

LIFE MUSCLES

Life MUssel Sustainable production (re)cyCLES

LIFE20 ENV/IT/000570

Data di inizio progetto	1 Ottobre 2021
Data di fine progetto	30 Settembre 2025
Durata	48 mesi

Dettagli del Deliverable

Numero e titolo Deliverable	Deliverable A.3.2 – Report on mechanical and ecotoxicological characterization of biopolymers
Numero e titolo Azione	A.3 – Selezione e prova del biopolimero (BP)
Lead beneficiary	NOVAMONT
Data di scadenza consegna	31 Marzo 2023
Data effettiva di consegna	Aprile 2023
Ultimo aggiornamento	7 Giugno 2023
Livello di divulgazione	Confidenziale

Indice

Abstract	3
1. Introduzione	4
2. Obiettivo	5
3. Conclusioni	5
4. Bibliografia.....	6

Abstract

In this sub-action, the characterization of the biodegradable and compostable biopolymers, selected under sub-action A3.1, was continued in terms of mechanical and ecotoxicological properties and compared with those of conventional plastics. From a preliminary comparison of the tensile properties of the materials, in film form, the biopolymers resulted to have intermediate tensile strength at break values between conventional non biodegradable polymers (PE and PP). This needs to be further investigated by direct comparison of the mechanical properties determined on the final tool, i.e. socks, made from the different polymers.

The ecotoxicological investigation were conducted under laboratory conditions using the materials directly in their final form of use (socks), so as to reproduce, under controlled conditions, the real application scenario, and so as to have results comparable with those that will be acquired with mussels exposed at the experimental aquaculture facility in La Spezia. The mussels were exposed for 60 days to different types of socks: to biopolymer socks (BP), to polypropylene socks (PP), i.e. those conventionally used for mussel farming, and to cotton socks (CO), i.e. those made of a natural and biodegradable material and usually used in the tamping phases.

Potential ecotoxicological effects on mussels were evaluated, in addition to somatic indices assessment, by analyzing a set of genes encoding for proteins whose expression may be altered upon exposure to different polymers.

From the results obtained, it can be stated that stockings in BP have no significant effects on reared mussels. Indeed, in mussels exposed to BP socks, no significant alterations were found in the expression levels of the different genes considered compared to mussels at time 0 (acclimated mussels) or mussels exposed to PP or cotton socks.

1. Introduzione

Nella sottoazione A3.1 sono state sviluppate nove diverse formulazioni di biopolimeri biodegradabili e compostabili, potenzialmente adatte ad essere utilizzate per la produzione di calze per mitili, con l'obiettivo di identificare un materiale intrinsecamente biodegradabile e con buone proprietà meccaniche, ovvero con buona resistenza e con un tasso di degradazione che non pregiudichi la resistenza delle calze durante l'utilizzo. Le attività di screening e selezione si sono basate sulla caratterizzazione delle proprietà reologiche (sui granuli), delle proprietà meccaniche dei materiali in forma di film, e di una preliminare valutazione della propensione alla degradazione fisica dei materiali, in forma di film, dopo esposizione a inoculi marini (condizioni mesofile). Da questa attività di screening e preliminare caratterizzazione, sono state identificate e selezionate tre formulazioni come le più promettenti per il settore della mitilicoltura, con le quali condurre le prime prove di estrusione per la produzione delle calze, in collaborazione con il partner di progetto ROM PLASTICA. Con una prima fornitura di materiale Rom Plastica ha effettuato delle prove preliminari di estrusione e ottenuto i primi prototipi di calze con un materiale, LIFE MUSCLES_NVM-5, che può essere considerato rappresentativo di tutti e tre dal punto di vista della formulazione. Con questi prototipi sono state condotte dall'Università di Siena delle prime valutazioni ecotossicologiche dei polimeri in forma di rete, confrontando i possibili effetti tossicologici sui mitili esposti alle diverse tipologie di reti: in biopolimero (BP), in polipropilene (PP) e in cotone (CO) (sottoazione A.3.2)).

Si è deciso di valutare lo stato ecotossicologico dei mitili direttamente esposti ai materiali nella loro forma finale di utilizzo in mare, in modo da riprodurre, in condizioni di laboratorio, il possibile scenario applicativo.

Si è preferito utilizzare le calze e non il materiale in forma di particelle/polveri comunemente utilizzate nelle indagini ecotossicologiche perché ci consentirà di confrontare i risultati ottenuti in questa azione con quelli ottenuti in esemplari esposti presso l'impianto di acquacoltura sperimentale. L'utilizzo di un mesocosmo in questa tipologia di studio ha inoltre permesso di ridurre l'incidenza di possibili fattori perturbanti aumentando la sensibilità delle indagini. Analisi pregresse ed indagini bibliografiche hanno permesso di identificare un set di geni codificanti per proteine la

cui espressione viene alterata in seguito dall'esposizione a polimeri convenzionali, biopolimeri e polimeri naturali come la cellulosa. In questa azione, il set di geni, insieme agli indici somatici, è stato utilizzato per valutare i possibili effetti ecotossicologici sui mitili allevati in reti di biopolimero ed in quelle convenzionali.

2. Obiettivo

Obiettivo della presente sottoazione è stato quello di proseguire la caratterizzazione dei biomateriali selezionati nella sottoazione A3.1 ed identificati come i più promettenti per l'applicazione. Questa caratterizzazione è consistita nella valutazione delle proprietà meccaniche e dell'impatto ambientale, in termini ecotossicologici, in confronto ai polimeri standard utilizzati attualmente per la produzione di reti per mitili (PP o PE).

3. Conclusioni

5.1 Caratterizzazione meccanica (Novamont)

In questa sottoazione sono proseguite le attività di caratterizzazione dei biopolimeri biodegradabili e compostabili selezionati nell'ambito della sottoazione A3.1. Il confronto delle proprietà meccaniche dei materiali, in forma di film, ha portato a stimare per i tre biopolimeri valori di carico a rottura che si possono considerare intermedi tra polietilene a bassa densità (LDPE) e polipropilene biorientato (BOPP). Questa preliminare comparazione sarà da approfondire con il confronto diretto delle proprietà meccaniche determinate sui prototipi finali, ovvero le reti, realizzate da ROM PLASTICA con i diversi polimeri.

5.2 Caratterizzazione ecotossicologica (Università degli studi di Siena)

L'indagine ecotossicologica è stata effettuata confrontando gli effetti del biopolimero (BP) con quelli del polipropilene (PP), principale polimero convenzionalmente utilizzato per le reti, e con quelli del cotone, materiale naturale e biodegradabile usato come riferimento.

Le analisi sono state condotte in condizioni di laboratorio utilizzando i materiali direttamente nella loro forma finale di utilizzo (reti), in modo da riprodurre, in condizioni controllate, il reale scenario

applicativo e in modo da avere risultati confrontabili con quelli che verranno acquisiti con i mitili esposti presso l'impianto di acquacoltura sperimentale a La Spezia.

Le indagini ecotossicologiche hanno quindi previsto l'esposizione dei mitili, per 60 giorni, alle diverse tipologie di calze: reti in biopolimero (BP), reti in polipropilene (PP) e reti in cotone (CO); queste ultime utilizzate solitamente per le fasi di rinalzo. Per il BP, sono stati utilizzati i primi prototipi di rete ottenuti con il biopolimero sperimentale LIFE MUSCLES_NVM-5, rappresentativo dal punto di vista formulativo di tutte e tre le formulazioni di biopolimero selezionate nella sottoazione A.3.1.

I potenziali effetti ecotossicologici sui mitili sono stati valutati analizzando, oltre agli indici somatici, un set di geni codificanti per proteine la cui espressione può venire alterata in seguito all'esposizione a diversi polimeri.

Dai risultati ottenuti si può affermare che le calze in BP non mostrano avere effetti significativi sui mitili allevati. Nei mitili esposti alle calze in BP, infatti, non sono state riscontrate significative alterazioni nei livelli di espressione dei diversi geni considerati rispetto ai mitili al tempo 0 (mitili acclimatati) o ai mitili esposti alle calze in PP o in cotone.

4. Bibliografia

ASTM D882-18. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting.

Yvan-Charvet, L., Pagler, T. A., Seimon, T. A., Thorp, E., Welch, C. L., Witztum, J. L., ... & Tall, A. R. (2010). ABCA1 and ABCG1 protect against oxidative stress-induced macrophage apoptosis during efferocytosis. *Circulation research*, 106(12), 1861-1869.

Cheng, W., Li, X., Zhou, Y., Yu, H., Xie, Y., Guo, H., ... & Wang, Y. (2022). Polystyrene microplastics induce hepatotoxicity and disrupt lipid metabolism in the liver organoids. *Science of the Total Environment*, 806, 150328.

Limonta, G., Mancina, A., Benkhalqui, A., Bertolucci, C., Abelli, L., Fossi, M. C., & Panti, C. (2019). Microplastics induce transcriptional changes, immune response and behavioral alterations in adult zebrafish. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.

Bieczynski, F., Paineofilú, J. C., Venturino, A., & Luquet, C. M. (2021). Expression and function of ABC proteins in fish intestine. *Frontiers in Physiology*, 2230.

Xiao, W., & Loscalzo, J. (2020). Metabolic responses to reductive stress. *Antioxidants & redox signaling*, 32(18), 1330-1347.

González-Soto, N., Campos, L., Navarro, E., Bilbao, E., Guilhermino, L., & Cajaraville, M. P. (2022). Effects of microplastics alone or with sorbed oil compounds from the water accommodated fraction of a North Sea crude oil on marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Science of the Total Environment*, 851, 157999.

Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., & Apanasets, O. (2012). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(9), 1363-1373.