce sono MPs di HDPE.

il **legame** tra **Plastikdren** e **HDPE** attraverso il SEM.

Come suddetto, HDPE è una plastica di colore viola che si evidenzia molto bene alla successiva analisi allo stereomicroscopio.

La FIG. 1 mostra le caratteristiche di Plastikdren analizzate al SEM e alla stereomicroscopia.

L'esame stereomicroscopico evidenzia che in Plastikdren non sono presenti MPs di HDPE o di altri polimeri (messi in risalto con colori diversi: viola, nero, giallo e grigio, caratteristici delle più comuni MPs).

La FIG. 2 evidenzia la struttura dei frammenti di HDPE del campione di controllo in seguito a frammentazione sino alle dimensioni di studio $(500 \ \mu m \approx)$.

• Si noti come le particelle delle dimensioni di NPs (<100 nm) vengano <u>quasi totalmente</u> intrappolate da Plastikdren (FIG. 3).

In FIGG. 4,5 sono riportate alcune immagini SEM relative alla combinazione tra MPs di HDPE e Plastikdren usando MPs

di differenti dimensioni ottenute dai vari setacci: quello da 500 μm conterrà fibre >500 μm, quello da 200 μm conterrà fibre da 200 a 500 μm.

– In altri termini, ogni materiale filtrato avrà dimensioni intermedie tra i limiti dimensionali dei setacci.

Attraverso la successiva analisi stereomicroscopica è stato possibile valutare l'entità dell'intrappolamento delle MPs di HDPE da parte di Plastikdren, sulla base delle differenze di colore tra HDPE (viola) e Plastikdren (giallo-arancio) utilizzando un set standardizzato di valutazione delle immagini (UniOvi ImajeJ).

Le immagini esemplificative sono riportate in FIG. 6.

- Dalle immagini dell'analisi stereomicroscopica, risulta evidente l'intrappolamento delle MPs di HDPE da parte di Plastikdren; non esiste infatti una separazione netta tra i polimeri.
- Sono state valutate differenti concentrazioni di MPs di HDPE in presenza di Plastikdren a 1,0 mg/mL.
 I dati sono riportati in TAB. 1.

Si osserva che alle concentrazioni di MPs di HDPE tra 0,5 e 1 mg/L, almeno l'80% è intrappolato da Plastikdren alla concentrazione di 1,0 mg/mL.

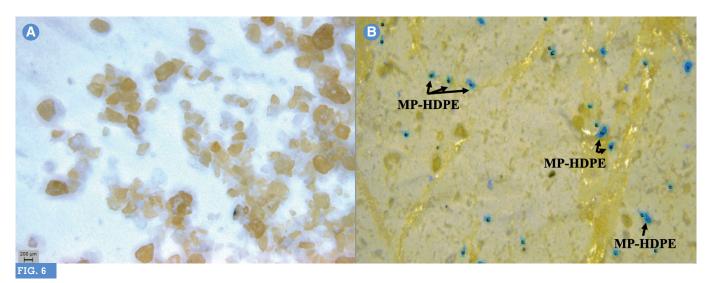


Immagine dell'intrappolamento delle MPs di HDPE da parte di Plastikdren.

– Legenda:

A) particelle di Plastikdren; Plastikdren ha colore giallo-arancio; B) le MPs di HDPE sono caratterizzate dal colore blu-viola.

Concentrazioni di MPs di HDPE superiori a 2 mg/L sono difficilmente raggiungibili nell'ambiente.

DISCUSSIONE

La presenza ubiquitaria delle MPs e delle NPs è un dato incontrovertibile. La limitazione dei loro contenuti atmosferici, nel suolo, negli alimenti e nelle acque rappresenta una sfida per oggi e per il futuro.

– Questi polimeri si sono "inseriti" nell'ambiente e, seppure rappresentino una parte importante del progresso umano, si stanno "insinuando" nel nostro meta-organismo.

Le conseguenze cominciano ad essere evidenti non solo nella forma di patologie comprovate, ma anche in altre ancora in gran parte sconosciute.

In effetti, siamo solo agli albori dello studio del rapporto plastiche/ambiente/organismo umano.

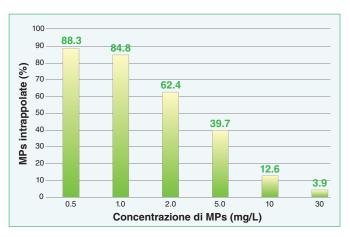
– È assodata la loro estraneità biologica.

Si parla di "Era della plastica", della quale poco si conosce; una cosa è certa: queste sostanze non sono utilizzabili come fonte calorica, né hanno valore coenzimatico e devono essere considerate sostanze tossiche a tutti gli effetti.

– Una buona parte delle MPs/NPs hanno caratteristiche comuni, come la **lipofilia** che le rende biocompatibili e tali che, quando i loro polimeri sono di dimensioni considerevolmente ridotte (<100 nm), possono facilmente diventare biodisponibili.

La loro genesi è da identificare innanzitutto con le MPs che dovrebbero essere considerate il punto di partenza per la prevenzione degli effetti delle NPs.

Plastikdren è in grado di intrappolare polimeri di dimensione elevata, quali le MPs; a maggior ragione intrappola polimeri di dimensione molto più ridotta, quali le NPs.



TAB. 1
Percentuali di intrappolamento delle MPs di HDPE, alla concentrazione

di 1.0 ma/mL di

Plastikdren.

Le MPs e ancor più le NPs causano reattività cellulare (stress ossidativo, liberazione di mediatori dell'infiammazione, ecc.) nelle cellule direttamente a contatto (enterociti, pneumociti, ecc.) e in quelle reattive come i macrofagi.

 Tale comportamento le rende causa di malattie cardiovascolari, gastrointestinali ed altre patologie.

In attesa di una loro declinazione accurata da parte degli Enti proposti alla sicurezza alimentare (EFSA), è fondamentale evitare il più possibile che le MPs/NPs entrino nel nostro organismo.

Anche se si arriverà a definire i minimi accettabili di assunzione di queste particelle, questo resterà sempre un compromesso tra ciò che è possibile e ciò che è dannoso.

• Plastikdren sembra possedere le caratteristiche idonee a questo scopo; si è già dimostrato utile a legare sostanze con valenza tossica assunte con l'alimentazione (ad es. lipidi ossidati) e limitare i processi ossidativi/infiammatori da questi prodotti.

CONCLUSIONI

Mentre il problema dell'inquinamento ambientale/alimentare di questi contaminanti emergenti è molto complesso, quello della loro biodisponibilità può essere risolto più agevolmente a livello dell'assorbimento gastrointestinale.

- Nelle esperienze condotte in vitro, su

fluidi che simulano l'ambiente gastrico, si è osservato che <u>Plastikdren è in grado di intrappolare le MPs</u> limitando di conseguenza la loro biodisponibilità (esempio nella forma di NPs) e <u>aumentarne</u> l'escrezione fecale.

 Le esperienze in vivo sono in corso di pubblicazione e confermano la capacità di Plastikdren di aumentare l'escrezione fecale delle MPs.

La PRIMA PARTE dell'elaborato è stata pubblicata in La Med. Biol., 2025/2.
 www.medibio.it → La Medicina Biologica.

Bibliografia

- Kutralam-Muniasamy G. et Al. Common laboratory reagents: Are they a double-edged sword in microplastics research? Sci. Total Environ., 875, 162610; 2023.
- Shruti, V. C., Kutralam-Muniasamy G. Blanks and bias in microplastic research: Implications for future quality assurance. Trends Environ. Anal. Chem., e00203; 2023.

Riferimento bibliografico

CORNELLI U., CASELLA C., REC-CHIA M., BALLAZ S.J., ZANONI G. – Il sapore della plastica: le microplastiche e le nanoplastiche negli alimenti.

- Loro effetti e protezione con Plastikdren.
- Seconda ParteLa Med. Biol., 2025/3; 3-7.

Primo autore

Prof. Umberto Cornelli

Loyola University School of Medicine Chicago - USA