



Università degli studi di Bari 'Aldo Moro'

Speciazione, biodisponibilità ed ecotossicità dell'arsenico in suoli contaminati

O. Panzarino, C. Porfido, I. Allegretta, G. Bari, R. Terzano, E. de Lillo, M. Spagnuolo
Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (DiSSPA)



SPECIAZIONE



**frazione
biodisponibile**



**SAGGI
DI ECOTOSSICITA'**



**segnali
precoci**

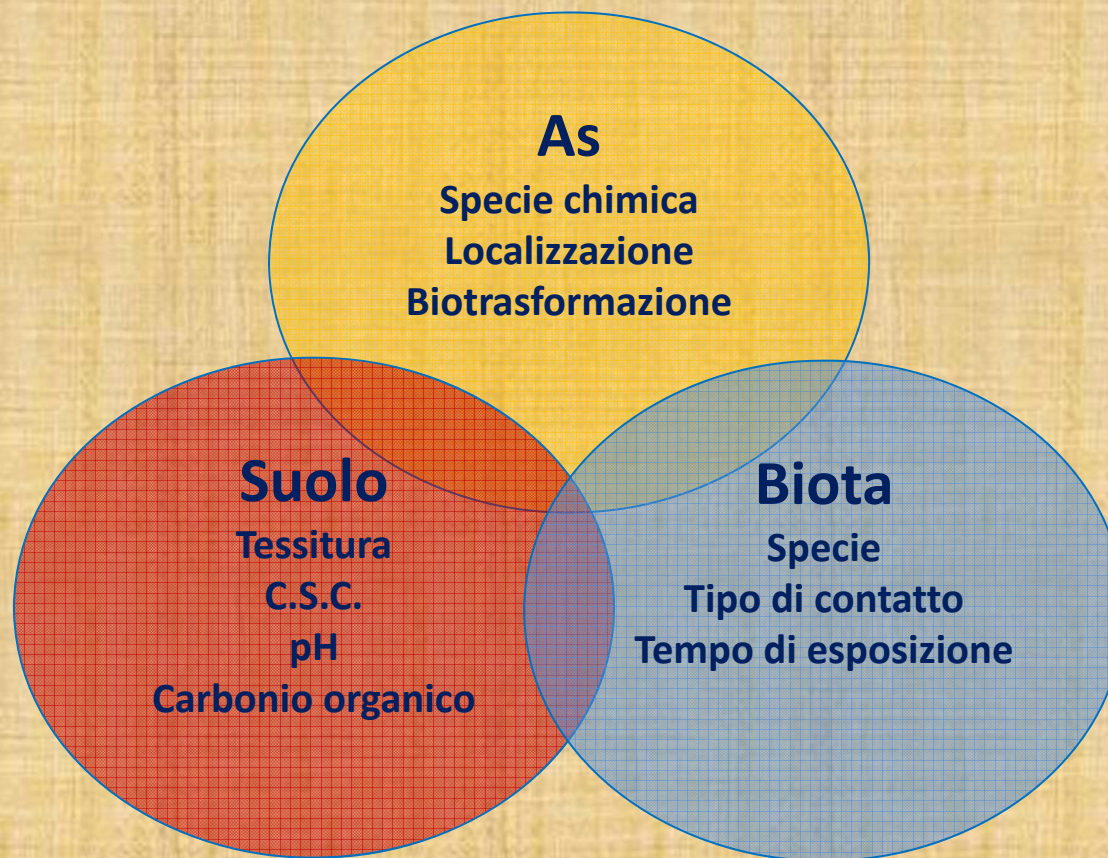


**valutazione
RISCHIO**



**catene
alimentari**

Biodisponibilità dell'arsenico



Bioindicatore

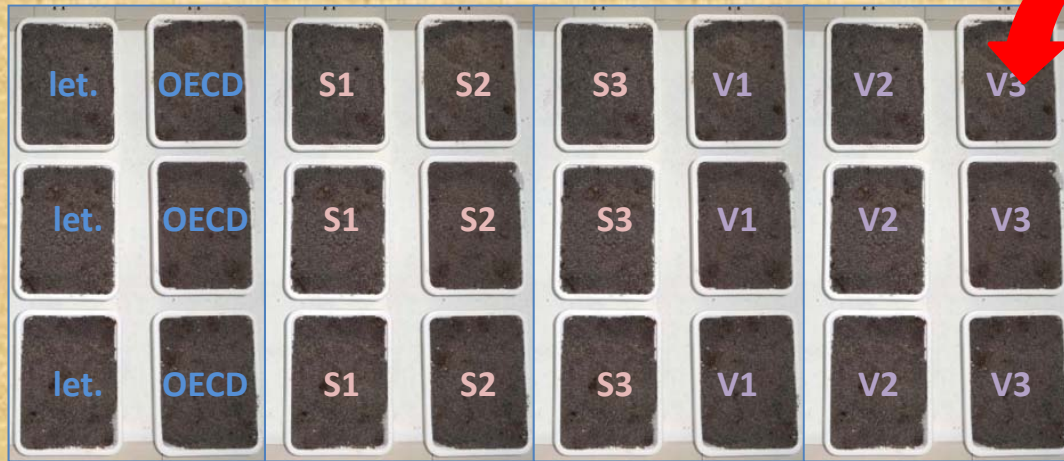
lombrico

Eisenia andrei Bouchè



Esposizione ai suoli contaminati

repliche



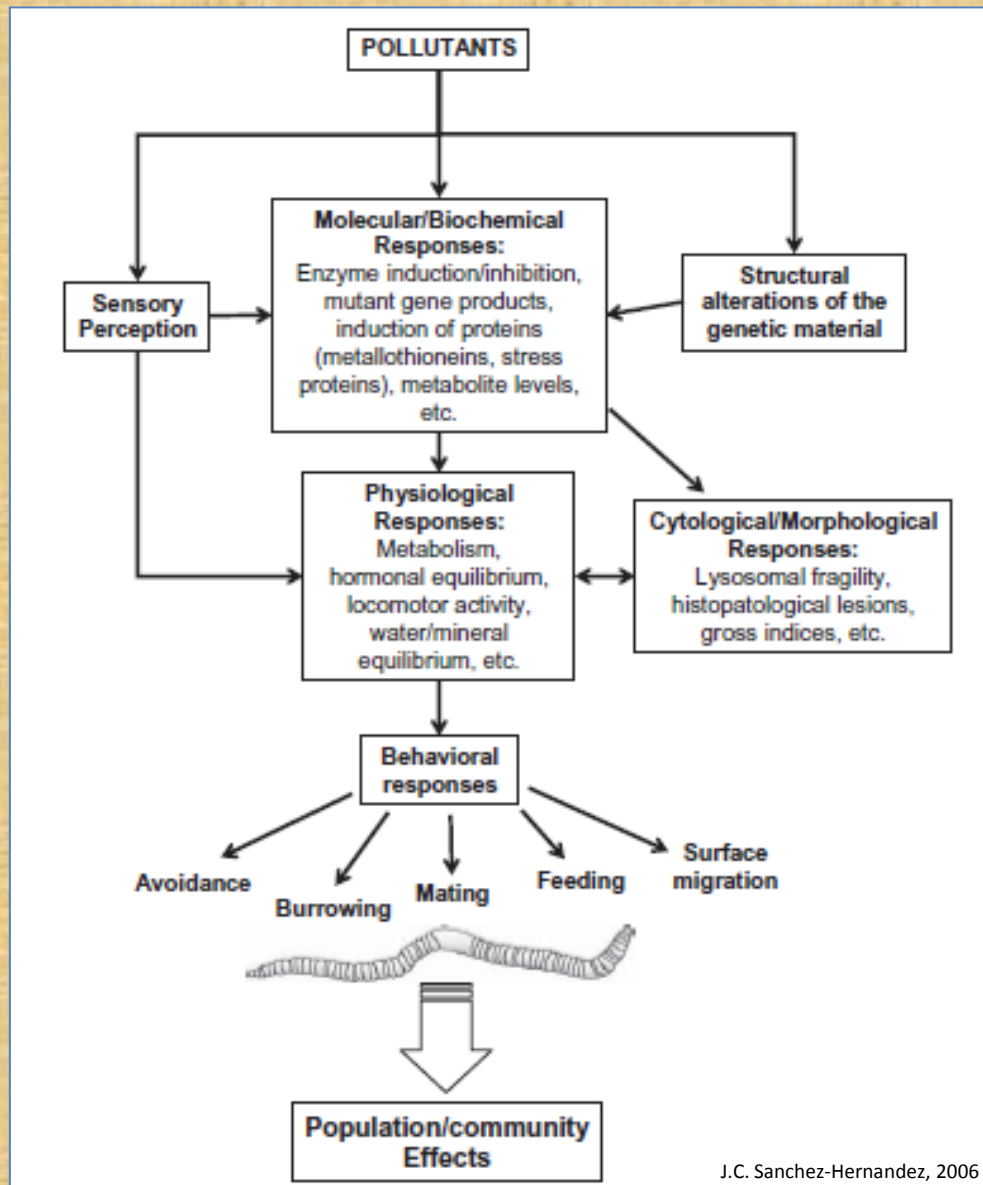
Eisenia andrei



controllo

- letame bovino
- suolo standard OECD

SAGGI DI ECOTOSSICITA'



- Mortalità e peso (Tossicità acuta)

- Riproduzione (Tossicità cronica)

- Comportamento (Avoidance test)

- Metallotioneine (MT)

- Perossido d'idrogeno (H₂O₂)

- Fenolossidasi (PO)

- Danno genotossico (Comet assay)

Mortalità e peso (Tossicità acuta)

500 g di suolo
10 lombrichi x 3 repliche
14 giorni, luce continua
21 ± 1 °C, 65 ± 5% U.R.



Eisenia andrei

Riproduzione (Tossicità cronica)

500 g di suolo
10 lombrichi x 3 repliche
56 giorni, luce continua
 21 ± 1 °C, $65 \pm 5\%$ U.R.

al 28° giorno sono stati rimossi gli adulti
al 56° giorno sono stati rilevati i giovani



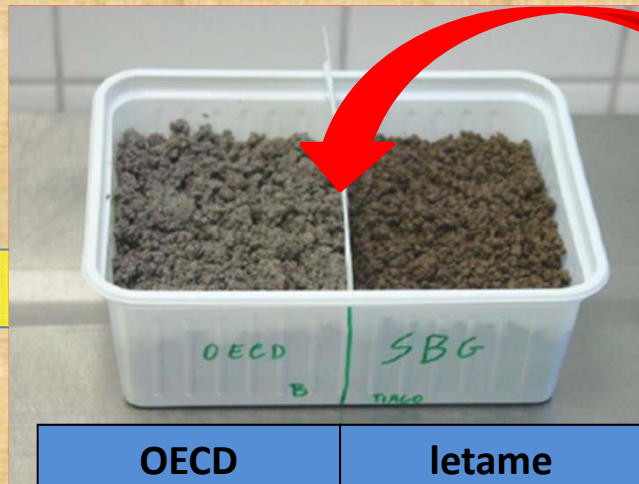
vasca termostata a 60°C



Comportamento (Avoidance test)

i lombrichi sono liberi di spostarsi
in uno dei due compartimenti

10 lombrichi x 3 repliche
2 giorni, luce continua
21 ± 1 °C, 65 ± 5% U.R.

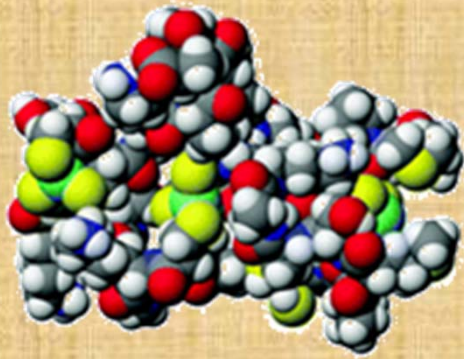


Eisenia andrei

OECD	letame
OECD	S1
OECD	S2
OECD	S3
OECD	V1
OECD	V2
OECD	V3

(protocollo ISO, 2008)

Metallotioneine (MT)



Il DTNB reagisce con i gruppi SH delle metallotioneine producendo un composto giallo

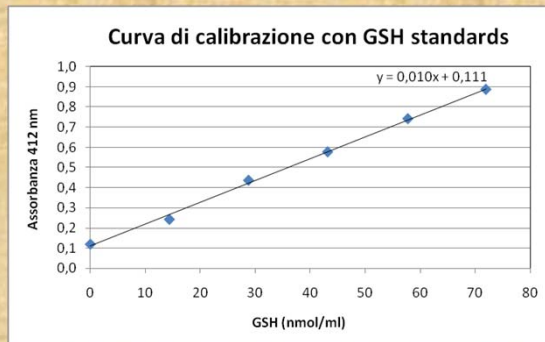
Omogeneizzazione

Centrifughe

Risospensione del pellet
in EtOH + cloroformio + buffer di omogeneizzazione

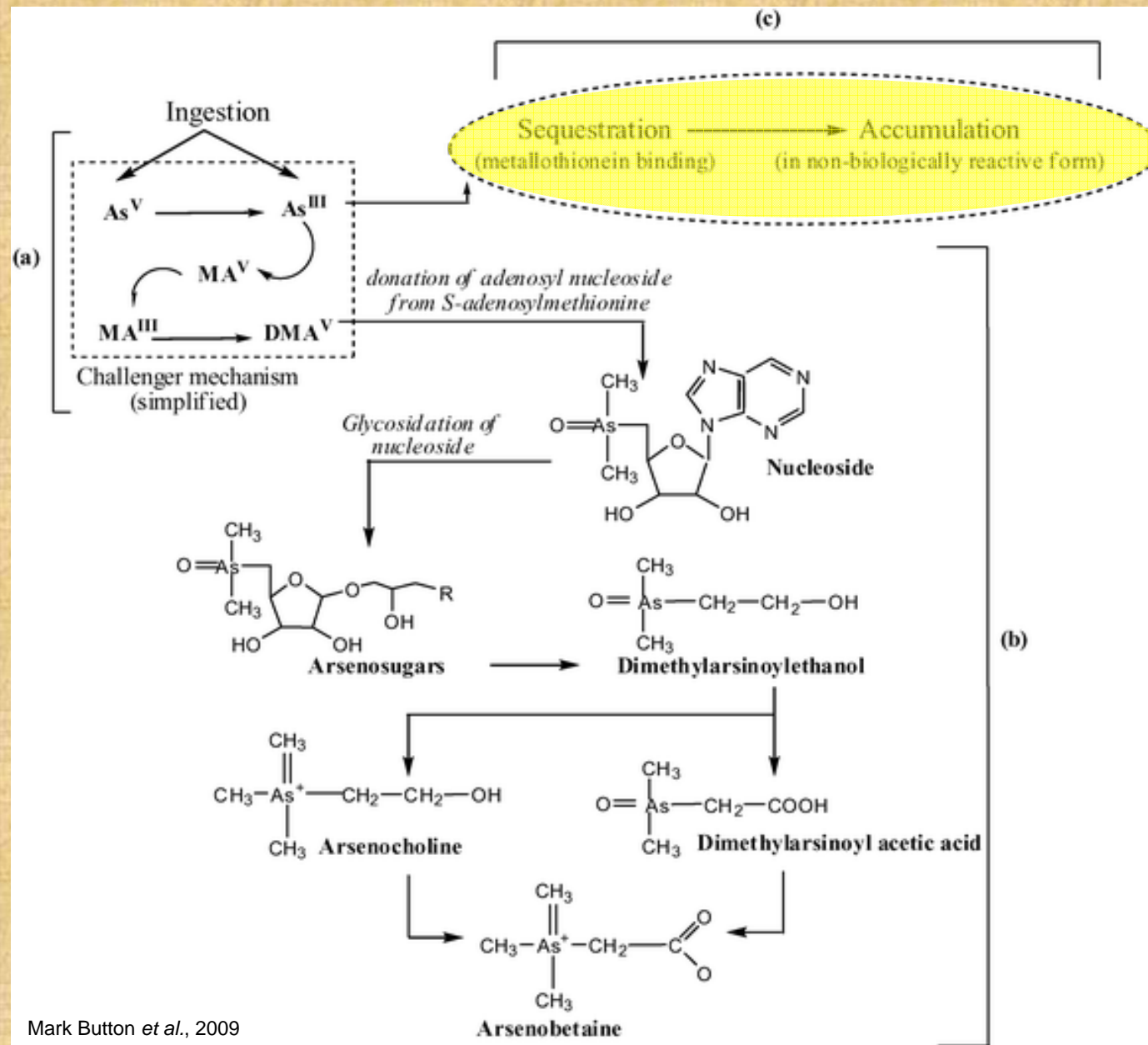
DTNB

Saggio spettrofotometrico
A 412 nm

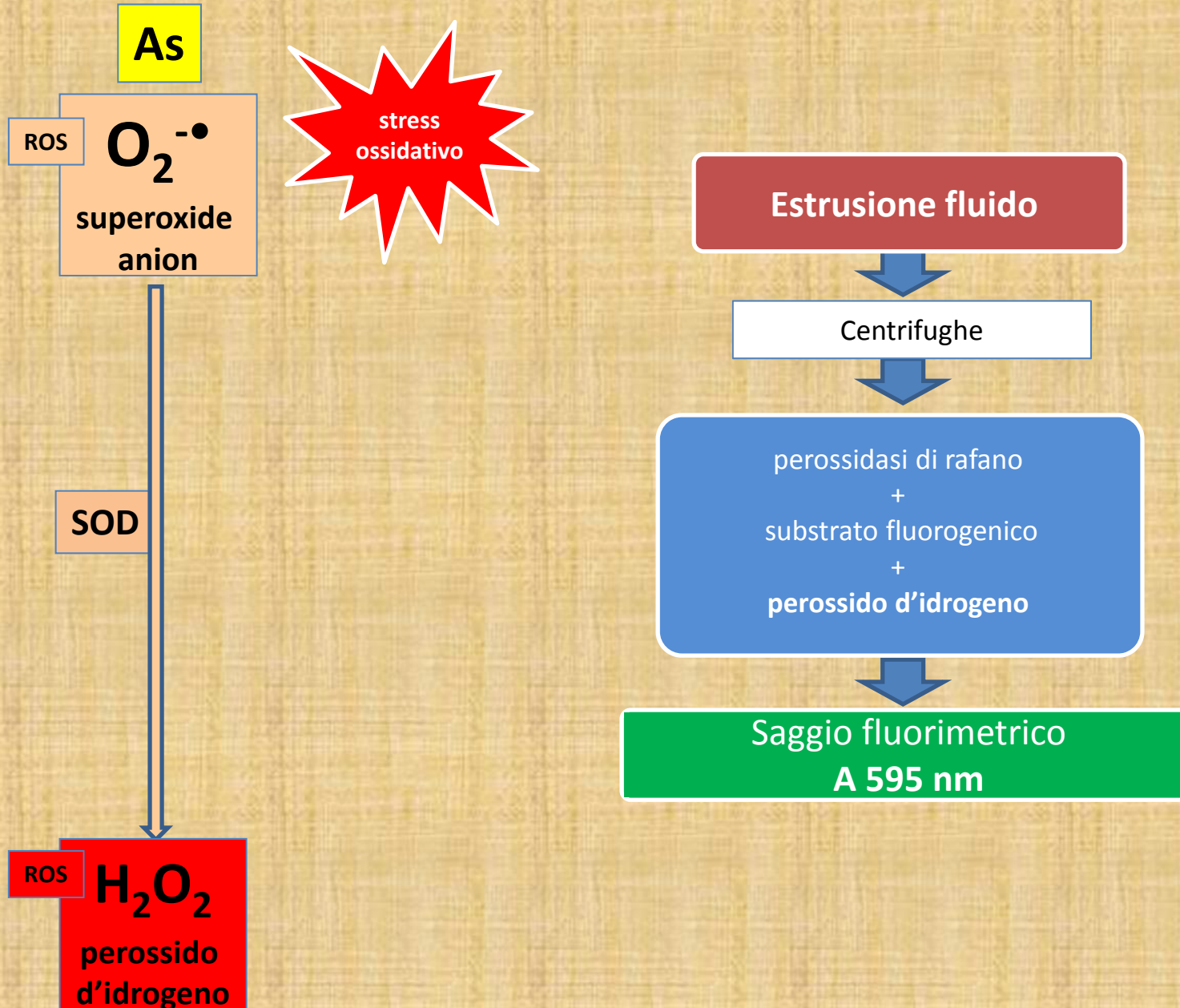


usando l'equazione della **curva di calibrazione** abbiamo ottenuto la quantità di MT

BIOACCUMULO E BIOTRASFORMAZIONE DELL'AS NEI LOMBRICHI

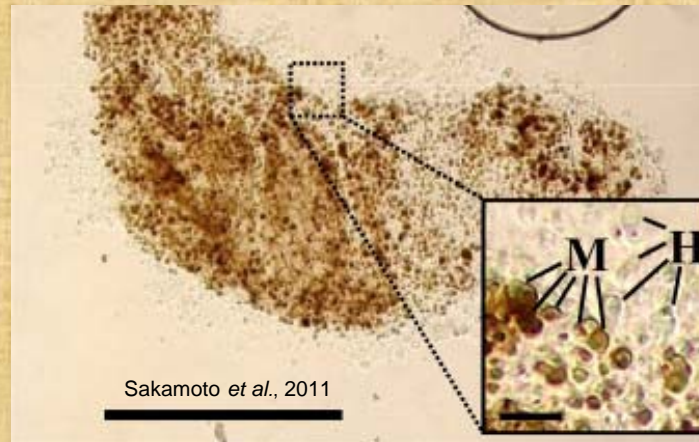


Perossido d'idrogeno (H₂O₂)



(Vašíček *et al.*, 2011)

Fenolossidasi (PO)



Estrusione fluido

DL - DOPA

Saggio spettrofotometrico
A 492 nm

substrato che
reagendo con la
PO produce
melanina

(Goldsworthy *et al.*, 2002)

Danno genotossico (Comet Assay)



ALTRI SAGGI DI ECOTOSSICITA'

- Stabilità lisosomiale (NRRT)

- Superossido dismutasi (SOD)

- Catalasi (CAT)

- Glutathione S-transferasi (GST)

- Malondialdeide (MDA)