



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE

Microplastiche nei pesci del Nord Est Atlantico: potenziali effetti biologici nei pesci e rischi per la salute pubblica associati alla loro ingestione

Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure

Tesi di Laurea di:
Chiara Galizia

Docente Referente
Prof.ssa Maura Benedetti

Sessione straordinaria

A.A. 2019/2020

Abstract

L'ingestione delle microplastiche da parte dei pesci rappresenta un fenomeno estremamente diffuso. Circa il 25% degli organismi pescati ed analizzati presentano almeno una particella di plastica all'interno dei propri tessuti il che vuol dire un pesce su quattro. Il polimero che viene rinvenuto di più generalmente è il polietilene e la tipologia di polimeri che misuriamo all'interno degli organismi marini riflettono la presenza di queste particelle in ambiente. La presenza di microplastiche nello stomaco dei pesci consumati dall'uomo, oltre a rappresentare un problema per gli organismi, rappresenta un rischio per la salute umana, poiché potrebbero essere trasferite all'uomo e causare tutta una serie di risposte biologiche e cellulari del tutto sconosciute. In questo studio, dei 150 pesci destinati al consumo umano, il 49% presenta al suo interno microplastiche. Gli organismi che contengono queste particelle, presentano anche un aumento dell'attività dell'enzima acetilcolinesterasi nel cervello e anche un aumento del danno ossidativo ai lipidi. Secondo delle stime dell'EFSA e del NOAA, l'assunzione di MPs attraverso il consumo del pescato è di circa 518-3078 MP per persona/per anno. Considerando che la via di ingresso delle microplastiche nel corpo umano non avviene solamente tramite l'ingestione questa ricerca sottolinea come sia fondamentale enfatizzare il bisogno di effettuare ulteriori studi e ricerche per conoscere il reale rischio associato all'assunzione di queste particelle e per limitarne l'ingestione anche attraverso l'adozione di misure di contenimento. Una possibile soluzione utile sia per preservare l'integrità degli ecosistemi che la salute umana, sarebbe quella di implementare l'utilizzo di plastiche totalmente biodegradabili. Da qui nasce l'esigenza di sensibilizzare i consumatori all'acquisto di prodotti che privilegino materiali riutilizzabili e una nuova etica dei consumi.

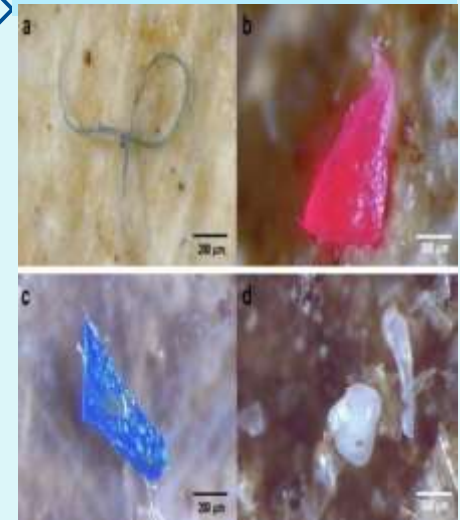
Introduzione

Nell'ultimo secolo la produzione di plastica ha toccato i 320 milioni di tonnellate all'anno e si stima che circa un terzo di questa finisca nei mari creando delle vere e proprie aree di accumulo chiamate Gyres.

La plastica esposta ai molteplici agenti atmosferici come la fotodegradazione, e all'azione meccanica delle onde, inizia a frammentarsi dando origine a piccolissime particelle: le microplastiche che possono assorbire gli inquinanti presenti in mare, diventano veicoli di sostanze tossiche. Le microplastiche possono essere scambiate per plancton e una volta ingerite dalla fauna marina possono provocare effetti tossici.

Cosa sono le microplastiche?

Attenendoci alla definizione dell'EFSA (European Food Safety Authority), si parla di microplastiche riferendoci alle particelle di dimensioni comprese tra i 5 millimetri e gli 0,1 micrometri.



Alcuni studi effettuati sugli organismi marini hanno destato preoccupazione per la capacità delle microplastiche di indurre effetti sul sistema nervoso. I pesci esposti a queste particelle, infatti, mostrano danni al sistema nervoso e alterazioni del comportamento.

SCOPO DEL LAVORO

1. Analizzare la contaminazione delle MPs su specie commerciali come: *Dicentrarchus Labrax* (spigola europea), *Trachurus trachurus* (sugarello atlantico) e *Scomber colias* (sgombro) provenienti dall'Oceano Atlantico Nord-Orientale, e dalle acque costiere portoghesi Nord-Occidentali.
2. Valutare gli effetti neurotossici e i danni ossidativi ai lipidi negli organismi in relazione alla presenza di MPs
3. Effettuare una stima sull'assunzione di MP nell'uomo, attraverso il consumo di pesce e contribuire alla valutazione dei possibili rischi per la salute umana.

MATERIALI

Raccolta dei campioni

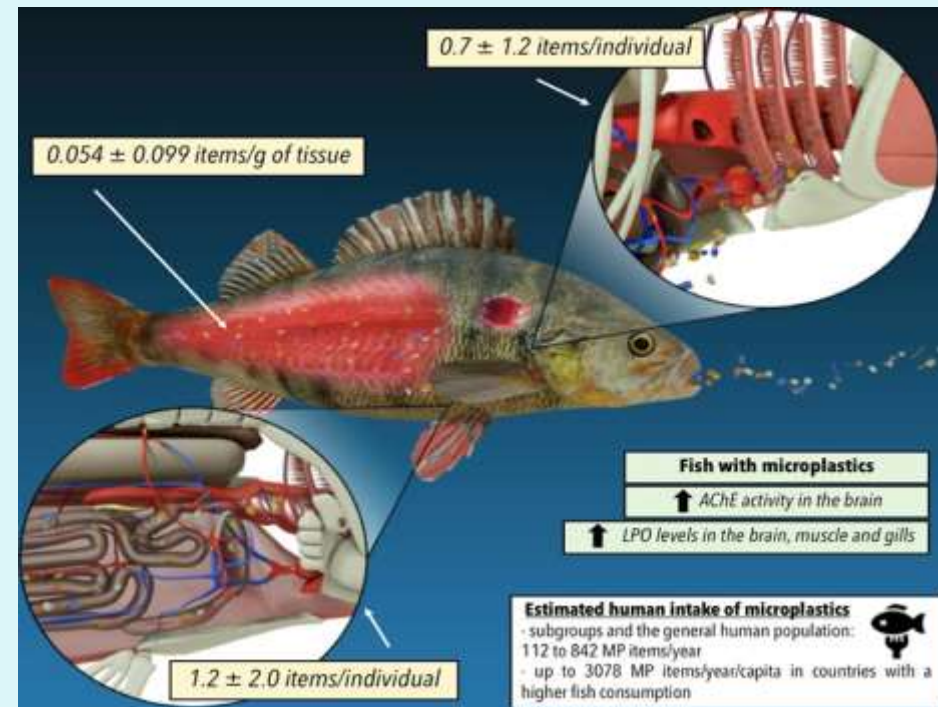
Per questo studio sono stati pescati 150 pesci, *D. labrax* (spigola europea), *T. trachurus* (sugarello atlantico), *S. colias* (cavedano atlantico) con reti da traino nel Nord-Ovest Atlantico, e acque costiere Portoghesi, nel periodo tra marzo e aprile 2018.

Determinazione del contenuto di microplastiche nel:

- Intero tratto gastrointestinale
- Tre archi branchiali
- Muscolo dorsale

Analisi dei biomarker:

- Cervello
- Branchie
- Muscolo dorsale



Selezionare e caratterizzare le particelle plastiche recuperate dagli organismi:

- colore (blu, corallo, bianco, giallo, rosso, rosa)
- forma (frammenti irregolari, palline, fibre sottili e allungate)
- dimensioni basate sulla loro sezione trasversale (<100 µm; 101– 150 µm; 151–500 µm; 501–1500 µm; 1501–3000 µm; 3001– 5000 µm).

METODI

L'esposizione umana alle microplastiche attraverso il consumo di pesce

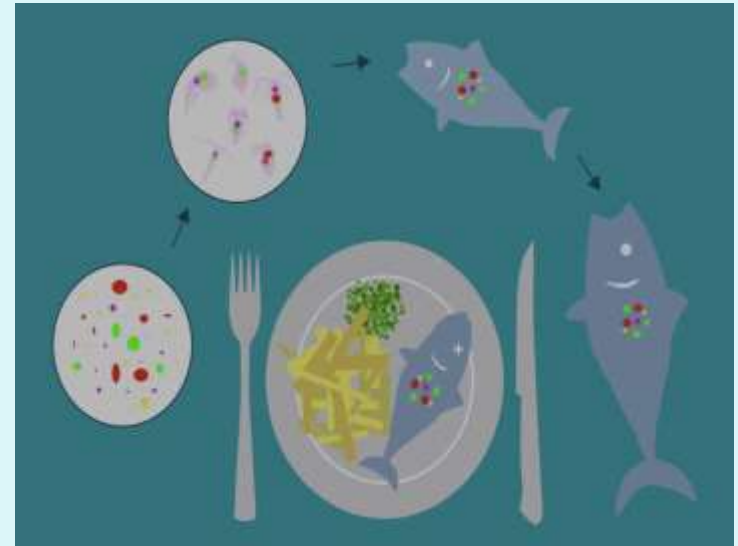
la stima è stata fatta utilizzando due approcci:

-Approccio proposto nelle raccomandazioni dell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA)

-Approccio scelto dall'Osservatorio del Mercato Europeo per i prodotti della pesca e dell'acquacoltura (EUMOFA) e dall'Amministrazione Nazionale per l'Osservazione Oceanica ed Atmosferica (NOAA)

Analisi statistica dei dati

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il pacchetto di analisi statistica SPSS (versione 24.0) e livello di significatività statistica $<0,05$. Come post hoc è stato utilizzato il test T di Student



METODI

Controllo della contaminazione

• **Ambiente e personale**

Al fine di evitare la contaminazione, gli strumenti, i piani di lavoro del laboratorio sono stati puliti con etanolo al 70% e gli stessi operatori si sono muniti di camici in cotone e guanti in nitrile.

• **Campioni**

La parte esterna del pesce è stata lavata due volte con acqua pura e una volta con etanolo per eliminare qualsiasi particella di plastica adesiva alla superficie.

Per valutare ed escludere qualsiasi contaminazione da agenti esterni durante le procedure di estrazione è stata utilizzata la tecnica con il bianco.



Determinazione dei Biomarker nei pesci

I parametri analizzati sono stati:

- il fattore di condizione di Fulton che permette di confrontare pesci di taglia e peso simile;
- l'attività di acetilcolinesterasi indicativa della funzione neuromuscolare;
- i livelli di perossidazione lipidica nel cervello, nei muscoli e nelle branchie.

RISULTATI

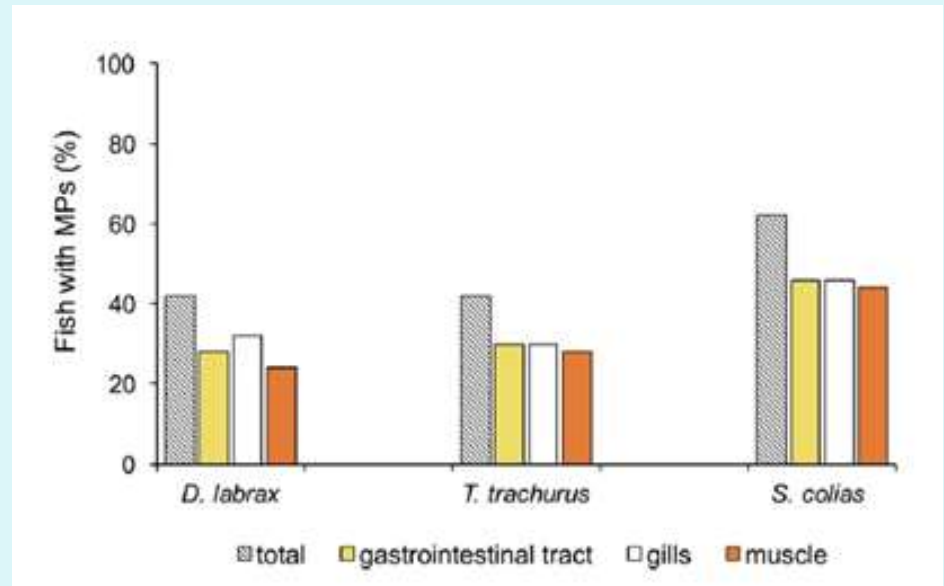
MICROPLASTICHE NEI PESCI

Ritrovati frammenti di microplastica in 73 dei 150 campioni esaminati:

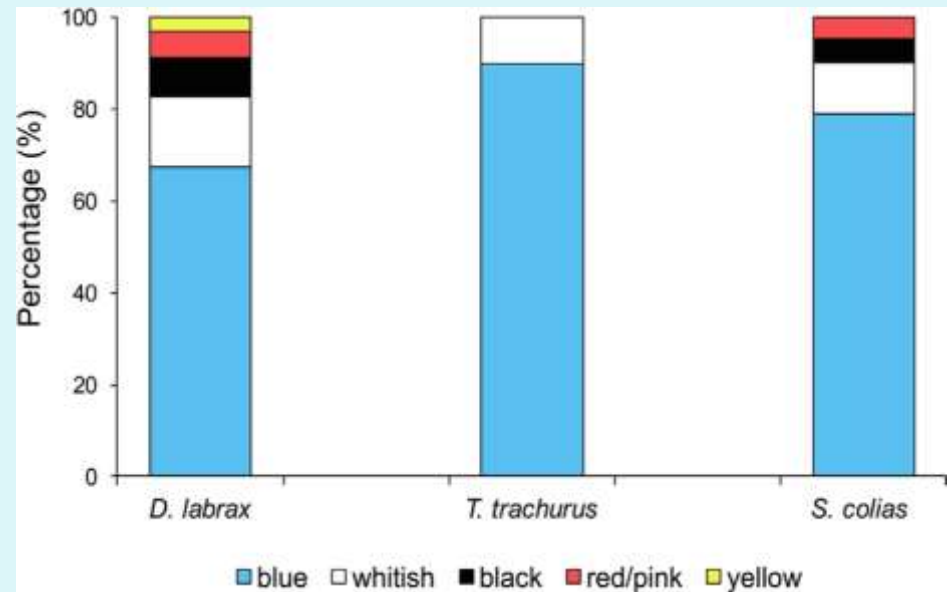
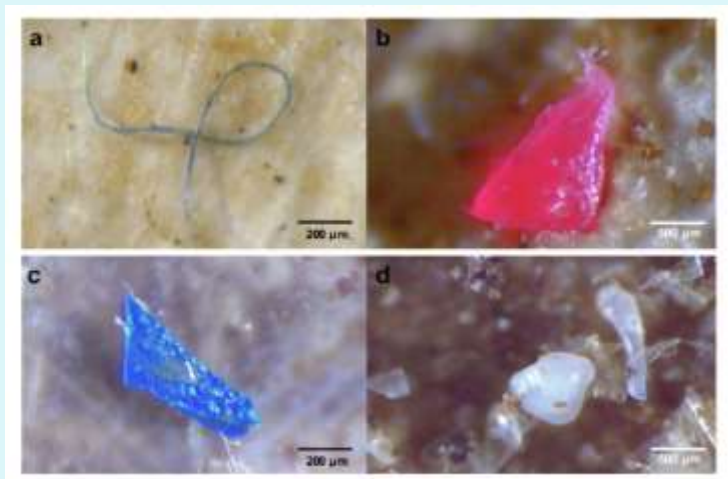
- 35% MP nel tratto gastrointestinale
- 36% MP nelle branchie
- 32% MP nel muscolo dorsale

Dai 150 campioni sono stati recuperati 368 frammenti di MP:

- 175 elementi di MP nel tratto gastrointestinale (48%)
- 112 elementi di MP nelle branchie (30%)
- 81 elementi di MP nel muscolo dorsale (22%)



RISULTATI



I campioni di *D. labrax* hanno microplastiche di 5 colori: blu (67%), biancastro (15%), nero (9%), rosso/rosa (6%) e giallo (3%).

Esemplari di *T. trachurus* hanno microplastiche blu (90%) e biancastre (10%).

I campioni di *S. colias* hanno microplastiche di 4 colori: blu (79%), biancastro (11%), nero (5%) e rosso/rosa (5%).

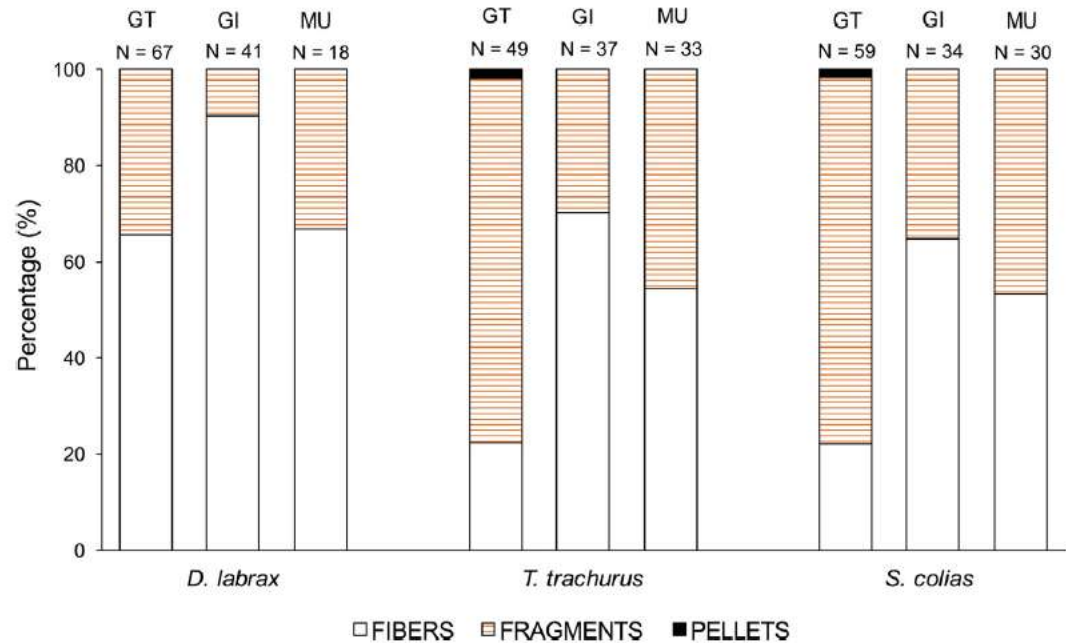
RISULTATI

Tipologia di MPs:

Le MPs presenti nei campioni di pesce sono: fibre, frammenti e pellet.

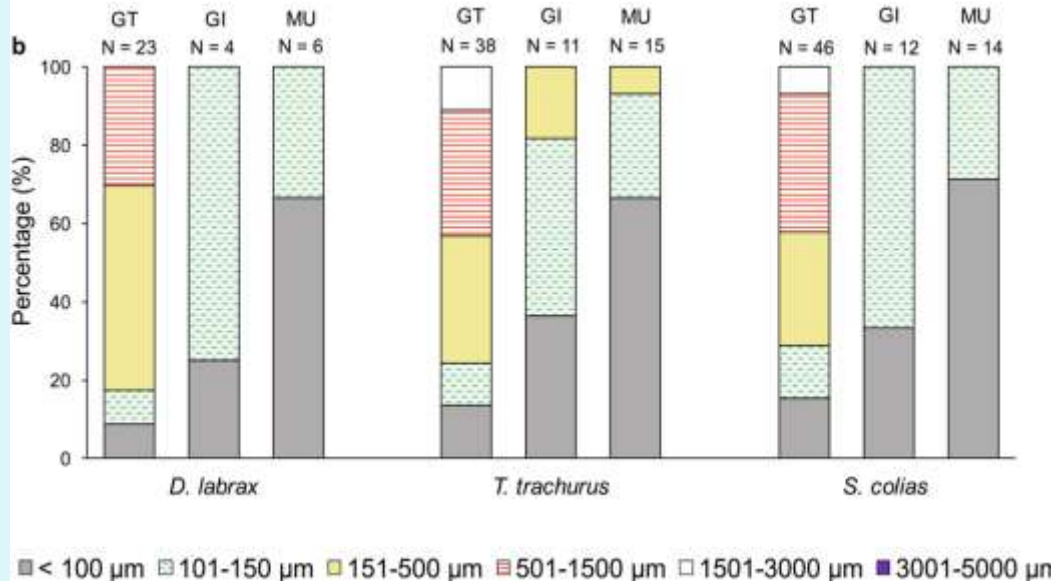
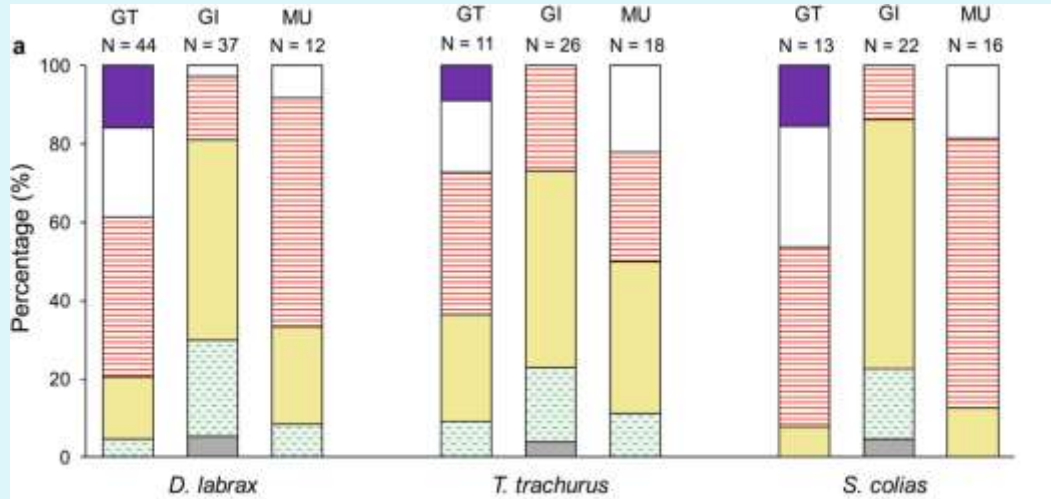
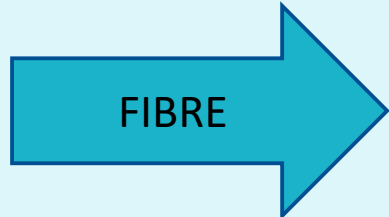
I campioni di *D. labrax* presentano più fibre (66%) che frammenti (>10%) nel tratto GT, GI e MU.

Gli esemplari di *T. trachurus* e *S. colias* presentano più frammenti (76%) rispetto a fibre (22%) e pellet (2%) nel tratto GT, più fibre che frammenti nelle GI e approssimativamente la stessa percentuale di fibre e frammenti nel MU.



RISULTATI

Percentuale di fibre e frammenti trovati in *D. labrax*, *T. trachurus*, *S. colias* e percentuale delle classi dimensionali



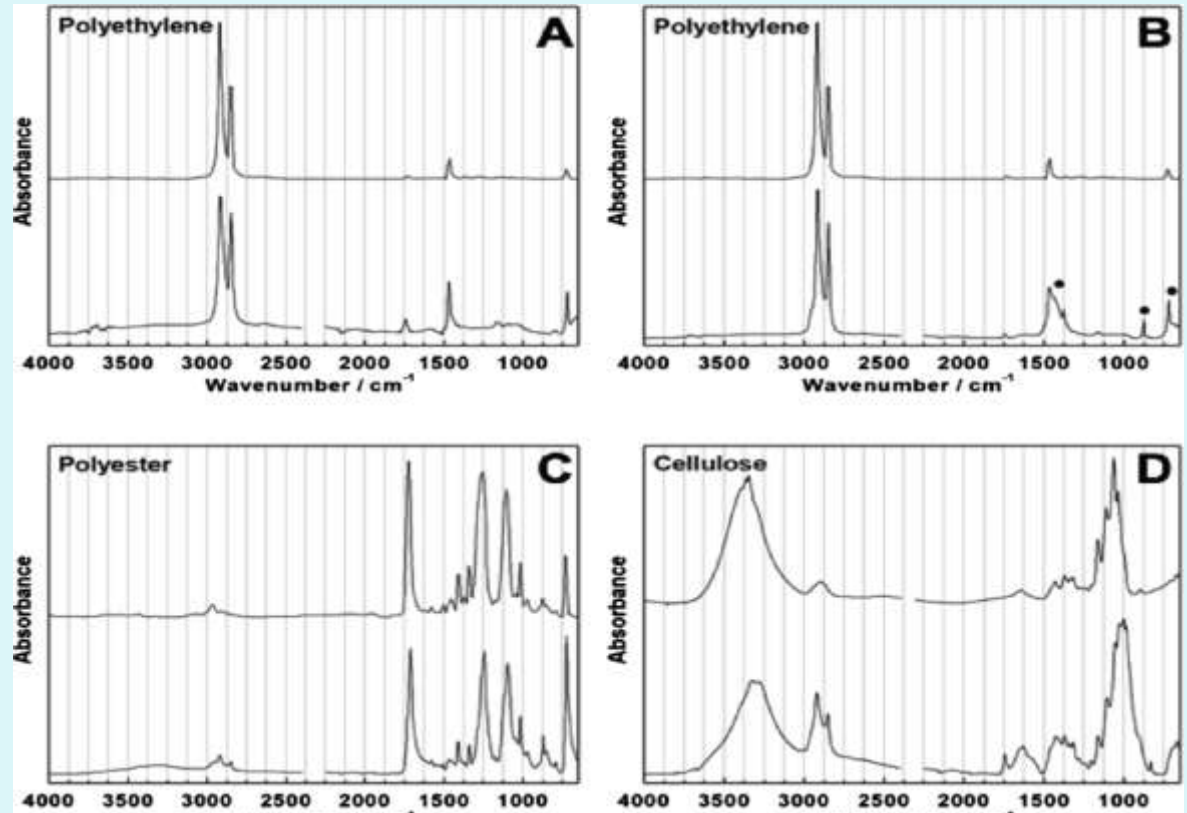
- Fibre: nel tratto gastrointestinale (GT) 36% (501-1500μm); fibre nelle branchie (GI) 50% (151-500μm); fibre nel muscolo dorsale (MU) 58% (501-1500μm)
- Frammenti <100μm MU 67%; Frammenti GI tra 101-150μm 45%; Frammenti GT tra 151-500μm 32%.

RISULTATI

Le microplastiche sono state analizzate con la tecnica ATR-FTIR (Spettrofotometria infrarossa in riflettanza totale attenuata)

I polimeri più comuni sono:

- Polietilene (80%)
- Poliestere (19%)
- Cellulosa semisintetica (Rayon, 1%)



Spettri infrarossi rappresentativi dei polimeri microplastici analizzati:

- A) Polietilene
- B) Polietilene CaCo
- C) Poliestere
- D) Cellulosa semisintetica (Rayon) miscelata con materia organica

RISULTATI

Biomarker	Level	<i>Dicentrarchus labrax</i>			<i>Trachurus trachurus</i>			<i>Scomber colias</i>		
		N	Mean ± SD	t test	N	Mean ± SD	t test	N	Mean ± DP	t test
Length (cm)	No	29	32 ± 2	$t_{(48)} = 0.500$	29	29 ± 2	$t_{(48)} = -1.768$	19	37 ± 1	$t_{(48)} = 1.034$
	MP	21	31 ± 2	$p = 0.619$	21	30 ± 1	$p = 0.083$	31	36 ± 1	$p = 0.306$
Weight (g)	No	29	342 ± 23	$t_{(48)} = -0.299$	29	226 ± 19	$t_{(48)} = -1.129$	19	347 ± 10	$t_{(48)} = 1.859$
	MP	21	344 ± 23	$p = 0.766$	21	232 ± 19	$p = 0.264$	31	343 ± 7	$p = 0.069$
Fulton	No	29	1 ± 0.107	$t_{(48)} = -0.959$	29	1 ± 0.076	$T_{(48)} = -1.287$	19	1 ± 0.027	$t_{(48)} = -0.269$
	MP	21	1 ± 0.102	$p = 0.343$	21	1 ± 0.107	$p = 0.204$	31	1 ± 0.025	$p = 0.789$
AChE-B	No	29	4.023 ± 1.766	$t_{(22,084)} = -3.587$	29	3.790 ± 0.935	$t_{(20,168)} = -3.063$	19	4.163 ± 0.787	$t_{(30,942)} = -4.371$
	MP	21	9.319 ± 6.651	$p = 0.002^*$	21	12.011 ± 12.276	$p = 0.006^*$	31	10.805 ± 8.224	$p < 0.001^*$
ChE-M	No	29	1.753 ± 0.724	$t_{(48)} = 0.078$	29	1.584 ± 0.630	$T_{(48)} = -0.137$	19	1.388 ± 0.219	$t_{(48)} = -0.228$
	MP	21	1.792 ± 0.682	$p = 0.938$	21	1.608 ± 0.571	$p = 0.892$	31	1.412 ± 0.433	$p = 0.352$
LPO-B	No	29	183.427 ± 57.926	$t_{(21,146)} = -3.061$	29	152.393 ± 35.983	$t_{(20,438)} = -3.549$	19	141.114 ± 32.824	$t_{(36,398)} = -5.005$
	MP	21	381.746 ± 292.762	$p = 0.006^*$	21	380.494 ± 92.946	$p = 0.002^*$	31	256.148 ± 122.759	$p < 0.001^*$
LPO-M	No	29	5.991 ± 1.840	$t_{(21,054)} = -2.738$	29	12.223 ± 2.011	$t_{(20,025)} = -2.457$	19	3.629 ± 1.123	$t_{(32,117)} = -4.454$
	MP	21	12.293 ± 9.767	$p = 0.012^*$	21	49.295 ± 69.116	$p = 0.023^*$	31	10.094 ± 7.798	$p < 0.001^*$
LPO-G	No	29	212.700 ± 13.747	$t_{(28,594)} = -2.955$	29	187.900 ± 9.131	$t_{(21,432)} = -3.458$	19	180.250 ± 7.232	$t_{(41,626)} = -2.826$
	MP	21	230.100 ± 25.729	$p = 0.006^*$	21	220.710 ± 42.795	$p = 0.002^*$	31	192.070 ± 19.813	$p = 0.007^*$



In tutte le specie oggetto di studio sono state riscontrate differenze significative riguardo l'attività AChE cerebrale e i livelli di LPO nel cervello, nei muscoli e nelle branchie.

I pesci con MPs hanno un'attività AChE più alta (2 volte) e livelli LPO aumentati (2 volte) nel cervello, nei muscoli e (1 volta) nelle branchie rispetto ai pesci che non hanno MPs.

Non sono state riscontrate differenze significative nell'attività AChE muscolare tra pesci con e senza MPs in nessuna delle specie.

In tutte le specie non sono state riscontrate variazioni significative di lunghezza, peso e K di Fulton tra pesci con e senza MPs.

RISULTATI

Le stime effettuate nel presente studio sulla base delle raccomandazioni dell'EFSA sul consumo di pesce (EFSA, 2014) da parte di bambini di diversa fascia d'età e di adulti.

	Bambini			Adulti (>18 anni)
	1 anno	2-6 anni	>6 anni	
g di muscolo di pesce\ settimana	40 g	50 g	200 g	300g
Articoli MP\ settimana	2	3	11	16
g di muscolo di pesce\ anno	2080 g	2600 g	10,400 g	15,600 g
Articoli MP\ anno	112	140	562	842

La popolazione che mangia 300 g delle specie analizzate a settimana assumerà una media di 16 particelle MP/settimana o 842 particelle MP/anno, corrispondenti a 0,054 MP/g/ settimana e 2,8 MP/g/anno.

Stima del consumo di pesce procapite da parte dell'uomo, ciò dipende da una combinazione di fattori come la posizione geografica e lo stile di vita in individui di paesi in cui il consumo di pesce è elevato, come in diversi paesi europei, incluso il Portogallo, il paese con il più alto consumo di prodotti della pesca e dell'acquacoltura in Europa e uno dei più grandi al mondo (EUMOFA, 2018).

	Portogallo	Paesi Importatori			
		Spagna	Italia	Stati Uniti	Brasile
Consumo procapite (kg\anno\procapite)	57.0 Kg	47.7 kg	31.1 kg	21.4	9.6 kg
g muscolo\ settimana\ procapite	1096 g	917 g	598 g	412 g	185g
Articoli MP\ settimana\ procapite	59	50	32	22	10
g muscolo di pesce\ procapite\anno	57000 g	47700g	31100 g	21400 g	9600 g
Articoli MP\ anno\ procapite	3078	2576	1679	1156	518

Assunzione umana stimata di MPs dal consumo di pesce
Sulla base delle MPs trovate in *D. labrax*, *T. trachurus* e *S. colias*

CONCLUSIONE

- Questo studio ha evidenziato che le MPs nei pesci causano danni ossidativi ai lipidi nel cervello, muscoli e branchie e aumentano l'attività AChE rappresentando una minaccia per la salute umana.
- Ulteriori ricerche potranno mettere in evidenza eventuali effetti di tossicità che le microplastiche possono avere sulla salute umana.



BIBLIOGRAFIA

Articolo:

L.G. A. Barboza, C. Lopes, P. Oliveira, F. Bessa, V. Otero, B. Henriques, J. Raimundo, M. Caetano, C. Vale, L. Guilhermino. 2020. Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. Science of the Total Environment 717, 2020, 134625

Link immagini:

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.kijiji.it%2Fannunci%2Faltri-corsi-e-lezioni%2Ftorino-annunci-torino%2Fdata-analysis-analisi-statistica-dei-dati-per-tesi>

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.giornaledellavela.com%2F2018%2F10%2F14%2Fsette-cose-sulle-microplastiche%2F&psig=AOvVaw2jrnwodmoA>

<https://www.google.it/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fwww.maredamaresrl.com%2Fportfolio%2Fsugarello->

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.viaggipersub.it%2Fambiente%2Fmicroplastiche-pesci>


<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.mbamutua.org%2Fflavoce%2Ffil-mare-e-inquinato-occhio-alla-salute>

https://www.google.it/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.regioneambiente.it%2Fwp-content%2Fuploads%2F2019%2F06%2FPlastiche-copertina.jpg&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.regioneambiente.it%2Fmicroplastiche_rischio_salute

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fit.blastingnews.com%2Fsalute%2F2016%2F08%2Fplastica-nel-pesce-e-nei-molluschi-che-mangiamo-l-inquietante-denuncia-di-greenpeace->

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ftech.everyeye.it%2Fnotizie%2Fmicroplastiche-causano-cambiamenti-respiratori-riproduttivi-pesci->

<https://www.google.it/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.rinnovabili.it%2Fambiente%2Ffingeriamo-50-mila-microplastiche>

An underwater scene showing a variety of colorful fish swimming in clear blue water. The bottom of the frame is covered in dark, jagged rocks and a large amount of plastic waste, including blue and white bags, a metal frame, a tire, and a ceramic pot. The text is overlaid on the upper part of the image.

"Anche la terra respinge la plastica e non la digerisce, se piantata non dà alcun frutto, il mare non se la porta sul fondo e la ripone sempre sulla spiaggia" Elisabeth Wisler