

INAIL

ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE
CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO

Quaderno informativo ISPESL

ARSENICO:

contaminazione
ed esposizione
ambientale



ARSENICO: **contaminazione** **ed esposizione ambientale**



DIPARTIMENTO INSTALLAZIONI DI PRODUZIONE E INSEDIAMENTI ANTROPICI

Realizzazione a cura di:

Elena Sturchio - *INAIL - Ricercatore ex ISPEL - DIPIA*

Laura Casorri - *INAIL - ex ISPEL - DIPIA*

Eva Masciarelli - *INAIL - ex ISPEL - DIPIA*

Elisabetta Bemporad - *INAIL - Tecnologo ex ISPEL - DIPIA*

Giuseppe Mercurio - *Croce Rossa Italiana - Corpo Militare - Laboratorio Centrale, Roma*

Andrea Masotti - *Laboratorio di Espressione Genica-Microarrays Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma*

Claudio Minoia - *Laboratorio di Misure Ambientali e Tossicologiche "Fondazione Salvatore Maugeri", Pavia*

Fabrizio Bianchi - *CNR-Istituto di Fisiologia Clinica, Dipartimento Epidemiologia, Pisa*

Paolo Napolitano - *INAIL - ex ISPEL - DIPIA*

Claudio Beni - *CRA-RPS Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura – Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo, Roma*

Simona Marconi - *CRA-RPS Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura – Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo, Roma*

Paolo Ferrazza - *Direttore Scientifico Agenzia di Ricerca Scientifica L.N.AGE Link Neuroscience&Healthcare - Roma*

Si ringrazia **Giuditta Simoncelli** - *INAIL - ex ISPEL - DIPIA* per la preziosa collaborazione nell'elaborazione grafica.

INDICE

1	Introduzione	5
2	Dati chimici e fisici	7
3	Presenza nell'ambiente	13
4	Diffusione dell'arsenico nel mondo	21
5	Diffusione dell'arsenico in Italia	22
6	Sorgenti espositive per la popolazione generale	26
7	L'arsenico nel suolo e nelle piante	42
8	Contenuto di arsenico in cibi e mangimi	47
9	Metabolismo dell'As e suoi effetti sugli animali e sull'uomo	52
10	Meccanismo di azione dell'As come interferente endocrino	56
11	Espressione genica, polimorfismi, biomarcatori e microRNA	61
12	Biotecnologie	67
13	Bibliografia	72

1. INTRODUZIONE

L'Arsenico (As) è un metalloide la cui presenza è ampiamente rilevabile in tutte le matrici ambientali. In natura si trova solitamente in piccole quantità, nelle rocce, nei suoli, nelle polveri e nell'aria (Onishi, 1955). E' inoltre utilizzato in molti prodotti e processi industriali e quindi viene immesso nell'ambiente (aria acqua e suolo) tramite rifiuti ed emissioni, spesso divenendo un contaminante significativo nei siti di bonifica.

Il problema della presenza di As nell'acqua è noto fin dagli anni 80, quando numerosi studi hanno riscontrato elevati livelli di As nelle risorse di acqua freatica, inducendo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) a fissarne il livello nell'acqua potabile a 10 µg/l (o di 0.01 mg/l). Attualmente i paesi nei quali sono stati segnalati elevati livelli di As nelle acque freatiche sono Afghanistan, Bangladesh, Cambogia, Cina, India, Lao, Mongolia, Myanmar, Nepal, Pakistan, Tailandia e Vietnam Messico, Argentina, Cile, Ungheria, Romania e alcune zone degli Stati Uniti (Smedley and Kinniburgh, 2002).

Gli alti livelli di As nelle acque freatiche sono principalmente di origine geologica, mentre le fonti antropogeniche di As derivano da attività industriali, dall'utilizzo di antiparassitari, diserbanti e fertilizzanti. Nel nostro paese elevati valori di arsenico sono stati rilevati nelle acque sotterranee di molti comuni dell'Emilia Romagna e della Lombardia (Zavatti et al., 1995, Prandi, 1998), in alcuni comuni del Veneto (Baldantoni e Ferronato, 1996) ed in quelli dei Campi Flegrei (Napoli) (Dall'Aglia, 1995), nonché nelle acque di sorgente e nei laghi del Lazio settentrionale. La maggior parte di queste indagini hanno evidenziato come la presenza dell'arsenico sia legata a processi naturali di cessione dei minerali presenti negli acquiferi.

Le acque, i suoli ed i rifiuti contaminati da arsenico devono essere trattati per eliminare od immobilizzare (a livelli accettabili) l'arsenico. La natura chimica dei composti dell'arsenico ed in particolare la loro tendenza a mutare rapidamente stato di valenza e forma chimica in un ampio spettro di valori di pH e di condizioni redox rende difficile valutarne destino e mobilità nell'ambiente (U.S. EPA, 2003). Inoltre il fatto che le diverse specie chimiche siano caratterizzate da tossicità e mobilità variabili, rende difficoltoso anche il trattamento a lungo termine dell'arsenico (U.S. EPA, 2002).

Tutte le fonti di arsenico, rischiano di contaminare vaste aree e suoli destinati all'agricoltura (Chilvers and Peterson, 1987; Schraufnagel, 1983). La presenza di arsenico nei suoli e nei corsi d'acqua fa sì che tale elemento si rinvenga nei tessuti di diverse specie vegetali. In seguito al trasferimento di As dal suolo alla pianta, la dieta è una delle principali vie di esposizione dell'uomo (Nriagu, 1988; WHO, 1981) al metalloide.

Ingerire alte quantità di arsenico può causare la cosiddetta arsenicosi, una malattia che genera disturbi della pelle e cancro ai reni ed alla vescica. La tossicità dell'arsenico dipende dalla sua forma chimica: quella organica è potenzialmente meno dannosa di quella inorganica che può causare lo sviluppo di patologie cancerogene. L'arsenico nell'uomo può causare una serie di patologie che includono lesioni cutanee (iperpigmentazione, melanosì, cheratosi), problemi all'apparato respiratorio (tosse cronica, respiro corto, bronchite), effetti sul sistema nervoso (neuropatie, disordini neurocomportamentali, perdita di memoria, basso quoziente intellettivo, disturbo dell'attenzione, cancro in nu-

merosi organi (pelle, polmone, vescica) ed effetti sul sistema riproduttivo (complicazioni durante la gravidanza, anomalie fetali, parto prematuro, basso peso alla nascita), oltre a patologie cardiovascolari e diabete.

La comprensione a livello molecolare dei meccanismi attraverso i quali l'esposizione all'arsenico determina le patologie sopra citate è ancora frammentaria. In questo contesto è interessante esaminare il possibile ruolo di una classe di RNA recentemente scoperta e coinvolta in molteplici processi cellulari, i microRNA (*miRNA*). I *miRNA*, piccole molecole di RNA che non codificano per alcuna proteina (*ncRNA*) regolano l'espressione genica di RNA messaggeri (*mRNA*). Sono importanti per la regolazione di una serie di processi biologici fondamentali per la cellula, tra cui la proliferazione, il differenziamento e l'apoptosi. Dato il loro coinvolgimento in molti dei processi chiave che regolano l'omeostasi cellulare, alterazioni dell'espressione di *miRNA* possono determinare condizioni patologiche anche gravi. I profili di espressione dei *miRNA* sono alterati nella maggior parte dei tumori umani ed è stato evidenziato come tali profili possano avere un valore sia diagnostico che prognostico. In un progetto di ricerca ISPESL finanziato dal Ministero della Salute (*Progetto Strategico 2008-2011 dal titolo: "Sviluppo e applicazione di metodologie e tecniche innovative per la valutazione del rischio e degli effetti sulla salute in esposizioni ambientali e occupazionali"*, Progetto 6 "Studio del rapporto causa-effetto tra geni e stress ambientali nell'induzione dell'effetto tossico", Responsabile Scientifico del Progetto 6 Dott.ssa Elena Sturchio) sono stati studiati gli effetti dell'esposizione all'arsenico su linee cellulari attraverso l'analisi dei profili di espressione di *mRNA* e di *miRNA*. L'espressione dei *mRNA* e dei *miRNA* è stata misurata tramite la tecnologia microarray e l'analisi ha evidenziato un effetto dell'arsenico sia sui profili di espressione dei *mRNA* che dei *miRNA*. Obiettivi del progetto sono quelli di contribuire a chiarire i meccanismi molecolari coinvolti nell'insorgenza delle patologie correlate all'esposizione all'arsenico e di verificare se le conseguenze di tale esposizione possano essere mediate da una alterazione dei livelli di espressione dei *miRNA*. L'identificazione di *miRNA*, attraverso tale studio potrebbe permettere di definire futuri biomarkers.

Inoltre, studi recenti hanno confermato che l'origine etnica di una popolazione costituisce una variabile importante nel determinare gli effetti avversi alla salute riferibili all'As e le tecniche strumentali oggi disponibili permettono di definire i valori di riferimento di As e delle sue forme metaboliche nei diversi gruppi di popolazione generale.

La realizzazione di strategie d'intervento, che vedono la valutazione comparativa di biomarcatori di effetto e di suscettibilità nella stessa popolazione per la valutazione complessiva degli effetti tossici che possono essere indotti da un'esposizione ambientale ed occupazionale a xenobiotici, costituisce attualmente uno dei più efficaci ed innovativi strumenti di prevenzione.

2. DATI CHIMICO-FISICI E CLASSIFICAZIONE

L'arsenico elementare (numero atomico 33; massa atomica 74,9216) è un metalloide allo stato solido (V gruppo della tavola periodica degli elementi), il numero di massa atomica dei suoi isotopi varia tra 68 e 80 ma solo l'isotopo 75 è stabile. Si presenta nelle tre forme allotropiche gialla (alfa), nera (beta) e grigia (gamma), più stabile a temperatura ambiente, sublima a 630°C e ha una tensione di vapore di 1 mm Hg a 372°C. Si combina rapidamente con cloro e fluoro a caldo e con molti metalli e non metalli. È un elemento molto reattivo non è solubile in acqua, mentre i suoi sali sono più o meno solubili in funzione del pH e dell'ambiente ionico. L'Arsenico può esistere in quattro stati di ossidazione (-3, 0, +3 e +5). In condizioni riducenti, lo stato di valenza +3 (AsIII), come arsenito, è la forma dominante, mentre la valenza +5 (AsV), come arseniato, è la forma più stabile in condizioni ossidanti (WHO, 2001).

Tabella 1. Proprietà chimico-fisiche di As

Nome	Arsenico
Simbolo	As
Numero atomico	33
Gruppo	15, (Va)
Periodo	4
Serie chimica	metalloidi (non metalli)
CAS	7740-38-2
RTECS	CG0525000
ICSC	0013
Aspetto	Cristalli fragili, grigi con aspetto metallico, inodore
Massa atomica	74,9
Configurazione elettronica	$1s^2 2s^2 p^6 3s^2 p^6 d^{10} 4s^2 p^3$
Energia di prima ionizzazione	947,0
Energia di seconda ionizzazione	1798
Energia di terza ionizzazione	2735
Energia di quarta ionizzazione	4837
Stati di ossidazione	-3, 0, +3, +5
Densità	5,7 g/cm ³
Punto di fusione	814° C
Punto di ebollizione	615° C
Solubilità in acqua	insolubile
Classe di cancerogenicità	1
Gruppo mutageno per le cellule germinali (DFG 2004)	3A

La normativa europea classifica l'arsenico, i composti dell'arsenico in generale ed alcuni composti dell'arsenico specifici, con il Regolamento CE n.1272 del 16 dicembre 2008 (cosiddetto Regolamento CLP) relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele, così come riportato in **Tabella 2**. La classificazione e l'etichettatura riportate nella tabella sono quelle attualmente vigenti, per le sostanze fino al 1 dicembre 2010 (per le miscele fino al 1 giugno 2015) parallelamente a quelle in tabella 3.1 per la classificazione armonizzata, come adeguata al progresso tecnico dal Regolamento CE n.790 del 10 agosto 2009 (1°ATP), anch'esso in vigore dal 1 dicembre 2010.

Tabella 2 – Classificazione dell'arsenico e dei suoi composti ai sensi del Regolamento CE n.1272/2008 o CLP - estrapolata dalle tabelle 3.2 e 3.1 del regolamento, nella versione adeguata al 1° ATP (Regolamento CE n.790/2009)] – in corsivo le voci nuove introdotte dal 1°ATP

Tabella 3.2 (allegato I Direttiva 67/548/CEE)				Tabella 3.1 (classificazione armonizzata)			
Identificazione chimica internazionale	Classificazione	Limiti di concentrazione	Note	Classificazione		Limiti di concentraz fattori M	Note
				Categoria di pericolo	Indicazioni di pericolo		
arsenic	T; R23/25 N; R50-53			Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H331 H301 H400 H410		
arsenic compounds, with the exception of those specified elsewhere in this Annex (allegato VI al Regolamento n.1272/2008 (CLP))	T; R23/25 N; R50-53	T; R23/25: C≥0,2% Xn; R20/22: 0,1%≤C≤0,2%	A 1	Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H331 H301 H400 H410	*	A 1
diarsenic trioxide; arsenic trioxide	Carc. Cat. 1; R45 T+; R28 C; R34 N; R50-53		E	Carc. 1A Acute Tox. 2* Skin Corr. 1B Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H300 H314 H400 H410		

diarsenic pentaoxide; arsenic pentoxide; arsenic oxide	Carc. Cat. 1; R45 T; R23/25 N; R50-53		E	Carc. 1A Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H331 H301 H400 H410		
arsenic acid and its salts	Carc. Cat. 1; R45 T; R23/25 N; R50-53		AE	Carc. 1A Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H331 H301 H400 H410		A
<i>arsenic acid and its salts with the exception of those specified elsewhere in this Annex (allegato VI al Regolamento n.1272/2008 (CLP))</i>							
arsine	F+; R12 T+; R26 Xn; R48/20 N; R50-53			Flam. Gas 1 Press. Gas Acute Tox. 2* STOT RE 2* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H220 H330 H373** H400 H410		U
tert-butylarsine	F; R17 T+; R26			Pyr. Liq. 1, Acute Tox. 2*	H250 H330		
lead hydrogen arsenate	Carc. Cat. 1; R45 Repr Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/25 R33 N; R50-53		E 1	Carc. 1A Repr. 1A Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* STOT RE 2* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H360Df H331 H301 H373** H400 H410		1
triethyl arsenate	Carc. Cat. 1; R45 T; R23/25 N; R50-53		E	Carc. 1A Acute Tox. 3* Acute Tox. 3* Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H331 H301 H400 H410		

<i>nickel diarsenide</i> ; [1]	<i>Carc. Cat. 1; R49</i> <i>T; R48/23</i> <i>R43</i> <i>N; R50-53</i>		<i>E</i> <i>H</i>	Carc. 1A STOT RE 1 Skin Sens. 1 Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350i H372** H317 H400 H410		H
<i>nickel arsenide</i> [2]							
<i>trinickel bis(arsenate); nickel(II) arsenate</i>	<i>Carc. Cat. 1; R45</i> <i>T; R48/23</i> <i>R43</i> <i>N; R50-53</i>		<i>E</i> <i>H</i>	Carc. 1A STOT RE 1 Skin Sens. 1 Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350 H372** H317 H400 H410		H
<i>trinickel bis(arsenite)</i>	<i>Carc. Cat. 1; R49</i> <i>T; R48/23</i> <i>R43</i> <i>N; R50-53</i>		<i>E</i> <i>H</i>	Carc. 1A STOT RE 1 Skin Sens. 1 Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H350i H372** H317 H400 H410		H
R12 Estremamente infiammabile				H220 Gas altamente infiammabile			
R17 Spontaneamente infiammabile all'aria				H250 Spontaneamente infiammabile all'aria			
R20/22 Nocivo per inalazione e ingestione				H332 Nocivo se inalato			
				H302 Nocivo se ingerito			
R23/25 Tossico per inalazione ed ingestione				H331 Tossico se inalato			
				H301 Tossico se ingerito			
R26 Molto tossico per inalazione				H330 Letale se inalato			
R28 Molto tossico per ingestione				H300 Letale se ingerito			
R34 Provoca ustioni				H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari			
R43 Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle				H317 Può provocare una reazione allergica della pelle			
R45 Può provocare il cancro				H350 Può provocare il cancro <indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo pericolo>.			
R33 Pericolo di effetti cumulativi				H373 Può provocare danni agli organi (o indicare tutti gli organi interessati, se noti) in caso di esposizione prolungata o ripetuta (indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo pericolo a)			
R48/20 nocivo: pericolo di gravi danni per la salute in caso di esposizione prolungata per inalazione							
R48/23 Tossico: pericolo di gravi danni alla salute in caso di esposizione prolungata per inalazione				H372 Provoca danni agli organi (o indicare tutti gli organi interessati, se noti) in caso di esposizione prolungata o ripetuta (indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo pericolo)			

R49 Può provocare il cancro per inalazione	H350i Può provocare il cancro se inalato
R50-53 Altamente tossico per gli organismi acquatici, può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico	H400 Altamente tossico per gli organismi acquatici
	H410 Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata
R61 Può danneggiare i bambini non ancora nati	H360Df Può nuocere al feto. Sospettato di nuocere alla fertilità
R62 Possibile rischio di ridotta fertilità	
NOTA A: Fatto salvo l'articolo 17, paragrafo 2, il nome della sostanza deve figurare sull'etichetta sotto una delle designazioni di cui alla parte 3. Nella parte 3 è talvolta utilizzata una descrizione generale del tipo «composti di ...» o «sali di ...». In tal caso il fornitore è tenuto a precisare sull'etichetta il nome esatto, tenendo conto di quanto indicato alla sezione 1.1.1.4.	
NOTA E: Le sostanze con effetti specifici sulla salute umana (v. capitolo 4 dell'allegato VI della direttiva 67/548/CEE) classificate come cancerogene, mutagene e/o tossiche per la riproduzione di categoria 1 e 2 sono accompagnate dalla Nota E se sono classificate come cancerogene, mutagene e/o tossiche per la riproduzione di categoria 1 e 2 sono accompagnate dalla Nota E se sono classificate anche come molto tossiche (T+), tossiche (T) o nocive (Xn). Per tali sostanze, le frasi di rischio R20, R21, R22, R23, R24, R25, R26, R27, R28, R39, R68 (nocivo), R48, R65 e tutte le combinazioni di tali frasi devono essere precedute dalla parola «anche». (tabella 3.2)	
NOTA H La classificazione e l'etichetta di questa sostanza concernono soltanto la proprietà o le proprietà pericolose specificate dalla frase o dalle frasi di rischio, in combinazione con la categoria o le categorie di pericolo indicate. Il fabbricante, l'importatore e l'utilizzatore a valle della sostanza sono tenuti ad effettuare una ricerca per essere al corrente dei dati pertinenti e accessibili esistenti su tutte le altre proprietà per classificare ed etichettare la sostanza. L'etichetta finale dev'essere conforme alle prescrizioni della sezione 7 dell'allegato VI della direttiva 67/ 548/CEE. (tabella 3.2)	
NOTA U: Al momento dell'immissione sul mercato i gas vanno classificati «Gas sotto pressione» in uno dei gruppi pertinenti gas compresso, gas liquefatto, gas liquefatto refrigerato o gas dissolto. Il gruppo dipende dallo stato fisico in cui il gas è confezionato e pertanto va attribuito caso per caso. (tabella 3.1)	
NOTA 1: Le concentrazioni indicate o, in loro assenza, le concentrazioni generiche di cui al regolamento CLP (tabella 3.1) o le concentrazioni generiche di cui alla direttiva 1999/45/CE (tabella 3.2), sono espresse in percentuale in peso dell'elemento metallico calcolata in rapporto al peso totale della miscela	
* Classificazione minima: Per alcune classi di pericolo, compresa la tossicità acuta e STOT — esposizione ripetuta, la classificazione secondo i criteri enunciati nella direttiva 67/548/CEE non corrisponde direttamente alla classificazione in una classe e categoria di pericolo secondo il presente regolamento. In questi casi la classificazione figurante nel presente allegato è da considerarsi una classificazione minima e si applica se non si dà nessuna delle seguenti condizioni: — il fabbricante o l'importatore ha accesso a dati o altre informazioni di cui alla parte 1 dell'allegato I che giustificano una classificazione in una categoria di maggiore gravità rispetto alla classificazione minima. Deve allora essere applicata la classificazione nella categoria di maggiore gravità; — la classificazione minima può essere precisata in base alla tabella di conversione dell'allegato VII quando il fabbricante o l'importatore conosce lo stato fisico della sostanza utilizzata nelle prove di tossicità acuta per inalazione. La classificazione stabilita in base all'allegato VII sostituisce allora, se ne differisce, la classificazione minima indicata al presente allegato. La classificazione minima per una categoria è segnalata nella tabella 3.1 da un asterisco (*) nella colonna «classificazione». Il riferimento * può figurare anche nella colonna «Limiti di concentrazione specifica e fattori M» in cui indica che la voce ha limiti specifici di concentrazione per la tossicità acuta a norma della direttiva 67/548/CEE (tabella 3.2). Tali limiti di concentrazione non possono essere «convertiti» in limiti di concentrazione di cui al presente regolamento, segnatamente quando esiste una classificazione minima. Tuttavia, quando è indicato il riferimento *, alla classificazione per tossicità acuta va riservata un'attenzione particolare.	

**** Una via di esposizione non può essere esclusa: Per talune classi di pericolo, ad esempio la STOT, la via di esposizione dovrebbe essere menzionata nell'indicazione di pericolo soltanto se è accertato che nessun'altra via di esposizione può presentare un pericolo secondo i criteri di cui all'allegato I. In base alla direttiva 67/548/CEE la via di esposizione è indicata quando esistevano dati che ne giustificavano la classificazione con R48. La classificazione secondo la direttiva 67/548/ CEE indicante la via di esposizione è stata convertita nella classe e nella categoria corrispondenti secondo il presente regolamento, ma con un'indicazione di pericolo generale che, in mancanza delle necessarie informazioni, non specifica la via di esposizione. Tali indicazioni di pericolo sono segnalate nella tabella 3.1 da un doppio asterisco (**)**

L'As è presente nelle acque naturali soprattutto in forma inorganica, come ossianione trivalente AsIII o pentavalente AsV, e in concentrazione inferiore sotto forma di acido monometilarsonico (MMA), acido dimetilarsinico (DMA) e di specie arsenicali monometilate (MMAIII) e dimetilate trivalenti (DMAIII) **Figura 1**. Ulteriori specie arsenicali rilevate in acqua di mare e in acqua dolce potrebbero rappresentare fino al 20% di As totale (IARC, 2004).

Le forme organiche, raramente presenti in quantità rilevanti, possono essere prodotte dall'attività biologica, soprattutto nelle acque superficiali, ma possono essere presenti dove l'acqua è particolarmente inquinata dall'attività industriale.

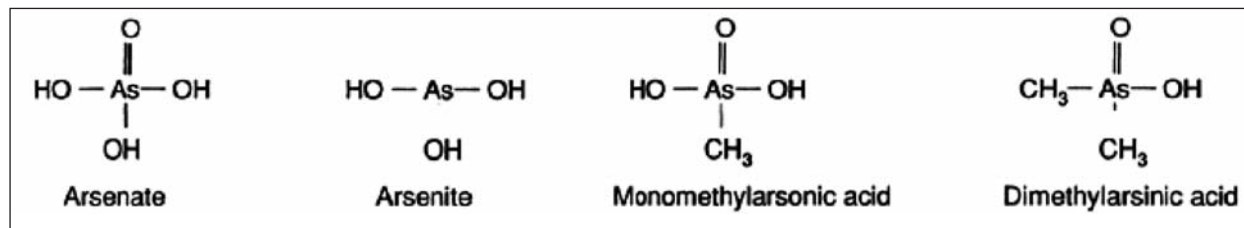


Figura 1. Struttura chimica delle principali specie dell'arsenico

3. PRESENZA NELL'AMBIENTE

In termini generali, le fonti di contaminazione da metalli possono derivare da attività industriali, agricole e civili; le prime attraverso scarichi idrici e fall-out atmosferico, le seconde, occasionalmente, con i trattamenti fitosanitari e l'utilizzo di biomasse di recupero e le ultime, talvolta preponderanti sulle altre, con le emissioni da riscaldamento domestico, incenerimento, traffico veicolare ed aereo. (Beretta, 1984; Cerutti, 1999; Casarett and Doull's, 2000). L'arsenico (As) presente nell'ambiente deriva da sorgenti naturali e antropogeniche. Le cause naturali sono principalmente i processi pedogenetici, l'attività biologica e vulcanica. L'arsenico è presente come costituente principale in più di 200 minerali, dei quali approssimativamente il 60% sono arseniati, il 20% solfati e il restante 20% arseniti, ossidi, silicati ed arsenico elementare (As) (Smedley e Kinniburgh, 2002). L'arsenico è generalmente legato a carbonio, ferro, ossigeno e zolfo, con i quali forma composti arsenicali inorganici e organici in diversi stati di ossidazione. Le proprietà chimico-fisiche delle diverse specie sono determinanti sul potenziale effetto tossico. L'elevata mobilità di As dipende dal fatto che in ambiente ossidante l'elemento è presente nello stato di ossidazione +5 e non subisce processi rilevanti di coprecipitazione o di adsorbimento, con l'eccezione della coprecipitazione indotta da idrossidi di ferro. Gran parte dei problemi ambientali dovuti a questo inquinante sono la conseguenza della sua naturale mobilitazione sia nell'idrosfera che nell'atmosfera. L'arsenico inorganico proviene essenzialmente da sorgenti geochimiche ed è presente in composti derivanti dall'ossidazione di solfuri metallici (pirite, calcopirite, arsenopirite) ed ha una diffusione ubiquitaria nel suolo, nell'aria e nell'acqua. Nella crosta terrestre è presente in concentrazioni relativamente basse (2 ppm), ma a causa di contaminazioni agricole e industriali (impiego di fanghi di depurazione e utilizzo di detergenti e/o fertilizzanti a base di fosfati che contengono quantità apprezzabili di questo elemento), i livelli di arsenico nei suoli possono variare da 1 a 40 mg/kg (WHO, 2001). L'arsenico è un componente naturale dei minerali che contengono Pb, Zn, Cu e Au e, conseguentemente, durante i processi minerari di estrazione e fusione sono frequenti fenomeni di contaminazione di suoli, sedimenti, corsi d'acqua (fiumi e laghi), acque di falda e atmosfera. L'attività vulcanica e i microrganismi del suolo rilasciano As nell'aria dove i suoi livelli variano, con valori inferiori nelle aree rurali (0,007-28 ng/m³) e concentrazioni più elevate nelle aree urbane (3-200 ng/m³) (WHO, 2001). Studi condotti in Stati dell'Unione Europea hanno evidenziato valori di As nell'aria compresi tra 1-3 ng/m³ in zone urbane e tra 20-30 ng/m³ in quelle industriali (WHO, 2001). L'arsenico presente nell'atmosfera deriva da numerosi fattori (erosione del suolo esercitata dal vento, emissioni vulcaniche, volatilizzazione dell'elemento dal suolo, aerosol di acqua di mare, inquinamento antropico) e ritorna sulla superficie terrestre attraverso deposizioni umide e secche. L'arsenico atmosferico si trova sotto forma di As₂O₃ in polvere (Cullen and Reimer, 1989) o adsorbito come arsenito e arseniato su particolato (Mandal and Suzuki, 2002). Durante i processi di fusione dei minerali contenenti Cu, Pb, Zn e Au avviene un ingente rilascio di arsenico nell'atmosfera (Li and Thornton, 1993). La combustione del carbone (**Fig. 2**), oltre a determinare il rilascio di arsenico nell'atmosfera, determina anche la produzione di ingenti quantità di ceneri leggere e pesanti contenenti arsenico (Beretka and Nelson, 1994).

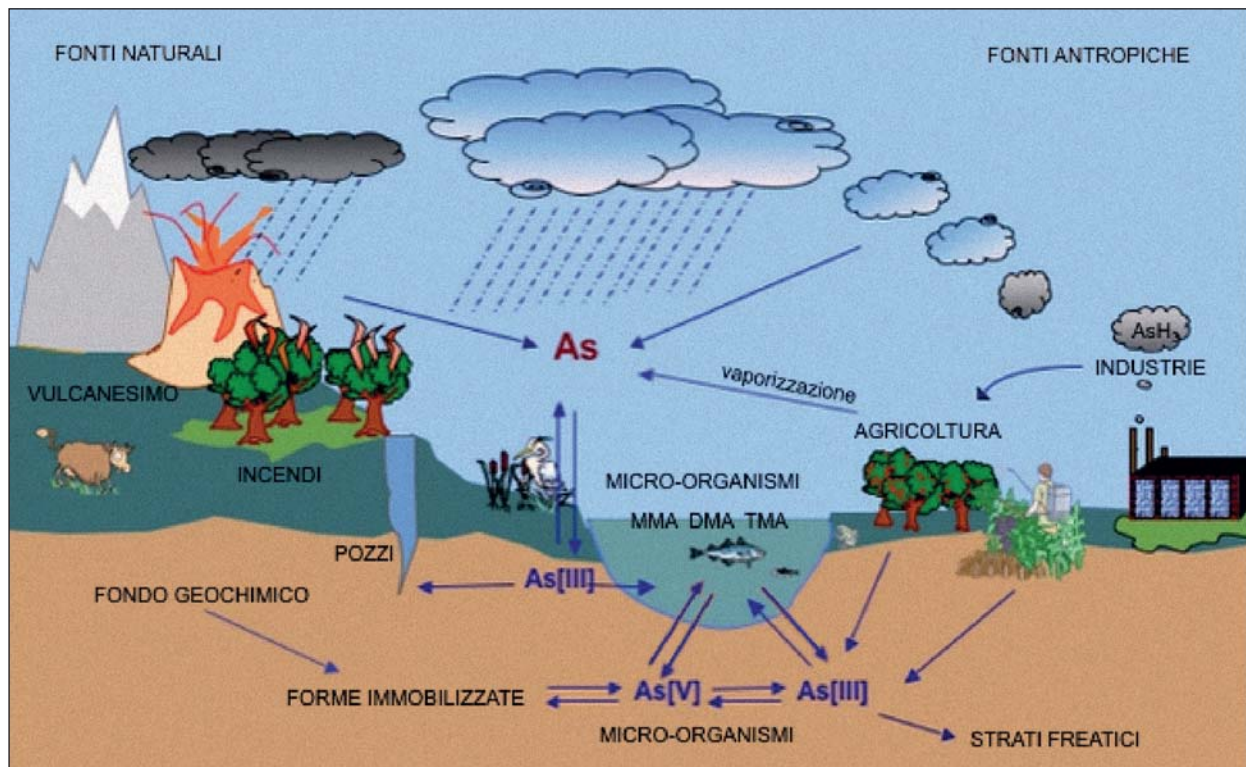


Figura 2. Ciclo dell'arsenico nell'ambiente

L'esposizione dell'uomo all'arsenico attraverso l'aria è generalmente molto bassa, normalmente la sua concentrazione ha un range variabile tra 0.4 e 30 ng/m³ (WHO, 1996).

In tabella 3 sono riassunti i valori prescritti dalla normativa per la concentrazione dell'arsenico nelle diverse matrici ambientali.

Tabella 3 – Valori prescritti dalla normativa per la concentrazione dell’arsenico nelle diverse matrici ambientali

MATRICE AMBIENTALE	DESTINAZIONE D'USO	VALORE PRESCRITTO	UNITÁ	TIPO VALORE	RIF. LEGISLATIVO
Aria ambiente	-	6	ng/m ³	tenore tot su PM ₁₀ - valore obiettivo - media su anno civile	D.Lgs. n.152/2007 (Direttiva 2004/107/CE)
Acque	consumo umano	10 ⁽¹⁾	µg/l	limite massimo	D.Lgs. n.31/2001 (Direttiva 98/83/CE)
Acque superficiali interne	-	10	µg/l	Standard di Qualità Ambientale - media annua	D.Lgs. n.152/2006 Parte III (mod. DM 14/4/2009) (Direttiva 2000/60/CE)
Altre acque di superficie (marino-costiere e di transizione)	-	5			
Suolo e sottosuolo	verde pubblico, privato e residenziale	20	mg/kg s.s.	Concentrazione Soglia di Contaminazione ⁽²⁾	D.Lgs. n.152/2006 Parte IV
	commerciale ed industriale	50			
Acque sotterranee	-	10	µg/l		
(1) Regioni e Province possono stabilire deroghe entro il limite massimo di 50 µg/l (DM Salute 22/12/2004) per un periodo massimo di 3 anni (in realtà vi sono regioni ancora in deroga) "purché nessuna deroga presenti potenziale pericolo per la salute umana e sempreché l'approvvigionamento di acque destinate al consumo umano conformi ai valori di parametro non possa essere assicurato con nessun altro mezzo congruo"					
(2) per il suolo le CSC sono da rispettare su campioni privi della frazione > 2 cm (da scartare in campo) e sull'aliquota di granulometria < 2 mm sulla totalità dei materiali secchi, comprensiva anche dello scheletro					

Nel suolo l'arsenico (arsenito e arseniato), si trova sia in forma organica che inorganica (arseniato e arsenito). Le più abbondanti sono quelle inorganiche presenti soprattutto nei minerali ferrosi e nei solfuri (Huang, 1994). Nel suolo, nell'acqua e nell'interfase acqua-sedimenti i composti organici dell'arsenico possono essere trasformati per biometilazione dai batteri (*Escherichia coli*, *Flavobacterium sp.*, *Methanobacterium sp.*) e dai funghi (*Aspergillus glaucus*, *Candida humicola*). In condizioni ossidanti si formano acido monometilarsinico (MMA), acido dimetilarsinico (DMA) e ossido di trimetilarsina (TMAO).

L'incremento dell'arsenico nell'ambiente è dovuto in modo significativo alle attività antropiche. Le industrie di ceramiche, le industrie produttrici di componenti elettronici (semiconduttori, circuiti integrati), le industrie di cosmetici, le industrie tessili, i colorifici e le vetrerie liberano notevoli quantità di arsenico nell'ambiente soprattutto sotto forma di triossido di arsenico (As₂O₃).

L'arsenico viene impiegato per la preparazione dei pallini da caccia, e per le sue proprietà semiconduttrici trova applicazione in elettronica.

Inoltre la sua presenza nell'ambiente è legata all'attività mineraria, alla fusione dei metalli, alla combustione dei rifiuti, alla produzione di energia con combustibili fossili (carbone o petrolio), all'utilizzo

di insetticidi, erbicidi e fungicidi a base di arsenico, di fertilizzanti, utilizzati in pieno campo, ma soprattutto in serra per la difesa di specie floricole ad alto reddito.

L'uso prolungato dei fertilizzanti commerciali nei quali l'arsenico è presente come impurezza può portare un accumulo di As nel suolo, in particolare, i concimi fosfatici possono contenere quantità talvolta elevate di arsenico sotto forma di impurezza (Charter et al., 1995).

Per limitare la diffusione nell'ambiente e l'esposizione umana ai composti dell'arsenico, sono state imposte fin dal 1982 restrizioni in materia di fabbricazione, immissione sul mercato ed uso, ad oggi recepite, come adeguate al progresso tecnico, nell'Allegato XVII del Regolamento CE n.1907 del 18 dicembre 2006 o REACH (recentemente modificato dal Regolamento CE n.552 del 22 giugno 2009), al punto 19, che permette di identificare gli usi ancora consentiti e dunque le potenziali fonti di esposizione e le eventuali relative misure di protezione prescritte:

“Le restrizioni non si applicano all'immagazzinamento, alla conservazione, al trattamento, al riempimento in contenitori o al trasferimento da un contenitore all'altro di tali sostanze (*inclusi i composti dell'arsenico*) se destinate all'esportazione, a meno che la fabbricazione delle sostanze non sia proibita”.

1. **Non** sono consentiti l'immissione sul mercato e l'uso come sostanze o in miscele destinate ad essere utilizzate per prevenire l'incrostazione di microrganismi, piante o animali su:
 - carene di imbarcazioni,
 - gabbie, galleggianti, reti e qualsiasi altra apparecchiatura o impianto utilizzato in piscicoltura e molluschicoltura,
 - qualsiasi apparecchiatura o impianto totalmente o parzialmente sommerso.
2. **Non** sono consentiti l'immissione sul mercato e l'uso come sostanze o in miscele destinate ad essere utilizzate per il trattamento delle acque per uso industriale, a prescindere dal loro uso.
3. **Non** sono ammessi nella protezione del legno. Inoltre, il legno che ha subito tale trattamento non può essere immesso sul mercato.
4. In deroga al paragrafo 3:
 - a) relativamente alle sostanze e alle miscele per la protezione del legno, queste possono essere utilizzate negli impianti industriali per il trattamento del legno sotto vuoto o sotto pressione se si tratta di soluzioni di composti di rame, cromo, arsenico (RCA) di tipo C e se autorizzate a norma dell'articolo 5, paragrafo 1, della Direttiva 98/8/CE. Il legno così trattato non deve essere immesso sul mercato prima del completo fissaggio del conservante.
 - b) È consentita l'immissione sul mercato di legno trattato con le soluzioni di tipo RCA, come indicato alla lettera a), se destinato ad usi professionali e industriali al fine di salvaguardare l'integrità strutturale del legno per garantire la sicurezza delle persone o del bestiame e se è improbabile che il pubblico abbia un contatto cutaneo con tale legno durante la sua vita di impiego:
 - nelle strutture portanti di edifici pubblici e agricoli, edifici adibiti a uffici e locali industriali,
 - nei ponti e nei lavori di costruzione di ponti,
 - nelle costruzioni in legno su acque dolci e acque salmastre, per esempio moli e ponti,
 - nelle barriere antirumore,
 - nei sistemi di protezione dalle valanghe,

- nelle recinzioni e barriere autostradali,
 - nei pali di conifere rotondi e scortecciati dei recinti per il bestiame,
 - nelle strutture per il contenimento della terra,
 - nei pali delle linee elettriche e di telecomunicazioni,
 - nelle traversine ferroviarie sotterranee;
- c) ferma restando l'applicazione di altre disposizioni comunitarie sulla classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura di sostanze e miscele, i fornitori devono garantire prima dell'immissione sul mercato che il legno trattato commercializzato rechi la dicitura "Strettamente riservato ad usi e impianti industriali, contiene arsenico". Inoltre il legno commercializzato in imballaggi dovrà riportare la dicitura "Indossare guanti durante la manipolazione di questo legno. Indossare una protezione per gli occhi e una maschera antipolvere durante le operazioni di taglio e lavorazione. I rifiuti di questo legno devono essere trattati come rifiuti pericolosi da un'impresa autorizzata";
- d) il legno trattato di cui alla lettera a) **non** deve essere utilizzato:
- in edifici residenziali o abitativi, a prescindere dalla destinazione,
 - in applicazioni in cui vi sia il rischio di contatti ripetuti con la pelle,
 - in acque marine,
 - per scopi agricoli diversi dai recinti per il bestiame e dagli usi strutturali di cui alla lettera b),
 - in applicazioni in cui il legno trattato potrebbe venire a contatto con articoli semilavorati o finiti destinati al consumo umano e/o animale.
5. Il legno trattato con composti dell'arsenico che era in uso nella Comunità prima del 30 settembre 2007 o che è stato immesso sul mercato conformemente al paragrafo 4 può continuare ad essere utilizzato sino alla fine della sua vita di impiego.
6. Il legno trattato con soluzione RCA di tipo C che era in uso nella Comunità prima del 30 settembre 2007 o che è stato immesso sul mercato in conformità al paragrafo 4:
- può essere utilizzato o riutilizzato alle condizioni pertinenti il suo uso di cui al paragrafo 4, lettere b), c) e d),
 - può essere immesso sul mercato alle condizioni pertinenti il suo uso di cui al paragrafo 4, lettere b), c) e d).
7. Gli Stati membri possono consentire che il legno trattato con altri tipi di soluzioni RCA in uso nella Comunità prima del 30 settembre 2007:
- venga utilizzato o riutilizzato alle condizioni pertinenti il suo uso di cui al paragrafo 4, lettere b), c) e d),
 - sia immesso sul mercato alle condizioni pertinenti il suo uso di cui al paragrafo 4, lettere b), c) e d).

Infine, considerando che tra le fonti di contaminazione ambientale compaiono anche inceneritori e discariche di rifiuti pericolosi si ritiene opportuno riportare alcune informazioni relativamente alla presenza dell'arsenico nei rifiuti.

Innanzitutto, perché un rifiuto sia classificato pericoloso, deve essere identificato con una delle voci asteriscate dell'Allegato D alla parte IV del D.Lgs. n.152/2006. Per alcune tipologie di rifiuti ciò avviene

in base alla provenienza, mentre per altre (cosiddette “voci specchio”) viene effettuato sulla base di una caratterizzazione analitica mirata alla ricerca delle sostanze che, sempre sulla base del ciclo di produzione, trasformazione ed uso, ovvero della provenienza, si ritiene possano essere presenti in esso. In quest’ultimo caso, per valutare la pericolosità del rifiuto sulla base del contenuto di arsenico, occorre tenere presente la classificazione delle specie in cui esso può essere presente nel rifiuto (vedi tab.2) ed i criteri riportati nello stesso Allegato D sopra citato.

Con riferimento alle forme di gestione dei rifiuti contenenti arsenico, si ritiene utile riportare in Tabella 4 le limitazioni normative previste sul contenuto nei rifiuti per le procedure semplificate di recupero ai sensi degli artt. 31 e 33 del D.Lgs. n.22/97 sia per i rifiuti non pericolosi che per i rifiuti pericolosi rispettivamente dal DM 5 febbraio 1998 e s.m.i. e Dm 12 giugno 2002. Entrambi sono ancora in vigore ai sensi dell’art.265 del d.lgs. n.152/2006 e prevedono limitazioni sul contenuto iniziale di arsenico per accedere a tale forma, amministrativamente agevolata, di recupero.

Tabella 4 - Limiti previsti dalla normativa, in particolare sul contenuto di arsenico, per i rifiuti da sottoporre ad operazioni di recupero in procedura semplificata

DESCRIZIONE RIFIUTO	CODICE ELENCO RIFIUTI (CER)	PROVENIENZA	LIMITE	NORMATIVA DI RIFERIMENTO
black liquor	030199	industria del pannello di fibra di legno; cartiere	As ≤ 0,1 mg/kg t.q. (0,00001%)	DM 5/02/1998 e s.m.i.
colaticci o schiume di Pb	100401* 100402*	scorificazione dei bagni di fusione di leghe Sn-Pb nell’industria metallurgica	As < 0,01%	DM 12/06/2002
batterie al Pb esauste e di scarto e loro parti	160601* 200133*	raccolta finalizzata o selezione di qualità da industria produzione accumulatori	As < 0,5%	
schiumatura e ossidi di Pb e sue leghe	100402* 100401*	forni di fusione del Pb secondario	As < 1%	
ferriti di Zn	110202*	ciclo idrometallurgico primario e secondario dello Zn	As<1,9%	
scorie da metallurgia di Zn (non pericoloso) e Pb	100501 NP 100401*	industria di produzione di Pb e Zn da minerali primari e metallurgia termica dei metalli non ferrosi	As<0,4%	
fanghi e sali ad alto contenuto di Cu	060313* 060405* 190205*	Attività di incisione dei circuiti stampati; residui di lavorazione di soluzioni a base di Cu	As < 100 mg/kg (0,01%)	

fanghi palabili contenenti Pb e S	060405* 100407* 190205*	ciclo di produzione del Pb secondario mediante recupero degli accumulatori al Pb esausti; cicli di trattamento primario degli ossidi di Zn e Pb; ciclo di produzione di accumulatori al Pb	As < 0,5% s.s.	DM 12/06/2002
melme acide da impianti di solfonazione, soluzioni di H ₂ SO ₄ esausto	060101*	industria chimica e petrolchimica	As < 0,5 ppm (0,00005%)	
carboni attivi esausti	060702* 061302* 190110* 070109* 070110* 070209* 070210* 070309* 070310* 070409* 070410* 070509* 070510* 070609* 070610* 070709* 070710*	processi produttivi industriali ed artigianali; incenerimento o pirolisi di rifiuti urbani e assimilati	As < 3% (in riferimento alla classificazione T) - inferiore nel caso siano presenti forme chimiche classificate T+	

Si evidenzia così come i contenuti più elevati siano previsti per i rifiuti dall'industria metallurgica dei metalli non ferrosi, principalmente zinco e piombo.

Considerando i processi termici, il riferimento è il d.lgs. n.133/2005, attuazione della Direttiva 2000/76/CE in materia di incenerimento dei rifiuti che stabilisce per le emissioni in aria un limite che è però cumulativo per dieci metalli pesanti, come del resto è cumulativo, riferito ad una ventina di sostanze, anche il limite per le emissioni in atmosfera da impianti industriali previsto dal d.lgs. n.152/2006 Parte V. Il D.Lgs.n.133/2005, stabilisce anche un limite specifico per l'arsenico nelle acque reflue derivanti da un'eventuale trattamento ad umido degli effluenti gassosi pari 0,15 mg/l, dunque più restrittivo del limite previsto in generale per lo scarico in acque superficiali ed in rete fognaria dal D.Lgs. n.152/2006 Parte III, pari a 0.5 mg/l.

Inoltre occorre citare il DM 3/8/2005 recante criteri di ammissibilità dei rifiuti in discarica (con riferimento alla Decisione 2003/33/CE) che prevede limiti per l'arsenico, generalmente sull'eluato, per lo

smaltimento nelle diverse tipologie di discarica. In particolare (riferendo i limiti al rifiuto come As_{el} , piuttosto che all'eluato come riportato nelle tabelle del DM):

- in discarica per rifiuti inerti: $As \leq 50 \text{ mg/kg s.s. e } As_{el} \leq 0,5 \text{ mg/kg}^*$;
- in discarica per rifiuti non pericolosi: $As_{el} \leq 2 \text{ mg/kg}^*$;
- in discarica per rifiuti pericolosi: $As_{el} \leq 25 \text{ mg/kg}^*$;

* L/S = 10 l/kg – prove di eluizione ed analisi degli eluati mediante i metodi analitici ENV 12457/1-4, ENV 12506 ed ENV 13370.

Considerando la cancerogenicità di alcune forme chimiche dell'arsenico, è opportuno ricordare che il DM 3 agosto 2005 prevede anche il divieto di conferimento in discarica per rifiuti non pericolosi di rifiuti che contengono le sostanze cancerogene previste dalla Tabella 1, Allegato V alla Parte IV del d.lgs. n.152/2006, in concentrazioni superiori a 1/10 delle rispettive concentrazioni limite riportate all'articolo 2 della decisione della Commissione 2000/532/Ce e successive modificazioni, con una sommatoria massima per tutti i diversi composti pari allo 0.1%.

Infine, la maggioranza degli impianti di gestione dei rifiuti ed in particolare, impianti per l'eliminazione od il recupero dei rifiuti pericolosi, impianti di trattamento chimico-fisico e biologico, inceneritori e discariche di rifiuti anche non pericolosi, oltre certe soglie di potenzialità, sono soggetti al D.Lgs. n. 152/2006 parte II, come modificata dal D.Lgs. 128/2010, di attuazione della direttiva 2008/1/CE relativa alla prevenzione e riduzione integrate dell'inquinamento, meglio nota come IPPC (vedi Par. 6 ed in particolare tab.10). Esso prevede che gli impianti applichino le Migliori Tecniche Disponibili per il settore, ovvero operino su una logica che va oltre la semplice imposizione di limiti alle emissioni, considerando le prestazioni ottenibili mediante tali tecniche (non solo tecnologie dunque, ma anche modalità gestionali), a costi sostenibili e nel rispetto delle esigenze ambientali locali.

4. DIFFUSIONE DELL'ARSENICO NEL MONDO

In alcune aree dell'Argentina, Bangladesh, Cile, Cina, Ungheria, India, Messico, Romania, Taiwan, Vietnam e in molte zone dell'America (**Fig. 3** Smedley e Kinniburgh, 2002) le concentrazioni di arsenico sono superiori ai 50 µg/l. In diverse zone dell'Argentina, in Giappone, Nuova Zelanda, Cile, Islanda, Francia, USA l'arsenico è presente nelle acque termali. In Ghana, Grecia, Thailandia e USA i problemi legati alla presenza dell'arsenico esistono nelle aree interessate da attività mineraria. La presenza di As nelle acque di falda si riscontra sia in condizioni ossidanti che riducenti e sia in climi umido/temperati che aridi.

Particolarmente grave è la situazione ambientale in Bangladesh dove molti pozzi rurali contaminati sono utilizzati per l'irrigazione delle coltivazioni di riso. Sia in Bangladesh che in Bengala si riscontra la presenza di molte specie tossiche dell'As(III) nelle acque di falda delle aree inquinate (Mandal e Suzuki, 2002).



Figura 3. Aree affette da acque inquinate da arsenico (Smedley e Kinniburgh, 2002)

5. DIFFUSIONE DELL'ARSENICO IN ITALIA

La presenza dell'arsenico nei suoli e nelle acque è rilevabile in diverse regioni italiane ed è generalmente dovuta a fenomeni naturali, anche se sono stati evidenziati casi di contaminazione antropica. In Italia è stata evidenziata la presenza di concentrazioni anomale di As in diverse regioni tra cui Lombardia, Toscana, Lazio, Sardegna, Campania e Trentino (Dall'Aglio, 1996). Il D. Lgs. 31/01, entrato in vigore nel dicembre 2003, ha stabilito che l'arsenico rappresenta uno dei parametri critici per la qualità dell'acqua potabile (vedi tab. 3), in accordo con le decisioni dell'OMS sulla tossicità di alcune forme di arsenico nelle acque potabili. Dati relativi ai valori di arsenico in Italia ci informano che essi sono frequentemente superiori a 50 µg/L. Inoltre l'aggiornamento sullo stato qualitativo delle acque sotterranee risulta difficoltosa a causa della copertura disomogenea delle reti di monitoraggio regionali. Ciò nonostante sono disponibili dati sulle acque sotterranee di molti comuni di Emilia Romagna e Lombardia (Zavatti et al., 1995), del Mediobrenta (Veneto) (Baldantoni e Ferronato, 1996), e della provincia di Mantova (Prandi, 1998); sulle acque di sorgente e dei laghi del Lazio settentrionale e sulle acque sotterranee dei Campi Flegrei (Napoli) (Dall'Aglio, 1995). Tra le aree maggiormente inquinate la Piana di Scarlino, nel Grossetano (Toscana), presenta una combinazione di fattori, naturali e antropici che ha determinato, in alcune località, un accumulo di arsenico nei suoli fino a concentrazioni di 1000 mg/kg. Le cause che hanno determinato questo inquinamento sono state attribuite sia alle alluvioni del Fiume Pecora, particolarmente ricco di sali di arsenico insolubili depositati ed inglobati nei sedimenti argillosi (Nuova Solmine, 1999), sia alle attività industriali per la lavorazione della pirite ed alle attività paleo-industriali (Arpat, 2001). La concentrazione di As nei suoli della zona mediana della Piana è compresa tra i 20 mg/kg e i 50 mg/kg. Anche in Sardegna, nell'area mineraria del Furtei, è stata accertata la presenza di questo elemento in una miniera d'oro ricca di arsenico dove la contaminazione riguarda le acque di falda, che affiorano all'interno degli scavi, con concentrazioni di arsenico intorno a 5 mg/kg. In Piemonte elevate concentrazioni di As si trovano soprattutto nella Valle Anzasca, dove sono presenti miniere aurifere già dall'epoca romana. Concentrazioni elevate di questo elemento sono state riscontrate nei suoli, nei sedimenti della Valle, e nelle acque superficiali e di falda. In Italia manca ancora una raccolta sistematica delle informazioni relative alla presenza di arsenico nelle acque utilizzate come approvvigionamento per usi potabili e di quelle distribuite in rete. **Fig. 4 (Mantelli F., 2002).**

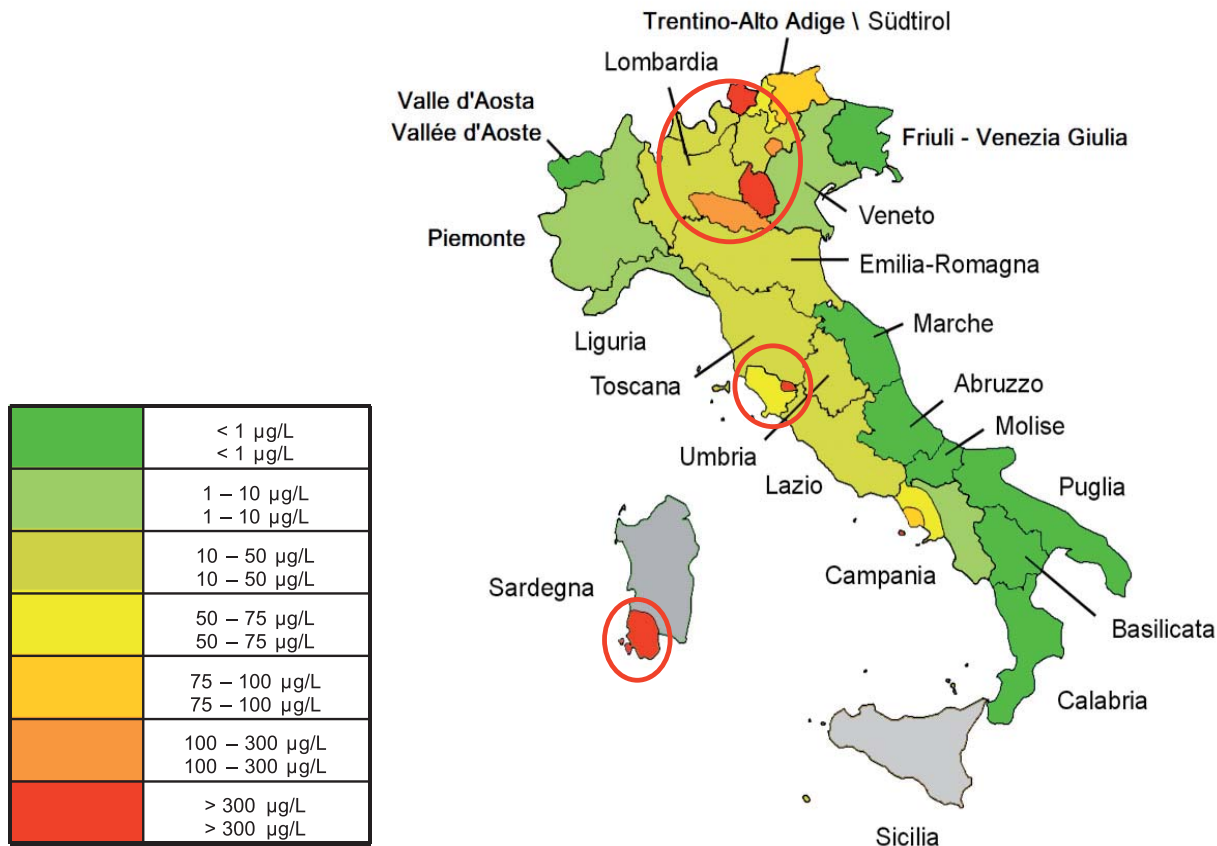


Figura 4 - La contaminazione da As nell'acqua destinata al consumo umano è considerata una grave problematica per la salute, poiché è associata a un aumentato rischio di sviluppare diverse patologie (tumori della pelle, del polmone, della vescica e altri tumori, diabete di tipo 2) malattie vascolari e cardiovascolari, effetti sullo sviluppo e sulla riproduzione, effetti neurologici e cognitivi. Un aumento del rischio per la salute può verificarsi a basse dosi, corrispondenti 10-50 µg/l. Va tuttavia rilevato che in animali di laboratorio e in colture cellulari sono stati evidenziati effetti biologici a livelli sensibilmente inferiori (Gialdini, et al., 2008).

Nelle acque superficiali, la prima ricognizione sulla presenza di sostanze pericolose nei corpi idrici in Italia, in attuazione della Direttiva 76/464/CEE (APAT, 2003), relativa ai corsi d'acqua di alcune regioni italiane per il triennio 2000-2002 (Umbria, Emilia Romagna, Liguria, Basilicata e Veneto), pur evidenziando che l'arsenico è la sostanza rilevata con maggior presenza, mostra valori di concentrazione sempre inferiori allo SQA-MA per le acque superficiali interne (10 µg/l), con l'unica eccezione del Tor-

rente Argentina, presso il comune di Sellano (PG), in Umbria, per il 2002 (picco pari a 23,650 µg/l). Dati più recente, sono reperibili in letteratura (Cidu et al., 2008) per i corsi d’acqua Rio Gruppa e Rio Baccu Locci, entrambi nella bassa valle del Flumendosa, di cui il primo, con concentrazioni comprese tra 11 e 30 µg/l, drena l’area mineralizzata ad arsenopirite di Monte Ollasteddu, ed il secondo misura concentrazioni molto più elevate, tra 100 e 360 µg/l, a causa dei materiali contaminati riversati durante l’attività mineraria.

La **Tabella 5** riporta l’elaborazione dei dati grezzi relativi alla presenza di **arsenico nell’aria** rilevate nelle stazioni presenti sul territorio italiano, limitate però a Piemonte, Lombardia e Sicilia e per anni e periodi non omogenei (oltre agli anni di rilevazione, per alcune stazioni differiscono anche i periodi dell’anno di operatività).

Tabella 5 – Livelli di concentrazione di arsenico nell’aria rilevati in alcune regioni italiane (elaborazione di dati grezzi da ISPRA, 2010a)

REGIONE	n.stazioni	n. valori	media (ng/m ³)			n.val.>obiettivo (6 ng/m ³)
			2008	2007	2005	
Piemonte	20	>6.200	1	1		25*
Lombardia	14	1.733	1			11
Sicilia	4	96			2	3
* tutti rilevati a gennaio 2007 dalla stazione NO_3106_Verdi (6,28 ng/m ³)						

Infine, con riferimento alla presenza di quantità considerevoli di arsenico e suoi composti in insediamenti industriali, sono stati presi in considerazione gli stabilimenti soggetti al Decreto legislativo n.334 del 17 agosto 1999 e s.m.i. (attuazione della così detta Direttiva “Seveso-bis”). Alcuni composti dell’arsenico sono infatti inseriti nell’Allegato I, parte 1 al Decreto, riguardante sostanze specifiche, mentre l’arsenico metallico ed altri suoi composti sono inclusi nell’Allegato I, parte 2 del decreto, al punto 2, sostanze tossiche ed al punto 9.i sostanze pericolose per l’ambiente in combinazione con la frase di rischio R50 “molto tossico per gli organismi acquatici”, compresa la frase R50/53 (si veda in proposito la **Tabella 2**).

In **Tabella 6** si riportano i quantitativi detenuti in Italia al 2007 per tali sostanze e categorie di sostanze; ovviamente per le categorie d’interesse non è stata riportata la distribuzione regionale, in quanto il dato è riferito a sostanze e/o miscele della categoria nel suo complesso.

Tabella 6 – Quantitativi di arsenico e suoi composti detenuti in Italia (APAT e Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 2007)

Arsenico e suoi composti nel d.lgs. n.334/99 (c.d. "Seveso bis" e s.m.i.)	tonnellate detenute				quantità limite ai fini dell'applicazione (t)	
	Piemonte	Abruzzo	Lombardia	Totale	artt. 6 ⁽¹⁾ e 7 ⁽²⁾	art.8 ⁽³⁾
Anidride arsenica (acido (V) arsenico) e/o suoi sali			3	3	1	2
Anidride arseniosa (acido (III) arsenico) e/o suoi sali			50,05	50	0,1	0,1
Triidruro di arsenico (arsina)	0,003	0,0044	0,018	0,0254	0,2	1
Sostanze pericolose classificate come tossiche				1463728*	50	200
Sostanze classificate pericolose per l'ambiente in combinazione con la frase di rischio R50 (compresa frase R50/53)				253067*	200	500
⁽¹⁾ obbligo di notifica						
⁽²⁾ obbligo di redazione di un documento di politica di prevenzione degli incidenti rilevanti e di attuazione del Sistema di Gestione della Sicurezza						
⁽³⁾ obbligo di redazione di un Rapporto di Sicurezza						
* il totale è riferito al complesso delle sostanze e/o miscele della categoria (non solo all'arsenico e suoi composti)						

6. SORGENTI ESPOSITIVE PER LA POPOLAZIONE GENERALE

Per l'uomo la principale fonte di esposizione non occupazionale ad As è rappresentata dalla dieta (Fig.5). In particolare il contributo totale di As inorganico è del 17-24%.

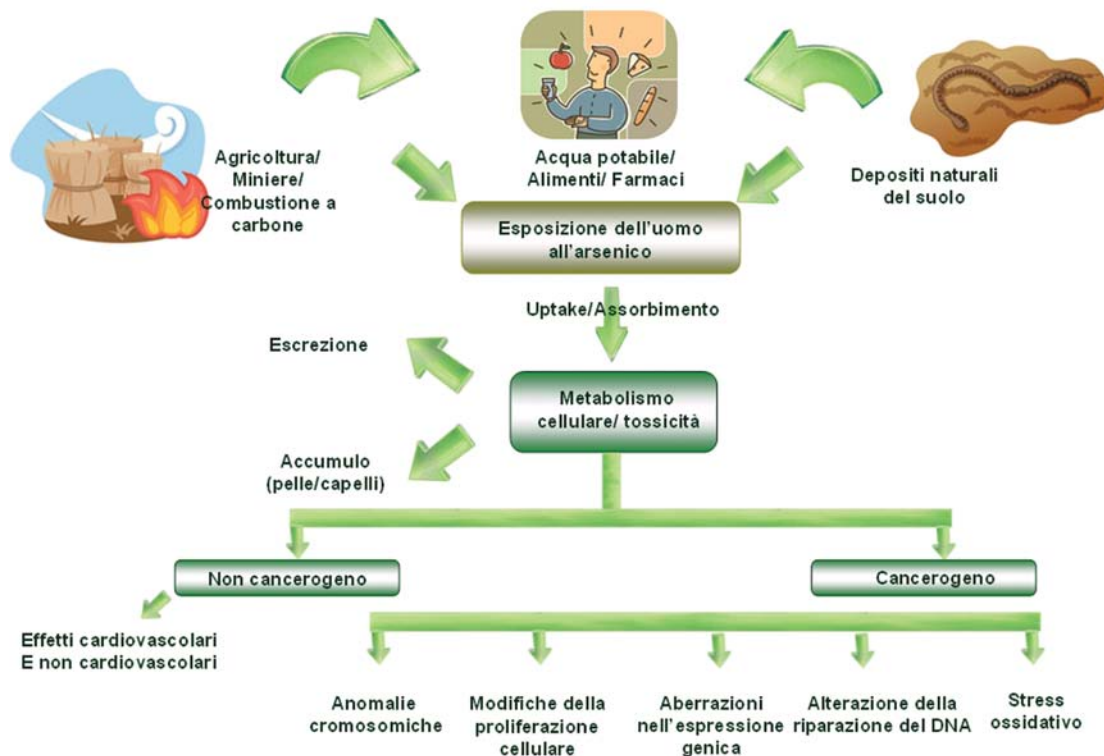


Figura 5 L'esposizione ambientale ad arsenico della popolazione generale si può verificare nei pressi di fonderie e di insediamenti antropici per la produzione di energia (centrali a carbone). L'esposizione può avvenire inoltre per contatto cutaneo, con suolo contaminato e meno frequentemente con antiparassitari contenenti arsenico. Per l'uomo la principale fonte di esposizione non occupazionale ad As è rappresentata dalla dieta. L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC, 1987) e l'US EPA (1993), basandosi sulle evidenze nell'uomo, hanno classificato l'As inorganico come un cancerogeno inserendolo rispettivamente nel gruppo I e nel gruppo A. Il meccanismo di cancerogenesi indotto dall'As inorganico non è noto, ma vi sono evidenze che l'esposizione può generare radicali liberi e altre specie reattive nei sistemi biologici. I possibili meccanismi di cancerogenicità comprendono la genotossicità, lo stress ossidativo, l'inibizione della riparazione del DNA, la promozione della tumorigenesi, la co-cancerogenesi, la proliferazione cellulare ma anche alterazioni della trasduzione del segnale o la metilazione del DNA. Più meccanismi possono interagire tra loro.

In condizioni idrotermali questo elemento può essere selettivamente mobilizzato raggiungendo tenori anche dell'ordine del mg/l.

La presenza dell'arsenico nelle acque costituisce un problema, in particolare per i gestori degli impianti di potabilizzazione, che ha portato a ricercare nuove tecnologie di rimozione di tale inquinante e a sviluppare nuovi criteri di gestione degli impianti di potabilizzazione al fine di ottimizzare i rendimenti di abbattimento dell'arsenico e di raggiungere il nuovo limite normativo.

Le acque sotterranee contaminate da As sono spesso utilizzate in agricoltura per irrigare le colture e per l'alimentazione e il consumo animale. Questo potrebbe potenzialmente far entrare l'arsenico nella catena alimentare umana (Beni et al., 2007).

E' stato stimato che in Europa, nei gruppi etnici grandi consumatori di riso, l'esposizione di arsenico inorganico sia di circa 1 µg/kg di peso corporeo al giorno, mentre in quelli grandi consumatori di prodotti a base di alghe sia di circa 4 µg/kg di peso corporeo al giorno. Inoltre l'esposizione alimentare all'arsenico inorganico nei bambini al di sotto dei tre anni di età è circa 2-3 volte maggiore a quella degli adulti a causa del maggiore consumo di cibo rispetto al loro peso corporeo (EFSA 2009).

Per l'arsenico inorganico nell'acqua potabile è stato stabilito un PTWI (provisional tolerable weekly intake 0.015 mg/kg), che non è stato fissato per le derrate alimentari (WHO 1989).

Un ulteriore fonte di esposizione è rappresentata dal riutilizzo delle acque a scopo irriguo (colture industriali, vivai), previo adeguato trattamento ed attraverso un sistema di convogliamento e distribuzione, che generalmente prescinde da diluizione con acque naturali, che rappresenta un'importante componente del ciclo delle acque ed è una prassi che sempre più si sta diffondendo.

Questa pratica può comportare però degli effetti negativi quali l'accumulo nell'ambiente, in particolare nelle colture, di alcuni composti (metalli pesanti, pesticidi ed altre classi di composti lentamente biodegradabili o non biodegradabili) tali da incrementare i rischi di tumore, mutagenicità e teratogenicità.

Per quanto **riguarda le emissioni in aria da attività produttive**, in **Tabella 7** è riportata la distribuzione regionale della media delle emissioni in aria stimate per gli anni 1990, 1995, 2000 e 2005 per macro-settore della classificazione CORINAIR (in totale 11, di cui 6 considerati per l'arsenico) ed in **Tabella 8** la distribuzione provinciale relativa alle quattro regioni per cui sono stimati i quantitativi maggiori, ovvero Veneto, Lombardia, Toscana e Puglia. Le **Figure 6, 7 e 8** rappresentano i dati di Tabella 6. I dati sono stati estratti dal database (ISPRA, 2010b) (per dettagli sulle modalità di stima e disaggregazione si veda (ISPRA, 2009) ed in particolare pag. 61)

Tabella 7 - Media delle emissioni in aria stimate per gli anni 1990, 1995, 2000 e 2005, per regione e per macrosettore della classificazione CORINAIR (rielaborazione da (ISPRA, 2010b))

REGIONE	MEDIA PER MACROSETTORE ANNI 1990-1995-2000-2005 (kg/anno)							Contributo Regioni
	01 Produzione energia e trasform. combustibili	02 Combustione non industriale	03 Combustione nell'industria	04 Processi produttivi	08 Altre sorgenti mobili e macchinari	09 Trattamento e smaltimento rifiuti	Totale	
VENETO	599,92	91,41	10231,07	130,47	10,91	3,85	11067,63	29,6%
LOMBARDIA	420,92	259,76	4482,00	468,25	2,75	5,21	5638,89	15,1%
TOSCANA	147,75	46,70	4278,09	39,10	11,14	10,71	4533,49	12,1%
PUGLIA	324,24	19,87	2086,24	191,39	9,59	0,29	2631,62	7,0%
CAMPANIA	33,46	16,67	2355,09	22,81	12,62	0,90	2441,55	6,5%
EMILIA ROMAGNA	148,04	92,89	2087,21	5,95	3,86	7,53	2345,47	6,3%
PIEMONTE	61,67	67,44	1203,69	103,01	1,06	1,21	1438,08	3,8%
LAZIO	492,89	53,06	777,30	0,01	10,03	0,32	1333,62	3,6%
SARDEGNA	270,01	26,91	918,76	5,50	9,23	2,45	1232,85	3,3%
FRIULI VENEZIA GIULIA	115,56	30,12	789,28	41,51	3,47	9,97	989,91	2,6%
LIGURIA	429,59	20,26	477,08	34,96	8,04		969,93	2,6%
SICILIA	399,81	15,35	483,32	15,26	14,07	1,13	928,95	2,5%
ABRUZZO	30,10	8,82	488,78		1,48	1,64	530,81	1,4%
CALABRIA	115,65	6,36	279,78		1,46	0,20	403,43	1,1%
UMBRIA	63,59	5,46	172,17	53,69	0,28	0,00	295,19	0,8%
MARCHE	8,25	14,26	257,36	2,31	3,14	0,00	285,33	0,8%
TRENTINO ALTO ADIGE		48,01	168,96	23,17	0,22	0,14	240,50	0,6%
BASILICATA		2,70	48,08	17,06		0,00	67,84	0,2%
VALLE D'AOSTA		9,99	9,75	8,84			28,58	0,1%
MOLISE	1,21	1,05	23,87		0,19	0,00	26,32	0,1%
Totale	3662,68	837,07	31617,86	1163,29	103,53	45,54	37429,99	
Contributo macrosettori	9,8%	2,2%	84,5%	3,1%	0,3%	0,1%		

Tabella 8 - Media delle emissioni in aria stimate per gli anni 1990, 1995, 2000 e 2005, per le regioni Veneto, Lombardia, Toscana e Puglia, per provincia e per macrosettore della classificazione CORINAIR (rielaborazione da (ISPRA, 2010b))

PROVINCE	MEDIA PER MACROSETTORE ANNI 1990-1995-2000-2005 (kg/anno)							
	01	02	03	04	08	09	Totale	Contributo province
VENETO								
Venezia	403,54	33,97	5826,30	1,98	10,60	5,13	6281,54	56,7%
Treviso		8,16	1286,58				1294,75	11,7%
Padova		11,64	1051,17	35,33		0,00	1098,14	9,9%
Vicenza		23,03	1005,88	50,37			1079,27	9,7%
Verona	3,95	5,94	992,32	37,39	0,22		1039,82	9,4%
Rovigo	195,39	3,38	49,09	6,40	0,08		254,35	2,3%
Belluno		5,28	19,73				25,01	0,2%
Totale	602,89	91,41	10231,07	131,46	10,91	5,13	11072,87	
Contributo macrosettori	5,4%	0,8%	92,4%	1,2%	0,1%	0,0%		
LOMBARDIA								
Milano	136,59	137,83	2287,15	37,98	0,08	0,88	2600,52	44,3%
Brescia	11,92	40,24	377,08	317,36	0,44	0,00	747,04	12,7%
Bergamo		25,32	530,86	80,27	0,23	3,19	639,86	10,9%
Mantova	208,49	4,96	270,35		0,30	0,63	484,73	8,3%
Como		17,26	358,74		0,88	0,11	377,00	6,4%
Varese	4,77	9,18	222,27	19,17	0,34	0,63	256,35	4,4%
Lecco		5,22	246,44		0,63		252,29	4,3%
Pavia	13,94	12,53	197,73		0,08	0,01	224,29	3,8%
Lodi	91,17	0,07	109,85		0,09		201,18	3,4%
Cremona	3,20	4,71	58,08	13,46	0,08	0,04	79,58	1,4%
Sondrio		5,09	1,59				6,68	0,1%
Totale	470,08	262,41	4660,14	468,25	3,15	5,48	5869,51	
Contributo macrosettori	8,0%	4,5%	79,4%	8,0%	0,1%	0,1%		
TOSCANA								
Firenze		12,06	1858,12			5,85	1876,03	41,2%
Arezzo	22,64	4,33	883,16			0,03	910,16	20,0%
Siena		2,83	640,68			0,43	643,93	14,1%

Livorno	122,26	9,89	334,98	37,70	10,50	0,36	515,70	11,3%
Pisa		3,48	431,35				434,83	9,6%
Lucca	11,38	4,86	104,00		0,24		120,48	2,6%
Pistoia		3,97	20,45				24,43	0,5%
Prato		2,18	0,47			7,95	10,61	0,2%
Massa		0,40	2,87	5,59	0,38		9,23	0,2%
Grosseto		3,80	2,24		0,06	0,78	6,87	0,2%
Totale	156,29	47,79	4278,33	43,29	11,17	15,40	4552,27	
Contributo macrosettori	3,4%	1,0%	94,0%	1,0%	0,2%	0,3%		
PUGLIA								
Bari	15,44	5,44	175,37	0,99	3,58		200,82	7,6%
Brindisi	282,16	2,06	44,36		1,99		330,58	12,5%
Foggia	15,27	2,48	101,42		1,36	0,15	120,69	4,6%
Lecce		3,63	77,53		0,54	0,13	81,84	3,1%
Taranto	22,82	6,25	1687,56	190,90	2,12	0,01	1909,65	72,2%
Totale	335,69	19,87	2086,24	191,89	9,59	0,29	2643,57	
Contributo macrosettori	12,7%	0,8%	78,9%	7,3%	0,4%	0,0%		

Emissioni As in aria (media anni 1990-1995-2000-2005) per regioni e macrosettori CORINAIR (kg/a)

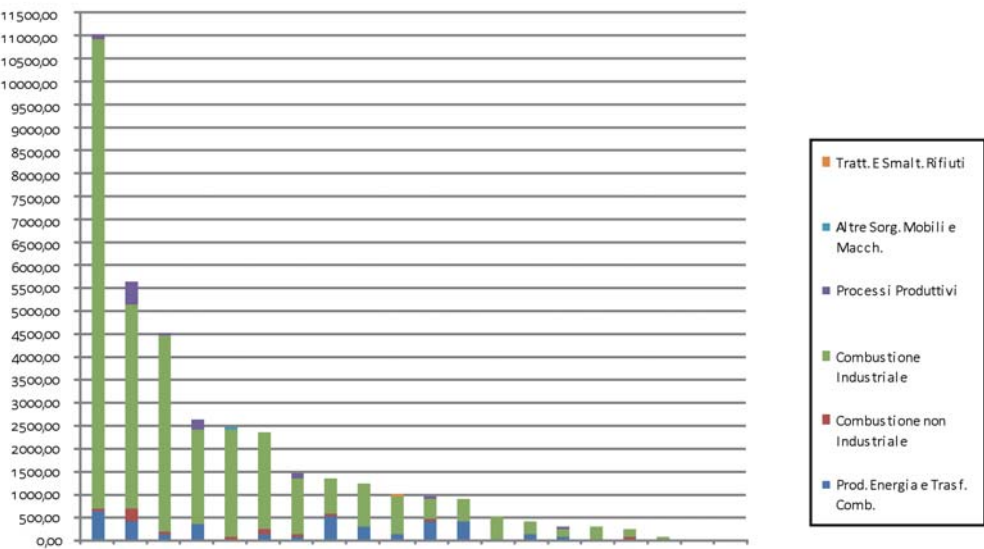


Figura 6

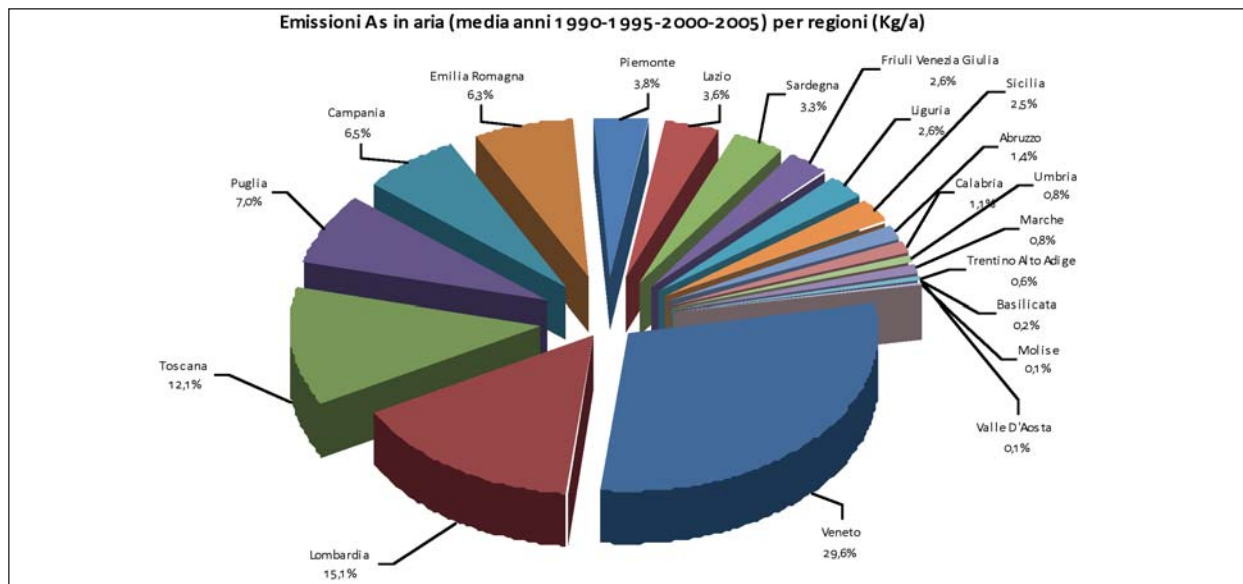


Figura 7

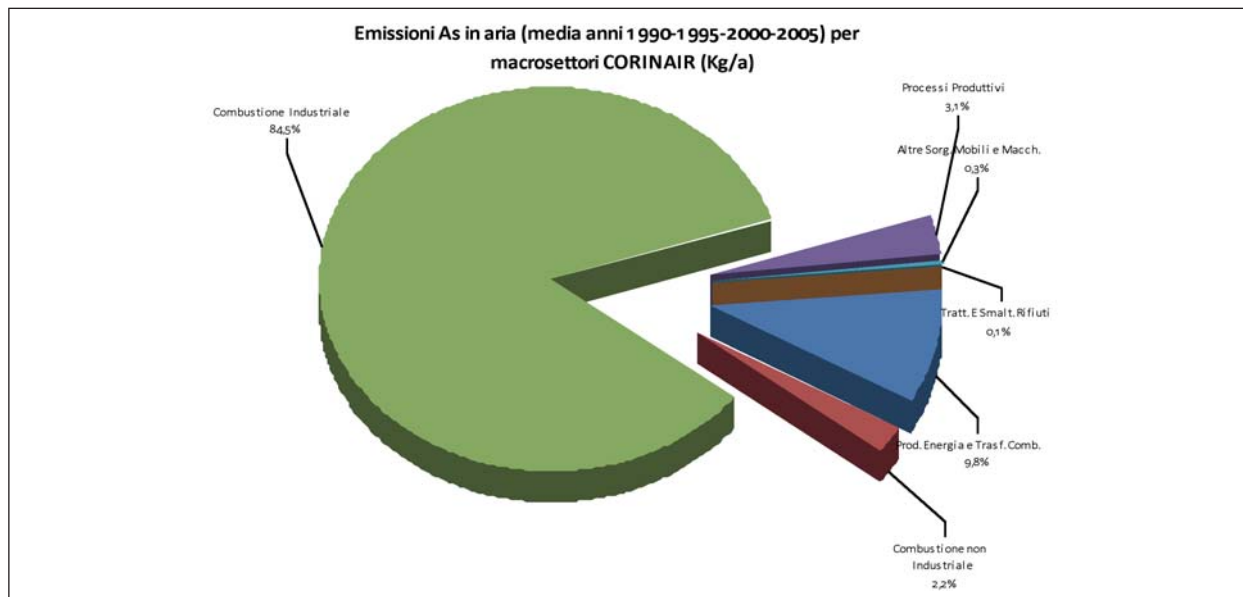


Figura 8

Da tali dati risulta evidente come:

- domina il contributo del macrosettore 03 Combustione industriale
- oltre la metà delle emissioni è localizzata nelle prime tre regioni, Veneto, Lombardia e Toscana;
- in particolare colpisce il fatto che nella sola provincia di Venezia siano state emesse mediamente oltre 6 t/a di As, ca. il 17% della media totale nazionale.

In **Tabella 9** è riportata l'articolazione settoriale, con riferimento esclusivo ai settori che emettono arsenico in aria, in modo da poterne individuare le maggiori fonti industriali di emissione.

Tabella 9 – Settori del macrosettore CORINAIR 03 caratterizzati da emissioni di arsenico (ISPRA, 2009)

CODICE	DESCRIZIONE
030100	Combustione nelle caldaie, turbine e motori e a combustione interna
030101	Caldaie con potenza termica ≥ 300 MW
030102	Caldaie con potenza termica ≥ 50 e < 300 MW
030103	Caldaie con potenza termica < 50 MW
030104	Turbine a gas
030105	Motori a combustione interna
030106	Altri sistemi (condizionatori, ecc.)
030200	Forni di processo senza contatto
030203	Altoforni
030204	Forni per gesso
030300	Processi di combustione con contatto
030301	Impianti di sinterizzazione e pellettizzazione (eccetto 040209)
030302	Forni siderurgici di riscaldamento successivo
030303	Fonderie di ghisa ed acciaio
030304	Produzione di piombo di prima fusione
030305	Produzione di zinco di prima fusione
030308	Produzione di zinco di seconda fusione
030309	Produzione di rame di seconda fusione
030310	Produzione di alluminio di seconda fusione
030311	Cemento
030314	Vetro piano
030315	Contenitori di vetro
030316	Lana di vetro (eccetto l'uso di solventi)
030317	Altro vetro

E' interessante confrontare le stime rappresentate in Tabella 7 con quelle del registro INES (Inventario Nazionale Emissioni e loro Sorgenti, istituito ai sensi dell'art.10. del D.Lgs. n.372/99, prima attuazione della Direttiva IPPC, poi ripreso nell'art.12 del DLgs n.59/2005, vista la Decisione CE n.2000/479 che ha istituito il Registro europeo delle emissioni inquinanti o EPER, poi sostituito con il Registro europeo delle emissioni e dei trasferimenti di sostanze inquinanti o PRTR, istituito dal

Regolamento CE n.166/2006, che ha ampliato l'ambito di dichiarazione). Il registro INES riporta le emissioni relative alle attività soggette ad IPPC, con emissioni superiori a specifiche soglie per ciascun inquinante. Le soglie per la dichiarazione delle emissioni di arsenico sono pari a 20 kg/a per l'aria e 5 kg/a per l'acqua. Il confronto è effettuato esclusivamente in termini qualitativi, vista la diversità degli anni di riferimento, considerato che l'inventario nazionale prende in considerazione tutte le fonti comprese quelle non industriali (anche se dalla tabella 7 e dalla figura 8 emerge la loro scarsissima incidenza) e la diversa metodologia di determinazione (in un caso stima, nell'altro dichiarazione per mezzo di metodi misti, misurazioni, stime e calcoli). L'estratto della dichiarazione INES del 2007, relativa all'anno 2006 ed ultima validata dalle autorità competenti, per le emissioni in aria di arsenico è riportato in **Tabella 10** (la descrizione dei codici di attività IPPC coinvolti è riportata in calce alla tabella).

Tabella 10 – Emissioni di arsenico in aria da impianti soggetti ad IPPC e superiori alla soglia di dichiarazione (20 kg/a) (INES, 2006)

REGIONE	SIGLA PROV.	RAGIONE SOCIALE	NOME COMPLESSO	CODICE ATTIVITÀ IPPC	EMISSIONE 2006 (kg/a)*
PIEMONTE	NO	SARPOM S.P.A.	SARPOM - Raffineria di Trecate	1.2	35
LOMBARDIA	PV	ENI S.P.A.	RAFFINERIA DI SANNAZZARO DE' BURGONDI	1.2	59,2
	MN	ENDESA ITALIA S.P.A.	CENTRALE TERMoeLETTRICA DI OSTIGLIA	1.1	31,1
	MN	ENDESA ITALIA S.P.A.	CENTRALE TERMoeLETTRICA DI OSTIGLIA	1.1	4,3
VENETO	VI	SAINT GOBAIN VETRI S.P.A.	Stabilimento di Lonigo	3.3	21,6
	VE	ENEL PRODUZIONE SPA	IMPIANTO TERMoeLETTRICO DI FUSINA	1.1	352,3
FRIULI VENEZIA GIULIA	UD	ACCIAIERIE BERTOLI SAFAU S.P.A.	Acciaierie Bertoli Safau S.p.A.	2.2	28
TOSCANA	LI	EDISON	CENTRALI TERMoeLETTRICHE DI PIOMBINO	1.1	1,2
	LI	EDISON	CENTRALI TERMoeLETTRICHE DI PIOMBINO	1.1	121,9
MARCHE	MC	SACCI COMMISSIONARIA S.P.A.	cementeria di Castelraimondo	3.1	29,2
PUGLIA	BR	ENEL PRODUZIONE SPA	CENTRALE TERMoeLETTRICA Federico II (BR SUD)	1.1	24,1

SICILIA	CL	RAFFINERIA DI GELA SPA	RAFFINERIA DI GELA SPA	1.2	25,2
	CT	ST MICROELECTRONICS	sito di Catania	6.7	57
	SR	ISAB ENERGY S.R.L.	ISAB ENERGY Impianto IGCC	1.1	196,8
	SR	ERG NUOVE CENTRALI S.P.A.	ERG Nuove Centrali Impianti Nord	1.1	34,9
SARDEGNA	SS	ENDESA ITALIA S.P.A.	CENTRALE TERMoeLETTRICA DI FIUME SANTO	1.1	147,3
	SS	ENDESA ITALIA S.P.A.	CENTRALE TERMoeLETTRICA DI FIUME SANTO	1.1	0,1
	CA	SARAS RAFFINERIE SARDE S.P.A.	Saras Raffinerie Sarde S.P.A.	1.2	3,7
	CA	SARAS RAFFINERIE SARDE S.P.A.	Saras Raffinerie Sarde S.P.A.	1.1	62,1
	CI	ENEL PRODUZIONE SPA	UB Sulcis - ITE Portoscuso	1.1	240,8
TOTALE					1475,8
1.1 Impianti di combustione con potenza termica di combustione di oltre 50 MW.					
1.2. Raffinerie di petrolio e di gas.					
2.2. Impianti di produzione di ghisa o acciaio (fusione primaria o secondaria), compresa la relativa colata continua di capacità superiore a 2,5 tonnellate all'ora					
3.1. Impianti destinati alla produzione di clinker (cemento) in forni rotativi la cui capacità di produzione supera 500 tonnellate al giorno oppure di calce viva in forni rotativi la cui capacità di produzione supera 50 tonnellate al giorno, o in altri tipi di forni aventi una capacità di produzione di oltre 50 tonnellate al giorno					
3.3. Impianti per la fabbricazione del vetro compresi quelli destinati alla produzione di fibre di vetro, con capacità di fusione di oltre 20 tonnellate al giorno					
6.7. Impianti per il trattamento di superficie di materie, oggetti o prodotti utilizzando solventi organici, in particolare per apprettare, stampare, spalmare, sgrassare, impermeabilizzare, incollare, verniciare, pulire o impregnare, con una capacità di consumo di solvente superiore a 150 kg all'ora o a 200 tonnellate all'anno					

Si osserva che:

gli impianti IPPC che emettono maggiormente arsenico in aria sono le centrali termoelettriche di Fuisina (VE) e di Portoscuso (CI), entrambe alimentate in prevalenza a carbone con, rispettivamente, ca. il 24% ed il 16,3% del totale da tali impianti;

complessivamente sono proprio gli impianti di combustione (attività IPPC 1.1) a produrre l'84,5% delle emissioni di arsenico in aria censite dal registro INES;

le **emissioni complessive in aria** estrapolate dal registro INES risultano scarsamente significative rispetto alle emissioni totali stimate, e ciò indica la **dominanza, a livello complessivo nazionale, di molteplici fonti minori ed in particolare delle "piccole" sorgenti industriali di combustione**.

Purtroppo i casi di prossimità con una stazione di monitoraggio della qualità dell'aria che rilevi l'arsenico, i cui dati siano disponibili, sono troppo rari oltre che riferiti ad anni differenti, per poter trarre considerazioni in merito alla eventuale significatività locale di sorgenti di emissione puntuale fisse rilevanti.

Per le **emissioni in acqua**, non si ha a disposizione un inventario nazionale, ma comunque sono accessibili i dati del registro INES, riportati in **Tabella 11**. Le **Figure 9 e 10** riportano la corrispondente distribuzione rispettivamente per regione e per attività IPPC, il cui dettaglio è riportato in nota alla stessa Tabella 11.

Tabella 11 – Emissioni di arsenico in acqua da impianti soggetti ad IPPC e superiori alla soglia di dichiarazione (5 kg/a) (INES 2006)

REGIONE	SIGLA PROV.	RAGIONE SOCIALE	NOME COMPLESSO	CODICE ATTIVITÀ IPPC	EMISSIONE TOTALE 2006 (kg/a)	SCARICHI DIRETTI (kg/a)	SCARICHI INDIRETTI (kg/a)
PIEMONTE	TO	AMIAT S.P.A. - AZIENDA MULTISERVIZI IGIENE AMBIENTALE TORINO S.P.A.	SITO BASSE DI STURA	5.4	5,3		5,3
	TO	AMIAT S.P.A. - AZIENDA MULTISERVIZI IGIENE AMBIENTALE TORINO S.P.A.	SITO BASSE DI STURA	5.3	0,1		0,1
	CN	SANOFI AVENTIS SPA	STABILIMENTO DI GARESSIO	4.5	15,8	13,5	2,3
LOMBARDIA	BG	EURO D SRL	euro d srl	5.1	10,6	10,6	
	BG	EURO D SRL	euro d srl	5.3	20,4	20,4	
	BG	FLYDECO SRL	FLYDECO SRL	5.1	5,7	5,7	
	BG	FARCHEMIA SRL	FARCHEMIA S.R.L.	4.5	5,2	5,2	
	BS	IVECO S.P.A.	IVECO S.p.A. Stabilimento di brescia	6.7	5,1		5,1
	CR	AEM GESTIONI SRL	depuratore acque reflue urbane di Cremona	5.3	126	126	
TRENTINO ALTO ADIGE	TN	PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO	Impianto di depurazione di TRENTO NORD	5.3	380	380	
	TN	PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO	Impianto di depurazione di ROVERETO	5.3	240,2	240,2	
	TN	PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO	Impianto di depurazione di LAVIS	5.3	45	45	

VENETO	VR	AGSM VERONA S.P.A.	Depuratore Città di Verona	5.3	45,6	45,6	
	VI	ELIDRA SPA	IMPIANTO DI DEPURAZIONE CONSORTILE DI MONTEBELLO VICENTINO	5.3	13,8	13,8	
	VE	SERVIZI PORTO MARGHERA S.C A R.L.	Stabilimento di Porto Marghera	5.3	26,6	26,6	
	VE	ALCOA TRASFORMAZIONI S.R.L.	Alcoa Trasformazioni s.r.l. stabilimento di Fusina (VE)	2.5	36	36	
FRIULI VENEZIA GIULIA	UD	AMGA AZIENDA MULTISERVIZI SPA	IMPIANTO DI DEPURAZIONE LIQUAMI FOGNARI CITTA' DI UDINE	5.3	268	268	
	UD	ACCIAIERIE BERTOLI SAFAU S.P.A.	Acciaierie Bertoli Safau S.p.A.	2.2	11,4	11,4	
	UD	ACCIAIERIE BERTOLI SAFAU S.P.A.	Acciaierie Bertoli Safau S.p.A.	2.3	14,2	14,2	
LIGURIA	SV	TIRRENO POWER SPA	Centrale termoelettrica di Vado Ligure	1.1	10,2	10,2	
	GE	AMIU GENOVA SPA	DISCARICA SCARPINO	5.4	90	90	
EMILIA ROMAGNA	RA	POLIMERI EUROPA SPA	POLIMERI EUROPA SPA - STABILIMENTO DI RAVENNA	4.1	11,5		11,5
	RA	HERA SPA	COMPLESSO IMPIANTISTICO SS309 KM 2,6	5.2	0,1	0,1	
	RA	HERA SPA	COMPLESSO IMPIANTISTICO SS309 KM 2,6	5.4	0,2	0,2	
	RA	HERA SPA	COMPLESSO IMPIANTISTICO SS309 KM 2,6	5.3	5,7	0	5,7
	RA	ECOLOGIA AMBIENTE SRL	CENTRO ECOLOGICO	5.1	16,4	16,4	

	RA	ECOLOGIA AMBIENTE SRL	CENTRO ECOLOGICO	5.1	16,4	16,4	
	RA	HERA SPA	IMPIANTO TRATTAMENTO CHIMICO FISICO BIOLOGICO DI RIFIUTI	5.3	16,2	16,2	
	RA	HERA SPA	IMPIANTO BIOLOGICO (DEPURATORE) RAVENNA CITTA'	5.3	53,3	53,3	
TOSCANA	LI	SOLVAY CHIMICA ITALIA S.P.A.	SOLVAY CHIMICA ITALIA S.p.A.	4.2	2930	2930	
	GR	SYNDIAL S.p.A. - Attività diversificate	Centrale Elettrica di Scarlino	1.1	29,6	29,6	
	GR	HUNTSMAN TIOXIDE	HUNTSMAN TIOXIDE	4.2	63	63	
UMBRIA	PG	UMBRA ACQUE S.P.A.	DEPURATORE GENNA	5.3	269,9	269,9	
	PG	UMBRA ACQUE S.P.A.	DEPURATORE P.S.GIOVANNI	5.3	37,7	37,7	
	PG	UMBRA ACQUE S.P.A.	DEPURATORE CITTA' DI CASTELLO	5.3	78,6	78,6	
MARCHE	AN	API RAFFINERIA DI ANCONA	raffineria di falconara marittima	1.2	8,9	8,9	
LAZIO	RM	RAFFINERIA DI	Raffineria di Roma	1.2	7,9	7,9	
		ROMA S.P.A.					
	LT	BRISTOL-MYERS SQUIBB S.R.L.	Bristol-Myers Squibb s.r.l.	4.5	37,1	37,1	
ABRUZZO	AQ	MICRON TECHNOLOGY ITALIA S.R.L.	Micron Technology Italia S.r.l. Stabilimento di Avezzano (AQ)	6.7	7,8	7,8	
MOLISE	CB	CON.I.V. SERVIZI ED ECOLOGIA SPA	IMPIANTO DEPURAZIONE ACQUE REFLUE	5.3	10,1	10,1	
PUGLIA	TA	ILVA S.P.A.	ILVA S.P.A. Stabilimento di Taranto	5.4	1116	1116	
	BR	ENEL PRODUZIONE SPA	CENTRALE TERMOELETTRICA Federico II (BR SUD)	1.1	108,4	108,4	

BASILICATA	MT	TECNOPARCO VALBASENTO S.P.A.	TECNOPARCO VALBASENTO SPA	5.1	9,1	9,1	
	MT	TECNOPARCO VALBASENTO S.P.A.	TECNOPARCO VALBASENTO SPA	5.3	20	20	
SICILIA	CL	RAFFINERIA DI GELA SPA	RAFFINERIA DI GELA SPA	1.2	239	239	
	SR	POLIMERI EUROPA SPA	Stabilimento di Priolo	4.1	0		0
	SR	SASOL ITALY S.P.A.	SASOL Italy S.p.A Stabilimento di Augusta	4.1	0		0
	SR	ERG Raffinerie Mediterranee SpA	ERG Raffinerie Mediterranee SpA - Raffineria Isab - Impianti Sud	1.2	21,9	21,9	
	SR	ERG Raffinerie Mediterranee SpA	Erg Raffinerie Mediterranee Raffineria Isab Impianti Nord	1.2	1,5	1,5	0
	SR	ESSO ITALIANA S.R.L.	Raffineria d'Augusta	1.2	10,7	10,7	0
	SR	INDUSTRIA ACQUA SIRACUSANA	Impianto Biologico Consortile di Priolo I.A.S. S.p.A.	1.2	60,7	60,7	
SARDEGNA	NU	Ottana Energia S.r.l.	STABILIMENTO Ottana Energia S.r.l. DI OTTANA	1.1	16		16
	CA	SYNDIAL S.p.A. - Attività diversificate	SYNDIAL SPA STABILIMENTO DI ASSEMINI	4.1	38,3		38,3
	CA	SYNDIAL S.p.A. - Attività diversificate	SYNDIAL SPA STABILIMENTO DI ASSEMINI	4.2	97,4	74,7	22,7
	CA	SYNDIAL S.p.A. - Attività diversificate	SYNDIAL SPA STABILIMENTO DI ASSEMINI	1.1	18,9	14,9	4
	CA	SYNDIAL S.p.A. - Attività diversificate	SYNDIAL SPA STABILIMENTO DI ASSEMINI	5.3	10,4	10,4	
	CA	SARAS RAFFINERIE SARDE S.P.A.	Saras Raffinerie Sarde S.P.A.	1.2	336,9	336,9	
TOTALE					7064,4	6953,4	111,0

1.1 Impianti di combustione con potenza termica di combustione > 50 MW.
1.2. Raffinerie di petrolio e di gas.
2.2. Impianti di produzione di ghisa o acciaio (fusione primaria o secondaria), compresa la relativa colata continua di capacità > 2,5 t/h
2.3. Impianti destinati alla trasformazione di metalli ferrosi mediante: a) laminazione a caldo con una capacità > 20 t acciaio grezzo/h b) forgiatura con magli con energia di impatto > 50 kJ/maglio e potenza calorifica > 20 MW c) applicazione di strati protettivi di metallo fuso con una capacità di trattamento > 2 t acciaio grezzo/h
2.5. Impianti: a) destinati a ricavare metalli grezzi non ferrosi da minerali, nonché concentrati o materie prime secondarie attraverso procedimenti metallurgici, chimici o elettrolitici; b) di fusione e lega di metalli non ferrosi, compresi i prodotti di recupero (affinazione, formatura in fonderia), con capacità di fusione > 4 t/g per piombo e il cadmio o > 20 t/g per tutti gli altri metalli
4.1 Impianti chimici per la fabbricazione di prodotti chimici organici di base come: a) idrocarburi semplici (lineari o anulari, saturi o insaturi, alifatici o aromatici) b) idrocarburi ossigenati, segnatamente alcoli, aldeidi, chetoni, acidi carbossilici, esteri, acetati, eteri, perossidi, resine, epossidi c) idrocarburi solforati d) idrocarburi azotati, segnatamente ammine, amidi, composti nitrosi, nitrati o nitrici, nitrili, cianati, isocianati e) idrocarburi fosforosi f) idrocarburi alogenati g) composti organometallici h) materie plastiche di base (polimeri, fibre sintetiche, fibre a base di cellulosa) i) gomme sintetiche j) sostanze coloranti e pigmenti k) tensioattivi e agenti di superficie
4.2. Impianti chimici per la fabbricazione di prodotti chimici inorganici di base, quali: a) gas, quali ammoniaca; cloro o cloruro di idrogeno, fluoro o fluoruro di idrogeno, ossidi di carbonio, composti di zolfo, ossidi di azoto, idrogeno, biossido di zolfo, bicloruro di carbonile b) acidi, quali acido cromico, acido fluoridrico, acido fosforico, acido nitrico, acido cloridrico, acido solforico, oleum e acidi solforati c) basi, quali idrossido d'ammonio, idrossido di potassio, idrossido di sodio d) sali, quali cloruro d'ammonio, clorato di potassio, carbonato di potassio, carbonato di sodio, perborato, nitrato d'argento e) metalloidi, ossidi metallici o altri composti inorganici, quali carburo di calcio, silicio, carburo di silicio
4.5 Impianti che utilizzano un procedimento chimico o biologico per la fabbricazione di prodotti farmaceutici di base
5.1. Impianti per l'eliminazione o il ricupero di rifiuti pericolosi, della lista di cui all'art.1, par. 4, della direttiva 91/689/CEE quali definiti negli allegati II A e II B (operazioni R 1, R 5, R 6, R 8 e R 9) della direttiva 75/442/CEE (sostituita dalla 2006/12/CE) e nella direttiva 75/439/CEE, concernente l'eliminazione degli oli usati, con capacità > 10 t/g.
5.2. Impianti di incenerimento dei rifiuti urbani quali definiti nella direttiva 89/369/CEE e nella direttiva 89/429/CEE (direttive entrambe abrogate e sostituite dalla 2000/76/CE), con capacità > 3 t/h.
5.3. Impianti per l'eliminazione dei rifiuti non pericolosi quali definiti nell'allegato 11 A della direttiva 75/442/CEE (sostituita dalla 2006/12/CE) ai punti D 8, D 9 con capacità > 50 t/g.
5.4. Discariche che ricevono più di 10 t/g o con una capacità totale > 25.000 t ad esclusione delle discariche per i rifiuti inerti.
6.7. Impianti per il trattamento di superficie di materie, oggetti o prodotti utilizzando solventi organici, in particolare per apprettare, stampare, spalmare, sgrassare, impermeabilizzare, incollare, verniciare, pulire o impregnare, con una capacità di consumo di solvente > 150 kg/h o > 200 t/a

Emissioni in Acqua di As (Kg/a) nel 2006 per Regione da impianti soggetti ad IPPC con emissioni > 5 kg/a

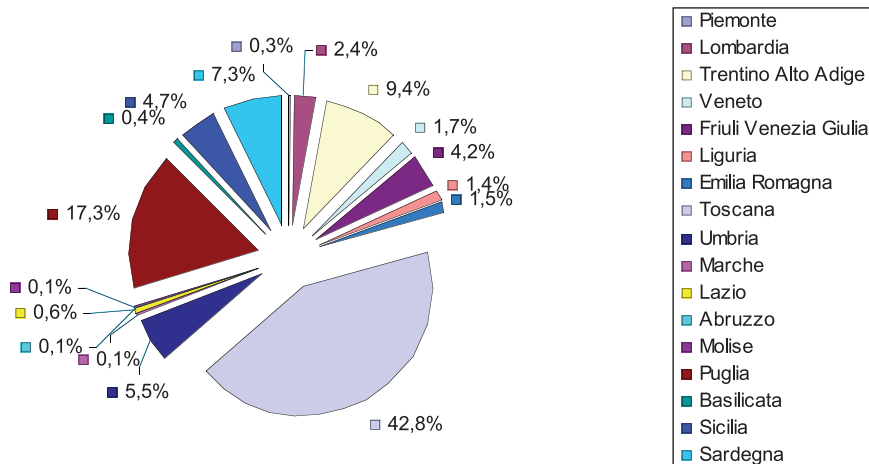
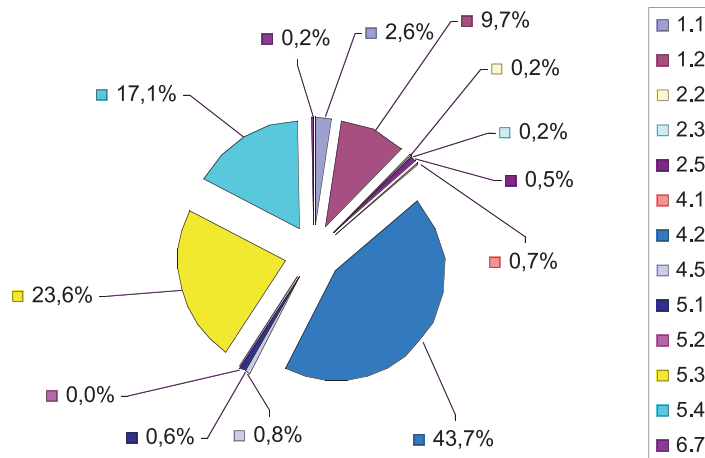


Figura 9

**Emissioni in acqua di As (kg/a) nel 2006 per tipo di attività
IPPC (allegato VIII parte II D.Lgs. n.152/2006 e s.m.i.*) con emissioni > 5 kg/a**



* I codici di attività in legenda sono esplicitati in nota alla tabella 11

Figura 10

Si rileva che:

i maggiori emettitori di arsenico nelle acque, rispettivamente con il 41,5% ed il 15,8% del totale delle emissioni denunciate da impianti soggetti ad IPPC "sopra soglia", sono l'impianto chimico Solvay di Rosignano (LI) e le discariche dell'acciaieria ILVA S.p.A. di Taranto;

ne consegue che le maggiori emissioni da questo tipo di impianti sono rilevabili in Toscana e Puglia, con percentuali lievemente superiori rispetto agli impianti citati al punto precedente (rispettivamente 42,8% e 17,3%);

le attività IPPC che emettono maggiori quantità di arsenico in acqua risultano quindi gli impianti chimici per la fabbricazione di prodotti chimici inorganici di base, seguiti dagli impianti di trattamento chimico-fisico e/o biologico dei rifiuti, soprattutto impianti di depurazione di acque reflue non condottate, che nel loro complesso sono responsabili del 23,6% del totale e quindi le discariche di rifiuti che, grazie al massiccio contributo dell'ILVA di Taranto, superano il 17% del totale emesso.

Può risultare utile conoscere anche l'evoluzione delle emissioni da impianti IPPC nel periodo dal 2002 al 2006 in modo da osservarne il trend (INES 2006). Tale evoluzione è rappresentata in **Figura 11**.

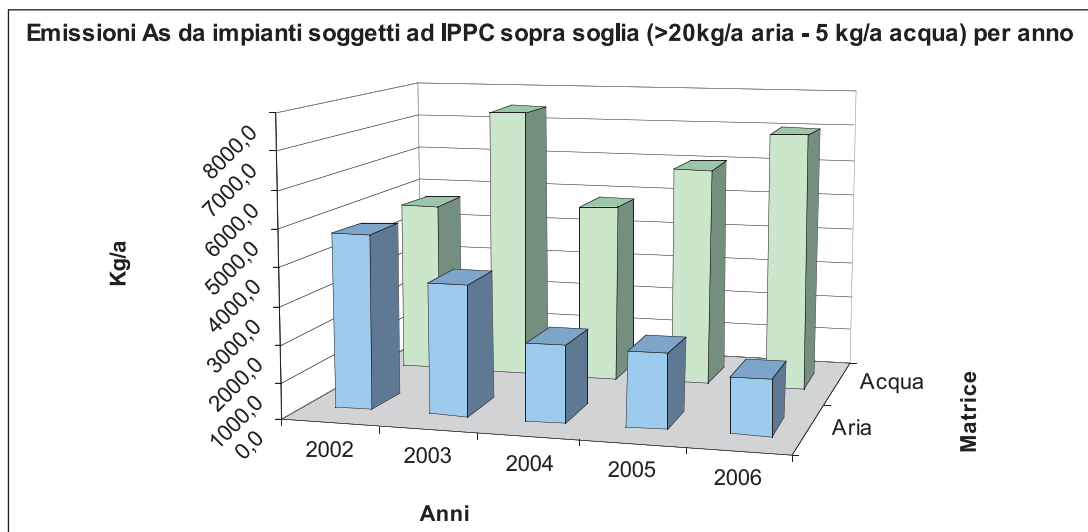


Figura 11

Si osserva come, mentre le emissioni in aria mostrano un trend decrescente nel tempo, le emissioni in acqua presentano un andamento decisamente oscillante, ma comunque in crescita dal 2004 al 2006. Poiché non si dispone di dati sull'andamento produttivo delle attività rappresentate nel Registro INES non è possibile stabilire quanto tale trend sia legato ad una variazione della produttività e quanto invece ad interventi tecnici.

7. L'ARSENICO NEL SUOLO E NELLE PIANTE

L'As nel suolo è presente sia in forma organica che inorganica. I livelli di As naturalmente presenti nel suolo possono variare in base alla sua origine dal valore relativamente basso di 5 mg/kg (Matschullat, 2000) a concentrazioni superiori a 40 mg/Kg che possono generare fenomeni di tossicità (Mandal e Suzuki, 2002). Le specie inorganiche più importanti sono l'arseniato (AsV) e l'arsenito (AsIII), mentre le specie organiche più comuni nel terreno sono l'acido monometilarsonico (MMA) e l'acido dimetilarsonico (DMA), la cui presenza è minore rispetto alle forme inorganiche (Abedin ed altri, 2002c; Fitz e Wenzel, 2002).

Il contenuto di arsenico nei tessuti di diverse specie vegetali è collegato alla presenza di questo elemento nel suolo e nelle acque.

Un aumento del pH rizosferico potrebbe favorire la mobilizzazione della frazione di As(V) e di conseguenza aumentare l'assorbimento dell'elemento da parte delle piante. La fertilizzazione di piante con NO_3 può determinare un aumento del pH rizosferico e quindi l'accumulo di As(V) nei tessuti vegetali (Marschner e Romheld, 1983).

Valori molto bassi di pH provocano invece la dissoluzione di ossidi e idrossidi di Fe che, liberando l'As adsorbito (Fitz e Wenzel, 2002), ne aumenta la biodisponibilità.

L'adsorbimento dell'As(V) dei suoli diminuisce con l'incremento del pH, contrariamente a quello di AsIII. Il massimo adsorbimento dell'As(V) si ha intorno a pH 4, mentre quello di As(III) a pH 7-8.5 (Fitz e Wenzel, 2002; Mahimairaja ed altri, 2005; Masscheleyn ed altri, 1991)

La speciazione dell'As inorganico nel terreno è controllata in gran parte dai processi di ossidazione e di riduzione (redox). Negli ambienti aerobici (ossidanti) predomina la forma As(V), mentre quella AsIII predomina in ambienti anaerobici (riducenti) (Fitz e Wenzel, 2002; Takahashi ed altri, 2004).

Il comportamento dell'As nel suolo è differente in ambiente aerobico ed anaerobico.

L'ambiente aerobico è il più pericoloso in termini di tossicità e di assorbimento da parte delle piante. Nei suoli coltivati a risaia le particolari condizioni redox, dovute all'alternanza di ambienti ossidanti e riducenti in seguito alla periodica sommersione, possono influire sull'adsorbimento dell'As.

Per esempio, in un campo di risaia sperimentale non-sommerso (ambiente aerobico) il 30% di As è rappresentato da As(III), mentre in ambiente sommerso (anaerobico) l'AsIII rappresenta il 70% dell'As (Takahashi ed altri, 2004).



Terreno di risaia non sommerso



Terreno di risaia sommerso

Masscheleyn ed altri, (1991) hanno riportato che in condizioni di ossidazione, l'As era principalmente presente come As(V) (> 95% dell'As totale solubile) con una solubilità relativamente bassa.

In condizioni riducenti l'As(III) è invece la specie predominante e la solubilità dell'As aumenta nettamente. In studi condotti recentemente (Xu, 2008) è stato visto che nella coltivazione effettuata su suolo allagato, si verifica una rapida mobilizzazione dell'As dal suolo, soprattutto come arsenito. Le concentrazioni di As riscontrate su suolo allagato sono state 7-16 e 4-13 volte più elevate rispetto al suolo di controllo coltivato in condizioni aerobiche sia senza l'aggiunta di As, sia con la somministrazione di 10 mg/kg di As come arsenito o arseniato rispettivamente (l'arseniato è risultata la principale specie nel suolo aerobico). L'attività microbica può influenzare la speciazione dell'As attraverso vari meccanismi quali le reazioni redox con il Fe e l'As e attraverso la demetilazione dell'As (Fitz e Wenzel, 2002; Mahimairaja ed altri, 2005).

Poiché infatti il Fe e l'As nel terreno sono strettamente correlati, l'assorbimento del Fe da parte delle piante può determinare una maggiore biodisponibilità e assorbimento dell'As rendendolo molto più solubile e disponibile per le piante stesse (Fitz e Wenzel, 2002). Lo stesso accade per il $(\text{PO}_4)^{2-}$.

Quando un campo di risaia è sommerso la rizosfera può rimanere aerobica grazie alle piante di riso che trasportano l'ossigeno dalle foglie alle radici, con conseguente trasferimento dell' O_2 nella rizosfera, ed all'azione di alcuni microrganismi che ossidano la rizosfera.

L'As(V) e l'As(III) adsorbono principalmente gli idrossidi di ferro (FeOOH) presenti nel terreno, ma l'AsV li lega più saldamente. FeOOH è principalmente presente nei terreni argillosi che hanno generalmente un più alto contenuto di As rispetto ai terreni sabbiosi (Fitz e Wenzel, 2002; Mahimairaja ed altri, 2005). I terreni argillosi sono meno tossici di quelli sabbiosi poiché trattengono l'As più fortemente, ma tutto dipende dalle condizioni redox, poiché il Fe ridotto è il più importante fattore di regolazione del comportamento dell'As (Fitz e Wenzel, 2002; Takahashi ed altri, 2004).

Le condizioni ossidative possono provocare la precipitazione di FeOOH (placche di Fe) intorno alle radici di piante che vivono in ambiente umido, come il riso (Meharg, 2004). Le placche di Fe possono influenzare la speciazione, la biodisponibilità e l'assorbimento dell'As, oltre che la riduzione e l'ossidazione del Fe da parte dei batteri (Fitz e Wenzel, 2002; Meharg, 2004; Weiss ed altri, 2003; Weiss ed altri, 2004).

E' ancora da studiare l'incidenza della precipitazione di FeOOH intorno alle radici sull'assorbimento dell'As nelle piante che vivono in ambiente umido (Liu *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005).

In condizioni anaerobiche, il FeOOH si dissolve rapidamente e l'As viene rilasciato nella soluzione circolante del terreno come As(III) (Takahashi ed altri, 2004; Masscheleyn ed altri, 1991); in questo processo è coinvolta l'attività microbica (Islam ed altri, 2004a; Zobrist ed altri, 2000; Masscheleyn ed altri, 1991). In condizioni aerobiche gli idrossidi di ferro sono relativamente insolubili e cedono As.

Durante il periodo di non-sommersione le concentrazioni di As nell'acqua di irrigazione sono più alte rispetto a quelle nell'acqua del suolo, a causa dell'assorbimento di FeOOH (Takahashi ed altri 2004). Durante la sommersione, invece, le concentrazioni di As nell'acqua del terreno aumentano rispetto alle concentrazioni dell'acqua di irrigazione, ed il riso risulta essere maggiormente esposto a concentrazioni molto elevate di As.

Il fosfato $(\text{PO}_4)^{2-}$ ha un comportamento analogo all'As(V) ed influenza il comportamento dell'As nei terreni aerobici (Lambkin e Alloway, 2003; Mahimairaja ed altri, 2005; Williams ed altri, 2003). Entrambi gli

ioni competono per l'adsorbimento sui siti di scambio di FeOOH e per l'assorbimento da parte delle piante. L'arsenico e il fosforo appartengono infatti allo stesso gruppo chimico ed hanno simili costanti di dissociazione dei loro acidi e simile solubilità dei loro sali. Hanno quindi un simile comportamento geo-chimica nel suolo (Adriano, 2001). La somministrazione di fosforo in soluzione diminuisce l'assorbimento di As e mitiga i sintomi di fitotossicità (Meharg e Macnair, 1990). La resistenza è generalmente ottenuta attraverso la soppressione dell'elevata affinità del sistema di assorbimento fosfato/arseniato (Meharg & MacNair, 1992).

La presenza di $(\text{PO}_4)^{2-}$ è meno rilevante in ambiente anaerobico in quanto non compete con l'As(III) (Takahashi ed altri, 2004). Altri ioni (carbonati ed ossidi di manganese) possono influenzare il comportamento dell'As, ma l'effetto sembra essere minore rispetto al $(\text{PO}_4)^{2-}$ (Cornu ed altri, 2003; Mahimairaja ed altri, 2005; Williams ed altri, 2003).

Secondo Fitz e Wenzel (2002), le piante influenzano il contenuto di As nell'acqua interstiziale del suolo attraverso l'assorbimento e l'escrezione, così come i microorganismi presenti nella rizosfera (Harvey ed altri, 2002; Nicolas ed altri, 2003).

Anche gli acidi organici rilasciati nel suolo attraverso gli essudati radicali sembrano avere un effetto sulla liberazione di arsenico dal suolo (Tao et al., 2006; Violante et al., 2005a e b).

Studi condotti sul grano hanno dimostrato che l'ossalato e il fosfato di sodio aumentano la mobilità di As e le quantità di As(III) e As(V) rilasciate aumentano proporzionalmente alla concentrazione di ossalato e fosfato (Tao et al., 2006).

In molte specie di piante il basso contenuto di As è dovuto allo scarso assorbimento delle radici, alla sua limitata traslocazione dalle radici ai germogli, alla sua fitotossicità già a basse concentrazioni e dalla sua limitata biodisponibilità nel suolo (Wang et al., 2002).

La frazione biodisponibile di un contaminante nel suolo rappresenta, rispetto al suo contenuto totale, la massima quantità alla quale un organismo del suolo può essere esposto (Caussy, 2003).

Le piante cresciute su suoli non contaminati presentano concentrazioni di As che variano da 0.009 a 1.5 ppm, con valori più elevati nelle foglie, e minori nei frutti. Comunque, nella maggior parte dei casi, i valori più elevati vengono rilevati nelle radici, nei fusti e nelle foglie (Kabata-Pendias e Pendias, 2001). Sembra che la concentrazione dell'inquinante sia piuttosto bassa nelle più comuni specie erbacee (piante coltivate e selvatiche). L'accumulo di arsenico è comunque più elevato in piante cresciute su suolo sabbioso che su suolo argillo-limoso.

Fenomeni di tossicità sono stati rilevati in piante coltivate su scarti di miniera, su suoli trattati con pesticidi a base di arsenico, e su suoli trattati con liquami o con acqua irrigua contaminata.

Queste piante presentano una riduzione dello sviluppo radicale e dei germogli, appassimento e necrosi delle foglie, riduzione della superficie fogliare e della fotosintesi, riduzione della produzione di frutti o granella.

Nelle piante la sensibilità verso i metalli ed il livello di tossicità sono fortemente influenzati sia dal tipo e dalla concentrazione di inquinante, sia dalla fase fenologica o dallo stadio fisiologico (germinazione, emergenza, crescita vegetativa).

Infatti i semi in germinazione risultano più sensibili all'inquinamento da metalli, poichè non sono an-

cora attivi alcuni meccanismi di difesa (Zhang e Zhu 2005).

Nel grano l'altezza dei germogli e la lunghezza delle radici si riduce sensibilmente all'aumentare dei livelli di As. La riduzione dello sviluppo delle radici può derivare dal fatto che la pianta cerchi di limitare la superficie di contatto con l'As.

L'arsenito risulta comunque essere più tossico dell'arseniato sia sullo sviluppo radicale, sia su quello epigeo (Coddington, 1986). Sembra che l'As sia meno tossico per le piante concimate con adeguata quantità di fosforo.

In tessuti di piante, muschi e funghi sono stati rilevati principalmente As(III) e As(V), ma anche bassi livelli di acido monometilarsonico e dimetilarsonico (MMA e DMA), arsenozuccheri ed arsenobetaina (Byrne ed altri, 1995; Pizzaro ed altri, 2003).

Carote coltivate su terreni contenenti livelli di As di poco superiori ai limiti consentiti, non contengono quantità nocive di arsenico (Helgesen e Larsen 1998). Tuttavia sarebbe necessario svolgere ulteriori ricerche sulla presenza dell'arsenico nelle piante coltivate in siti inquinati (zone minerarie, frutteti precedentemente trattati con piombo arseniato) al fine di valutare l'esposizione umana in prossimità di tali siti attraverso il consumo di verdure.

L'utilizzo di acque contaminate per irrigare i campi coltivati può quindi avere effetti tossici per la salute umana attraverso il consumo di cibi contaminati che arrivano sulla tavola quotidianamente.

In letteratura sono riportati i dati relativi alla contaminazioni di arsenico nel riso che può indurre cambiamenti nei livelli dei nutrienti per questo cereale. (Alman et al. 2002). Le falde acquifere di molte aree dell'Asia meridionale risultano essere contaminate da arsenico. L'uso di queste acque contaminate per irrigare i campi coltivati con riso (principale fonte di proteine per soddisfare il fabbisogno nutritivo della popolazione locale) determina effetti diretti sulla contaminazione di questo cereale e sui probabili effetti tossici nella popolazione che ne fa uso.



Risaie di Canggu (Bali)

I risultati di Alman riferiscono sia la presenza di livelli significativi di arsenico nelle foglie e nel gambo della pianta che effetti sul contenuto proteico dei chicchi (diminuzione percentuale nel contenuto di proteine) e quindi di conseguenze sull'insorgenza di gravi carenze nutrizionali nella popolazione. In condizioni di coltivazione sommersa è stato riscontrato un marcato aumento di accumulo di As nel germoglio e nei chicchi di riso (10-15 volte più elevata nel riso coltivato in condizioni sommerse rispetto a quello coltivato aerobicamente).

Con l'aumento della concentrazione totale dell'As nei chicchi la percentuale di As inorganico risulta diminuita, mentre quella di acido dimetilarsinico (DMA) risulta incrementata. La causa del maggiore accumulo di As nel riso coltivato in allagamento risiede nel notevole aumento della biodisponibilità dell'As in condizioni sommerse, mentre la coltivazione aerobica può far fortemente decrescere il trasferimento di As dal suolo al chicco.

La concentrazione di As nel riso può essere ridotta utilizzando alcune cultivar a bassa accumulazione già esistente o ottenute attraverso il breeding. Inoltre, l'interazione tra la cultivar e il sito di coltivazione indica l'importanza di utilizzare cultivar adeguate in un particolare ambiente (Cheng et al., 2006).

Yamili nel 2007, e Zavala e Duxbury nel 2008 hanno determinato i valori di Arsenico nel riso, dimostrando una correlazione tra la contaminazione ambientale e la concentrazione di arsenico nei grani di riso. Il contenuto totale di Arsenico varia da 0.005 a 0.710 mg/kg. I livelli medi di arsenico per il riso riportati negli Stati Uniti e in Europa (0.198 mg/kg) sono statisticamente simili e significativamente più elevati di quelli riportati per questo cereale in Asia (0.07 mg/kg). Tuttavia i livelli di tossicità per la pianta sono la combinazione di più fattori: l'ambiente, il tipo di gestione del suolo e il fattore genetico che, regolano la disponibilità, l'assorbimento e la traslocazione di questo elemento all'interno della pianta.

8. CONTENUTO DI ARSENICO IN CIBI E MANGIMI

La contaminazione degli alimenti appare sempre più un fenomeno inevitabile, essendo influenzata da molteplici fattori sia di tipo ambientale che agronomico.

Anche se le forme inorganiche di arsenico sono più tossiche rispetto all'arsenico organico, finora la maggior parte dei dati sulla presenza nei prodotti alimentari raccolti nel quadro del controllo ufficiale degli alimenti, vengono ancora segnalati come arsenico totale senza differenziare le diverse specie chimiche di arsenico (EFSA 2009).

Da un'analisi della letteratura risulta che alcuni autori utilizzano l'*Intake Settimanale Tollerabile Provvisorio* (PTWI), ritenuto più adeguato per contaminanti in grado di accumularsi nell'organismo per cui è importante stabilire un limite di *intake* entro un intervallo di tempo definito. Il PTWI è pari a 15 $\mu\text{g/Kg/settimana}$ di As che equivale a 146 $\mu\text{g/die}$ di As per un soggetto adulto di 68 Kg di peso corporeo.

Il rapporto del WHO (1989) ha indicato che alcune popolazioni locali e regionali che fanno grande consumo di pesce hanno un *intake* di As (sotto forma di organoarsenicali) di circa 0.050 mg/kg per peso corporeo, senza riportare effetti nocivi. Ciò corrisponde all'assunzione quotidiana di 3.5 mg in una persona che pesa 70 kg. Il contenuto in As dipende dall'acqua nella quale viene pescato il pesce (mare o acqua dolce); in particolare le specie marine ne contengono livelli elevati. La maggior parte dell'arsenico, soprattutto nei frutti di mare, è però presente in forma organica che è meno tossica. Di conseguenza, una valutazione del rischio effettuata non tenendo conto delle diverse specie chimiche, ma considerando l'arsenico totale come se fosse costituito esclusivamente da arsenico inorganico, porterebbe ad una notevole sovrastima del rischio per la salute connessa all'esposizione all'arsenico attraverso la dieta. Nel pesce e nei frutti di mare, infatti, la percentuale relativa di arsenico inorganico è piccola e tende a diminuire con l'aumentare del contenuto di arsenico totale, e il rapporto varia a seconda del tipo di pesce. I valori fissati per l'arsenico inorganico sono 0,03 mg/kg nel pesce e 0,1 mg/kg nei frutti di mare e sono stati calcolati in relazione alla reale esposizione attraverso gli alimenti (EFSA 2009). Esaminando le principali categorie di prodotti alimentari il Concise EFSA Food Consumption Database ha stabilito che i cereali e i prodotti a base di cereali, seguiti da acqua in bottiglia, caffè e birra, chicchi di riso e prodotti a base di riso, pesce e verdure, sono stati identificati come i principali alimenti che contribuiscono all'esposizione quotidiana all'arsenico inorganico in Europa. (EFSA 2009). Relativamente a prodotti di origine vegetale la presenza di As è stata determinata in riso, ravanelli, carote, patate, cavolfiori, pomodori e fagioli bianchi. A volte è possibile rilevare delle concentrazioni leggermente alterate di As in olio e aceto probabilmente a causa della diluizione acquosa durante le fasi di preparazione.

Il parametro più comunemente usato per la valutazione del rischio ad As è rappresentato dall'*Intake Giornaliero Tollerabile Provvisorio* (PTDI) che per l'As inorganico è pari a 2,1 $\mu\text{g/Kg/die}$ (Joint Fao/WHO, 1989). Tale dato rappresenta un importante riferimento, soprattutto nell'ambito di studi di monitoraggio delle popolazioni esposte ad esempio attraverso fonti naturali (acqua contaminata). Ciò al fine di contenere entro una soglia stabilita dalla comunità scientifica internazionale la concentrazione di *intake* di As inorganico per la popolazione.

Nel 1981 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha comunicato l'*intake* giornaliero di As inorganico associato a insorgenza precoce di lesioni della pelle (1,0 mg/die).

Il divieto di impiego di alcune sostanze nell'alimentazione degli animali e l'esigenza di qualità e salubrità dei prodotti animali (carne, latte e dei loro derivati) si inserisce in un contesto più ampio di un modello agricolo a basso impatto ambientale ed ha stimolato la ricerca di sistemi di produzione agro-zootecnica alternativi. Questi studi mirano ad individuare specie foraggere ad alto contenuto proteico ed elevato valore nutrizionale per i ruminanti, all'ottimizzazione dei parametri di conservazione, alla valutazione della contaminazione da micotossine anche in relazione a strategie di management aziendale per ridurre il rischio di contaminazione. (AA.VV.,2006).

Il comitato scientifico dell'alimentazione animale (SCAN) conferma la limitata tossicità dell'arsenico in forma organica. Pertanto la determinazione dell'arsenico totale nei mangimi non sempre consente di stabilire il rischio che è rappresentato dalle forme inorganiche. E' necessario un complesso metodo di analisi, non facilmente applicabile durante i controlli ufficiali, per distinguere le forme organiche dalle inorganiche.

Il basso contenuto di As inorganico rilevato nei tessuti commestibili degli animali da allevamento (mammiferi e pollame), contribuisce soltanto in modo trascurabile all'esposizione umana.

I mangimi destinati all'alimentazione animale prodotti con materie prime derivanti dai pesci o da altri organismi marini l'arsenico è presente soprattutto nella forma organica (arsenobetaine e arsenocoline), che è virtualmente non tossica. I dati forniti dagli Stati Membri sull'arsenico totale nei mangimi non indicano livelli preoccupanti, ma è necessario identificare il reale contenuto di arsenico inorganico.

Nei foraggi freschi e conservati, prodotti con materie prime coltivate su suoli contaminati da arsenico, presentano elevate concentrazioni di questo elemento in particolare in prossimità delle aree industriali. Attualmente in Europa non esiste una regolamentazione aggiornata per quanto riguarda i livelli di arsenico negli alimenti (Francesconi, 2007). Lo standard britannico (The Stationary Office, 1959) di 1 mg/kg viene spesso citato in letteratura come soglia sicura, in particolare nel riso (Das et al., 2004).

Per quanto riguarda i prodotti alimentari destinati alla commercializzazione la Commissione europea ha emanato il Regolamento (CE) 1831/2003, il quale in materia di disposizioni sui livelli massimi di contaminanti ammessi, tenendo conto di attuali studi e modifiche, sostituisce il Regolamento (CE) 466/2001. Il FIN Contaminant Safety Monitor, introdotto nel 2004, rappresenta una guida sui principali contaminanti (diossine e PCBs, mercurio, cadmio, piombo, arsenico), sulla loro regolamentazione e sul loro effetto sul pesce ed i suoi derivati (farina, e olio di pesce). Il FIN nell'ambito della legislazione definisce i livelli massimi di contaminante nei frutti di mare utilizzati per il consumo umano, negli animali da allevamento e nel mangime per i pesci.

La maggior parte di questi agenti inquinanti sono già regolati dalla legislazione europea dalla Direttiva 2002/32/CE e dal Regolamento 466/2001/CE che fissano i livelli massimi per determinati agenti inquinanti nelle derrate alimentari e nei mangimi.

La Direttiva 2003/100/CE del 31 ottobre 2003, recepita con Decreto legislativo 10/05/2004 n. 149, modifica l'allegato I della Direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio relativamente alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali. Alcuni limiti sono stati rivisti e ridotti. (Ta-

bella 12) (<http://www.iffa.net/intranet/content/archivos/80.pdf>)

Tabella 12 limiti massimi per l'arsenico negli alimenti per animali D.Lgs 10.05.2004 n. 149
Dir. 2002/32/CE 2003/100/CE

Sostanze indesiderabili	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime in al tasso di umidità del 12%
Arsenico	Materie prime per mangimi, ad eccezione di:	2
	- farina d'erbe, erba medica e di trifoglio, polpe essiccate di barbabietole da zucchero e polpe essiccate di barbabietole da zucchero melassate;	4
	- pannello di palmisti;	4
	- fosfati e alghe marine calcaree;	10
	- carbonato di calcio;	15
	- ossido di magnesio;	20
	- mangimi ottenuti dalla trasformazione di pesci o di altri animali marini, farina di alghe marine e materie prime per mangimi;	15
	- derivate dalle alghe marine.	40
	Mangimi completi ad eccezione di:	2
	- mangimi completi per pesci e mangimi completi per animali da pelliccia.	6
	Mangimi complementari ad eccezione di:	4
	- mangimi minerali.	12

Riguardo l'acqua potabile, fatto più notevole è che non sono imposti limiti per la concentrazione degli elementi metallici. Essi potrebbero risultare opportuni dal momento che le assunzioni di acqua del bovino da latte possono raggiungere 150 litri capo/giorno al picco di lattazione. Non possono quindi escludersi ripercussioni negative qualora la concentrazione di determinati elementi superi i rispettivi valori soglia. A parte il caso ormai diffuso di produzioni lattiere condotte secondo disciplinari di consorzio che impongono l'abbeveraggio delle bovine con acqua di rete regolamentata dal D. Lgs 31/2001, rimangono possibili situazioni di mancato controllo sui tenori in metalli nell'acqua di bevanda. Beni et al., hanno condotto nel 2007, studi riguardo i livelli di Arsenico nel suolo, nelle acque gravitazionali e nelle acque chiare, e nella filiera del latte bovino. I risultati riportano una elevata concentrazione di arsenico nelle acque potabili. Tuttavia la curva di distribuzione dell'Arsenico nel suolo, indica che l'elevato livello di arsenico ha origine geologica. Il contenuto di arsenico nell'acqua in Italia è comunque al di sotto del limite di 10 µg/l fissato dall'Unione Europea per l'acqua destinata al consumo umano, allo stesso modo la concentrazione nel latte è al disotto del range di concentrazione standard (20-60 µg/l). Nell'ambito di questa ricerca è emersa inoltre una situazione di possibile criticità dovuta ad elevate concentrazioni di arsenico riscontrate in acque di rete e di falda nel Lazio dove il 75% dei campioni, prelevati in queste regioni, sono al di sopra del limite previsto per le acque potabili.

I dati segnalati dagli Stati Membri suggeriscono inoltre che, nonostante i livelli di arsenico rilevato nei foraggi siano relativamente bassi, in accordo con la Direttiva 2003/100/CE, in uno studio effettuato da Licata (2004), in campioni di latte proveniente dalla Calabria, la presenza di As e di altri metalli tossici, nel 30% dei campioni esaminati, presentava una concentrazione tra 0,24 e 0,68 mg/Kg, superando i dati ottenuti da Cerutti et al. (1999) (0,03-0,06 mg/Kg), Alais et al. (2000) (0,04-0,10 mg/Kg) e Simsek et al. (2000) (0,0002-0,05 mg/Kg).

Riso ed alimenti per l'infanzia

Il riso, a causa del suo largo consumo, rappresenta un significativo veicolo di esposizione all'As in popolazioni che dipendono da una dieta a base di questo cereale, costituendo un grave rischio per la salute dell'uomo. I livelli di arsenico contenuti negli alimenti a base di riso per l'infanzia sono abbastanza elevati da mettere i bambini a rischio di contrarre tumori. Nei bambini al di sotto dei 3 anni, l'esposizione all'As attraverso l'assunzione di alimenti a base di riso, è generalmente stimata circa 2 a 3 volte quella degli adulti. Nella dieta dei neonati il riso è infatti il costituente principale dei prodotti per lo svezzamento ed ipoallergenici (latte di riso), ma è presente anche negli alimenti utilizzati nella dieta dei bambini (cracker, biscotti, cereali soffiati, e budini). Andrew A. Meharg ed i suoi collaboratori, (2008) in uno studio effettuato presso l'Università di Aberdeen, hanno testato i livelli di arsenico inorganico (i-As) nei prodotti a base di riso per l'infanzia. Lo studio, finanziato dalla Fondazione di Scienze Naturali della Cina e la Società Reale di Londra e Edimburgo, è partito dal presupposto che solo negli ultimi tre o quattro anni i ricercatori hanno dimostrato che il riso è una delle fonti alimentari più importanti di i-As e poiché si tratta di un agente potenzialmente cancerogeno dovrebbe essere adottato il principio di precauzione fino a quando non saranno stabiliti dei limiti di sicurezza.

Inoltre, considerando l'indice di massa corporea, i neonati ed i bambini possono essere esposti attra-

verso l'alimentazione a livelli più elevati di arsenico inorganico rispetto agli adulti.

Nel Regno Unito il contenuto medio di arsenico inorganico nel riso utilizzato per gli alimenti per l'infanzia è di 0,11 mg/kg. Nel rapporto tra l'arsenico inorganico contro dell'arsenico totale, si è riscontrato che le concentrazioni di i-As aumentano in modo lineare fino a 0,25 mg/kg di arsenico totale, stabilizzandosi poi a 0,16 mg/kg alle più alte concentrazioni di arsenico totale.

Meharg e colleghi hanno analizzato campioni di 3 diverse marche di prodotti a base di riso utilizzati per i neonati (4-12 mesi), tutti provenienti da supermercati di Aberdeen. Più di un terzo dei campioni conteneva livelli di i-As, la più tossica delle due forme di arsenico si trovano normalmente nel riso, pari o superiori al limite legale di arsenico consentito per i prodotti alimentari in Cina, dove vige una normativa più severa di quella dell'Unione Europea e degli Stati Uniti (limite regolamentare di i-As 0,15 mg/kg di arsenico totale).

I ricercatori hanno infatti osservato che i livelli di i-As nei campioni analizzati erano compresi tra 0,50-2,66 µg/kg di peso corporeo al giorno.

In Cina il 35% di questi prodotti sarebbe illegale, mentre nell'UE e negli USA non esistono normative per i livelli di i-As ammissibili negli alimenti, anche se la soglia di 1 µg/kg di peso corporeo al giorno è spesso citata in letteratura come un livello di sicurezza per l'arsenico negli alimenti, e nello specifico per il riso (The Stationary Office, Regno Unito 1959).

I ricercatori sostengono che i limiti dell'arsenico negli alimenti non sono aggiornati e non tengono conto dei recenti studi scientifici.

Le norme vigenti nell'UE e negli Stati Uniti per il contenuto di As nell'acqua potabile e l'OMS raccomandano una assunzione di non più di 2 µg/kg di peso corporeo di i-As.

I ricercatori hanno calcolato che in un bambino di un anno di età di peso medio che mangia tre porzioni di riso al giorno i livelli di i-As sono superiori al livello massimo di esposizione consentito agli adulti attraverso l'assunzione di acqua potabile.

Attualmente nel Regno Unito la maggior parte del riso utilizzato per la preparazione di alimenti per bambini proviene dall'Europa, ma i ricercatori ritengono che sarebbe meglio utilizzare riso a basso contenuto di As proveniente da altri paesi (subcontinente indiano, California, Cadice e Siviglia in Spagna). L'EFSA nel 2009 a conclusione del suo parere scientifico sull'arsenico nei prodotti alimentari ha dichiarato che l'esposizione attraverso la dieta all'i-As deve essere ridotta.

Le aziende produttrici di alimenti per l'infanzia potrebbero ad esempio utilizzare riso a basso contenuto di i-As. In tutto questo le indicazioni fornite dalla ricerca scientifica rivestono senza dubbio un ruolo fondamentale.

9. METABOLISMO DELL'AS E SUOI EFFETTI SUGLI ANIMALI E SULL'UOMO

L'As inorganico viene rapidamente assorbito da molte specie per via respiratoria o gastrointestinale (generalmente oltre il 50% della dose); la percentuale è inferiore per via inalatoria e molto limitata dopo esposizione cutanea (NRC, 1999; WHO, 2001). Questo metalloide è estremamente tossico per tutti gli animali.

Nei mammiferi e nel pollame, l'arsenico inorganico, come anche i suoi composti organici, vengono convertiti in metaboliti metilati, che sono rapidamente escreti (Fig 12, 13). Quindi, il passaggio dei composti di As dal mangime ai tessuti commestibili di mammiferi e pollame è molto bassa.

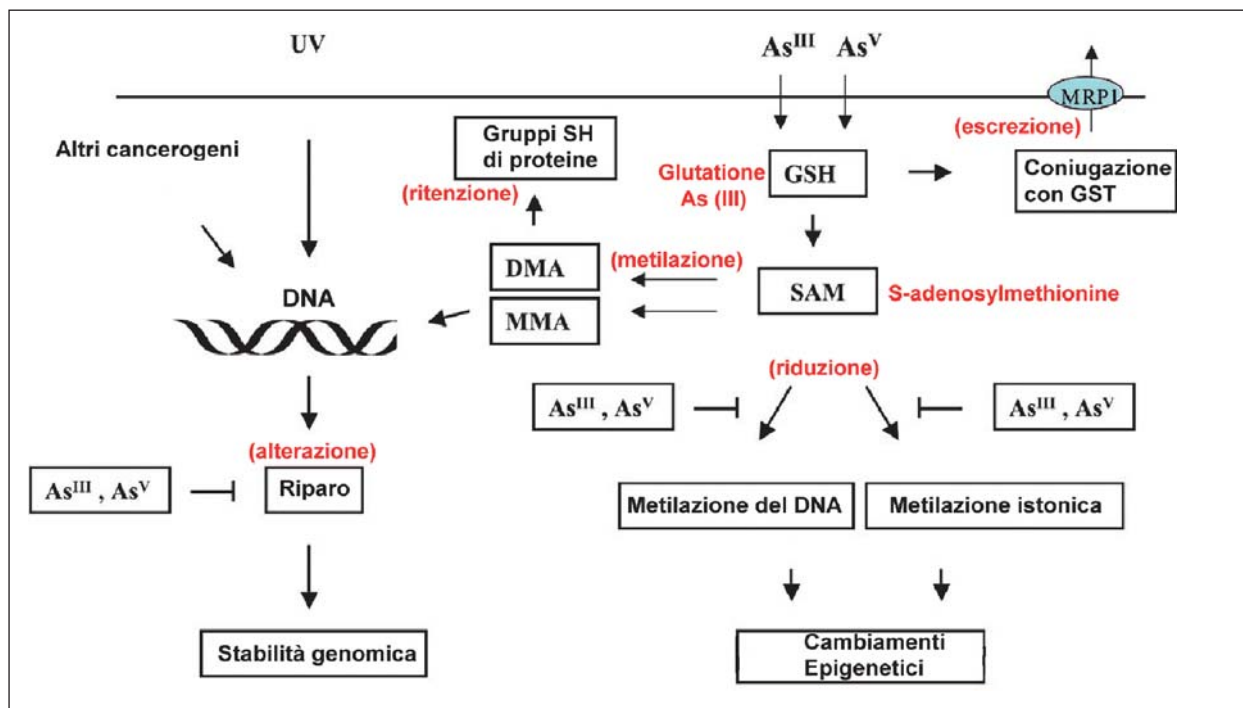


Figura 12 Meccanismo di ingresso nella cellula, riduzione e metilazione di iAs. I principali processi alterati in seguito all'esposizione all'arsenico riguardano la riparazione e la metilazione del DNA e i processi epigenetici quali la metilazione degli istoni. Gli effetti tossici dell'As sono correlati con lo stato di ossidazione dell'elemento (Hughes, 2002; WHO, 2001). Le specie trivalenti sono più tossiche rispetto a quelle pentavalenti, anche se i meccanismi non sono completamente definiti. Le specie trivalenti reagiscono direttamente con i gruppi sulfidrilici delle proteine alterandone la struttura quaternaria. L'As assorbito si accumula nei capelli e nelle unghie legandosi ai gruppi sulfidrilici della cheratina come As trivalente.

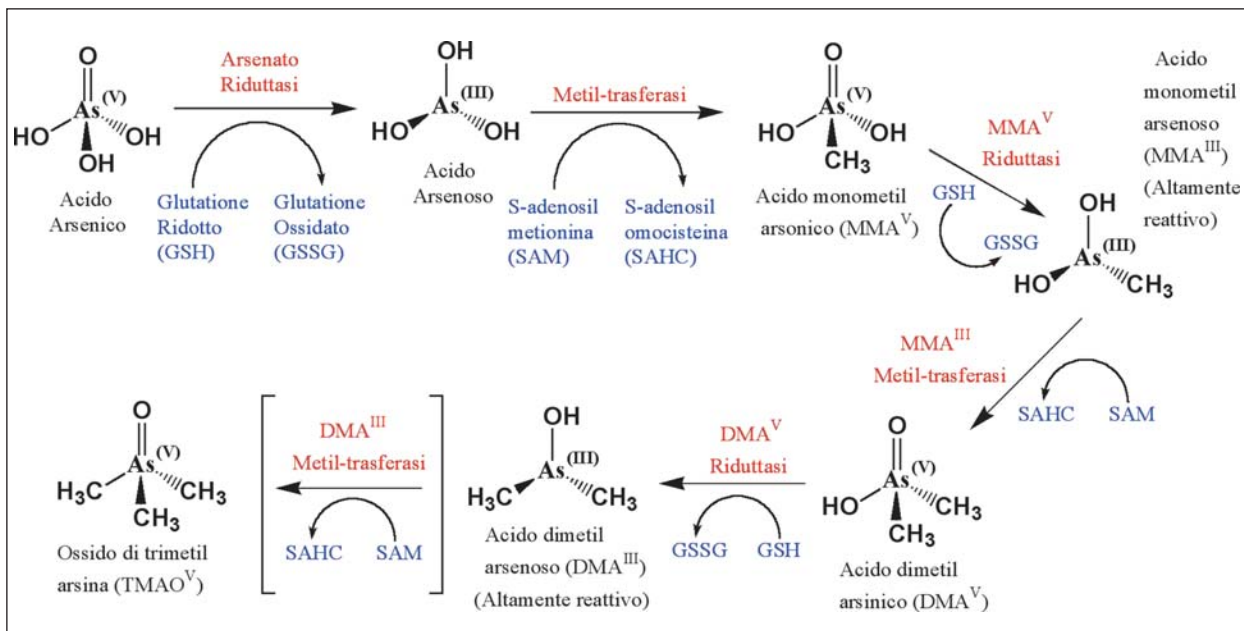


Figura 13. Biotrasformazione

L'As inorganico viene rapidamente assorbito da molte specie dopo esposizione orale e la percentuale è inferiore per via inalatoria e molto limitata dopo esposizione cutanea. Dopo assorbimento per via digestiva l'As inorganico subisce innanzitutto un processo di metilazione a livello epatico e nella prevalenza delle specie viene quindi escreto.

Nel bestiame l'avvelenamento da arsenico si manifesta con una diarrea emorragica acuta attribuibile alla gastroenterite emorragica, a volte accompagnati da perdita di appetito, debolezza muscolare, atassia, dimagrimento e convulsioni epilettiformi (Riviere ed altri, 1981, Thatcher ed altri, 1985). Dati tossicologici disponibili per gli animali da allevamento, confermano che tutte le specie animali sono sensibili agli effetti tossici dell'arsenico inorganico.

Nei mammiferi, dopo assorbimento per via digestiva, l'As inorganico subisce un processo di metilazione (monometilato e di metilato) a livello epatico, è trasformato in composti a minore tossicità (acido monometilarsonico e dimetilarsinico) e quindi escreto attraverso l'urina.

Durante il processo di metilazione l'As inorganico pentavalente viene trasformato in tetravalente ed in composti trivalenti molto reattivi e tossici.

Nell'uomo il metabolismo dell'As è rapido. In caso di intossicazione più della metà dell'As assorbito viene eliminata entro quarantotto ore.

Subito dopo il suo assorbimento, l'arsenico si ritrova nel sangue e nelle urine che per questo sono con-

siderati biomarcatori biologici di esposizione recente; in seguito si accumula nei capelli e nelle unghie che sono quindi considerati biomarcatori di esposizione cronica.

Nelle urine l'As inorganico è presente in una piccola percentuale in forma trivalente e pentavalente e come acido monometilarsonico (questa frazione di arsenico è maggiore in caso di disfunzione epatica), mentre una percentuale maggiore è costituita dall'acido dimetilarsonico.

Sono inoltre presenti composti arsenicali complessi la cui percentuale varia a seconda del tipo di dieta i quali non sono metabolizzati ma escreti inalterati.

L'As inorganico e le sue forme organiche metilate si ritrovano anche nel latte materno e variano in funzione del suo contenuto nell'acqua potabile.

L'applicazione delle attuali tecniche strumentali, altamente selettive e specifiche nel riconoscimento delle forme metaboliche di As, ha permesso di rilevare la presenza di metaboliti organoarsenicali nel sangue materno e ombelicale. Una dieta fortificata con acido folico può influenzare il *pathway* metabolico e favorire il processo di detossificazione dell'organismo materno.

L'esposizione all'As può rappresentare una grave problematica per la salute dell'uomo. I sintomi di avvelenamento cronico da arsenico includono debolezza, spossatezza, perdita di capelli, raucedine e perdita di peso, mentre l'esposizione acuta è associata allo sviluppo di diverse patologie tra le quali neuropatie periferiche ed encefalopatie, alterazioni vascolari (morbo di Raynaud, acrocianosi e gangrena del piede), alterazioni cardiache, alterazioni cutanee (ipercheratosi ed iperpigmentazione), elevata incidenza di epiteliomi spinocellulari e basocellulari, diabete di tipo 2, effetti sullo sviluppo e sulla riproduzione, neoplasie polmonari, renali, epatiche, cutanee e della vescica (USEPA, 1988; Bates 1992; Chen, 1992; NRC, 1999).

Tossicità e cancerogenicità

Gli effetti tossici dell'As sono correlati con lo stato di ossidazione dell'elemento (Hughes, 2002; WHO, 2001). Le specie trivalenti sono più tossiche rispetto a quelle pentavalenti, anche se i meccanismi non sono completamente definiti. Le specie trivalenti reagiscono direttamente con i gruppi sulfidrilici delle proteine alterandone la struttura quaternaria.

L'arsenato (As inorganico pentavalente), possiede proprietà simili rispetto al fosfato (Dixon, 1997) e è in grado di sostituirlo in processi biochimici "critici", determinando effetti tossici.

Negli animali gli effetti avversi, non cancerogeni, di As inorganico includono tossicità embrionale e fetale, teratogenicità, genotossicità (attraverso meccanismi di danno indiretto a DNA e cromosomi) e tossicità cardiovascolare.

Nell'uomo la DL₅₀ orale è stata stimata pari a 1-2 mg/Kg (Ellenhorn, 1997). L'esposizione cronica ad As inorganico può portare ad effetti cutanei, dello sviluppo, ematologici, riproduttivi e vascolari (ATSDR, 2000; NRC, 1999; WHO, 2001) e causare anomalie specifiche alla nascita (difetti del tubo neurale) (De Sesso, 1998).

Esistono le notevoli variazioni inter-individuali nel metabolismo dell'As che possono essere dovute alla presenza di polimorfismi dei geni che codificano enzimi coinvolti nella metilazione dell'arsenico (Vahter, 2000).

L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC, 1987) e l'U.S. EPA (1993), basandosi sulle evidenze nell'uomo, hanno classificato l'As inorganico come sicuramente cancerogeno per l'uomo inserendolo rispettivamente nel gruppo I e nel gruppo A. Il meccanismo di cancerogenesi indotto dall'As inorganico non è noto, ma vi sono evidenze che l'esposizione può generare radicali liberi e altre specie reattive nei sistemi biologici. I possibili meccanismi di cancerogenicità comprendono la genotossicità, lo stress ossidativo, l'inibizione della riparazione del DNA, la promozione della tumorigenesi, la co-cancerogenesi, la proliferazione cellulare ma anche alterazioni della trasduzione del segnale o la metilazione del DNA (Hughes, 2002; Kitchin, 2001; Rossman, 2003). Più meccanismi possono interagire tra loro.

È stata osservata l'insorgenza di cancro al polmone dopo esposizione occupazionale in lavoratori di fonderie, nei minatori e negli operai di industrie di antiparassitari (NRC, 1999; WHO, 2001). Mentre l'esposizione dovuta ad ingestione di acqua contaminata con As inorganico può determinare l'insorgenza di cancro della pelle, della vescica, del polmone, del rene e di altri organi (NRC, 1999 e 2001; WHO, 2001).

Una commissione della *National Academy of Science* ha valutato gli effetti sanitari dell'As inorganico presente nell'acqua destinata al consumo umano riportando una stima della probabilità teorica massima di rischio per tumore alla vescica e al polmone (NRC, 2001).

Il parametro più comunemente usato per la valutazione del rischio di esposizione all'As è rappresentato dall'*Intake Giornaliero Tollerabile Provvisorio* (PTDI) che per l'As inorganico è pari a 2,1 $\mu\text{g/Kg/die}$ (Joint Fao/WHO, 1989). Tale dato rappresenta un importante riferimento, soprattutto nell'ambito di studi di monitoraggio delle popolazioni esposte ad esempio attraverso fonti naturali (acqua contaminata).

Nel 1981 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha definito l'*intake* giornaliero di As inorganico associato a insorgenza precoce di lesioni della pelle (1,0 mg/die). Gli effetti derivanti dall'assunzione di una quantità eccessiva di As inorganico comprendono alterazioni a carico dell'apparato circolatorio e del sistema nervoso ma anche tumori della pelle, della vescica, del rene, del polmone e del fegato (USEPA, 1988; Bates 1992; Chen, 1992; NRC, 1999). Alcuni autori utilizzano l'*Intake Settimanale Tollerabile Provvisorio* (PTWI), ritenuto più adeguato per contaminanti in grado di accumularsi nell'organismo. Il PTWI è pari a 15 $\mu\text{g/Kg/settimana}$ di As che equivale a 146 $\mu\text{g/die}$ di As per un soggetto adulto di 68 Kg di peso corporeo.

10. MECCANISMO DI AZIONE DELL'AS COME INTERFERENTE ENDOCRINO

L'As può agire come un potente interferente endocrino, alterando la regolazione genica tramite interazione con i recettori degli ormoni steroidei [glucocorticoidi (GR), mineralcorticoidi (MR), progesterone (PR) e androgeni (AR)] (Bodwell, 2006; Bodwell, 2004; Kaltreider, 2001).

Un'alterazione del metabolismo dei glucocorticoidi può avere conseguenze negative sullo sviluppo e in ultima analisi produrre effetti avversi alla salute. Microdosi di As (0,1-1 μM) stimolano la trascrizione ormone-mediata, mentre dosi più elevate (1-5 μM) ma non citotossiche possono determinare un effetto soppressivo.

Utilizzando i GR come modello rappresentativo per i recettori steroidei (SRs), si è evidenziato che l'As è in grado di alterare la regolazione della trascrizione, suggerendo che il *target* sia l'apparato di trascrizione (Bodwell, 2004). Studi di mutazione genica dei GR hanno confermato che l'azione dell'As coinvolge *steps* di attivazione prima del legame con il DNA e che effetti soppressivi utilizzano *steps* successivi al legame con il DNA. Tali osservazioni, considerata la similarità nella risposta dei quattro recettori degli ormoni steroidei, suggeriscono che il *target* degli effetti dell'As è parte dell'apparato che regola l'espressione genica invece del recettore.

L'azione dell'interferente endocrino può esplicarsi secondo diverse modalità: 1) aumentando o riducendo la quantità di ormone prodotta e l'attività metabolica; 2) determinando un effetto interferente tra ormone e il legame con i recettori. Nel merito Kaltreider non ha confermato che l'As sia in grado di interferire con il complesso ormone-recettore prima dell'entrata del complesso nel nucleo. I dati riportati da questi autori indicano che i cambiamenti che avvengono all'interno del nucleo implicano un'inibizione selettiva della trascrizione del DNA che in condizioni normali dovrebbe essere stimolata dal complesso glucocorticoide-GR (**Figura 14**). Il meccanismo dettagliato dell'interferenza non è ancora noto (Kaltreider, 2001).

L'As interferisce con i recettori degli estrogeni (ER), sia *in vivo* sia in colture cellulari. A dosi non citotossiche (1- 50 $\mu\text{mol/Kg}$ di arsenito) l'elemento sopprime fortemente la trascrizione genica ER-dipendente del gene del 17 β -estradiolo (E2) della vitellogenina II inducibile (studio condotto sul fegato dell'embrione di pulcino). In colture cellulari, livelli non citotossici di As (0,25-3 μmol pari a circa 20-225 ppb) inibiscono in modo significativo l'attivazione genica E2-mediata da un gene reporter ER-regolato e di un gene GREB1 ER-regolato nella linea cellulare MCF-7 del tumore mammario.

Gli effetti dell'As sulla regolazione genica ER-dipendente sono simili a quelli di altri recettori steroidei. Una differenza specifica è la mancanza di un aumento significativo dell'espressione genica alle dosi più basse anche se il(i) meccanismo(i) attraverso il quale l'As altera la regolazione genica attraverso gli ER e gli altri SRs non è a tutt'oggi conosciuto.

L'As è un interferente endocrino ma agisce con un meccanismo diverso dai composti organici con caratteristiche di EDCs, molti dei quali agiscono come ormone mimetici e come agonisti o antagonisti competitivi. Infatti gli studi relativi ad As e SRs indicano che l'elemento non è un agonista dell'attivazione degli SR e non agisce come antagonista competitivo o non competitivo (Bodwell, 2006 e 2004).

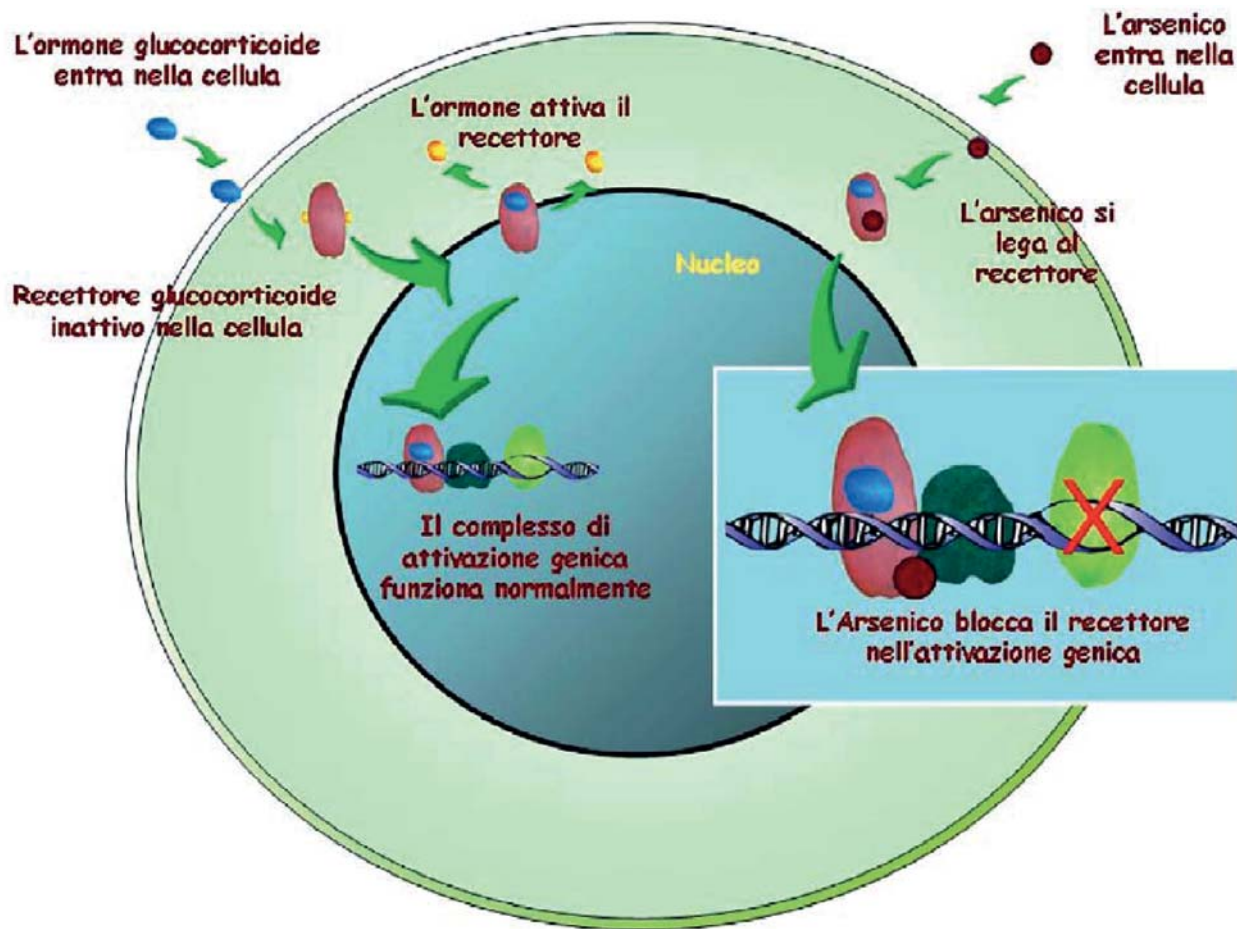


Figura 14. Meccanismo d'azione dell'Arsenico come interferente endocrino. L'As agisce con un meccanismo diverso dai composti organici con caratteristiche di EDCs, molti dei quali agiscono come ormone mimetici e come agonisti o antagonisti competitivi. Infatti gli studi relativi ad As e SRs (recettori steroidei) indicano che l'elemento non è un agonista dell'attivazione degli SR e non agisce come antagonista competitivo o non competitivo. L'As altera la capacità del complesso SRs-As di legarsi al DNA nel processo di regolazione della trascrizione genica.

L'As altera la capacità del complesso SRs-As di legarsi al DNA nel processo di regolazione della trascrizione genica. Gli effetti dell'As sul recettore estrogenico e gli altri 4 recettori steroidei (GR, AR, PR ed MR) sono molto simili per cui piccole sequenze assolute o identità strutturali entro le DBD (*DNA Binding Domain*) potrebbero essere un target comune per l'As (Bodwell, 2006).

Studi recenti (J. C. Davey, 2008) hanno evidenziato effetti simili dell'As sul TR (*Thyroid Hormone Receptor*) e sul RAR (*Retinoic Acid Receptor*) i cui domini di legame al DNA differiscono significativamente da quelli di GR.

Ciò porta a ritenere che i recettori stessi non sono il *target* dell'As e che altre proteine o *pathway* di regolazione rappresentino il reale *target*.

In modelli animali basse concentrazioni di As possono alterare i processi di sviluppo che coinvolgono TR. Sia acido retinoico (RA) sia l'ormone tiroideo (TH) rappresentano fattori critici per il normale sviluppo e per le funzioni del soggetto adulto e alterazioni nei pathways regolati

da queste sostanze sono state associate a diversi processi patologici (Davey, 2008). Nell'uomo una forte carenza di ormoni tiroidei alla nascita porta a cretinismo, con caratteristico ritardo mentale, bassa statura e perdita dell'udito. Gravi carenze riscontrabili alla nascita possono essere risolte con la somministrazione di ormoni, ma non si esclude la possibilità di trascurare gli effetti meno evidenti alla nascita (Galton, 2005; Oppenheimer e Samuels, 1983; Raz e Kelley, 1997).

Studi epidemiologici condotti in bambini esposti a dosi elevate di As attraverso l'acqua destinata al consumo umano hanno evidenziato anche effetti sulle funzioni cognitive (Wasserman, 2004). In passato si riteneva che gli effetti derivanti dall'esposizione ad As fossero transienti e reversibili, questo anche in considerazione del fatto che l'elemento non si accumula nel corpo come avviene invece per i composti organici persistenti o metalli come mercurio e piombo e che all'epoca non si conosceva la capacità dell'As di agire sul DNA sia inducendo mutazioni che cambiando lo stato epigenetico del genoma (**figura 15**).

Studi più recenti supportano la convinzione che l'As agisca sul *signalling* ormonale durante varie fasi dello sviluppo per cui non si escludono effetti a lungo termine. (Liu, 2006a; Shen, 2006; Waalkes, 2004a). Conseguentemente, tenuto conto che esistono evidenze sul ruolo di As come interferente endocrino è importante valutare l'impatto complessivo sulla salute umana in modo da pervenire a una caratterizzazione del possibile rischio espositivo, in particolare per categorie di soggetti sensibili. (Smith, 2006; Wasserman, 2004).

Gli ER rivestono un ruolo importante nell'eziologia e nella risposta terapeutica al tumore della mammella, dell'ovaio e dell'utero. Inoltre influiscono direttamente sulla crescita e sull'aggressività del cancro della mammella mentre gli agonisti ed antagonisti degli ER esercitano un ruolo nella promozione e nell'inibizione del cancro al seno e di altri tumori ER dipendenti. Da ciò deriva che quei composti chimici che sono in grado di alterare l'attività degli ER, possono contribuire all'eziologia, progressione o regressione della patologia.

Allo stato attuale delle conoscenze non vi sono sufficienti evidenze per affermare che l'esposizione ad As attraverso il consumo quotidiano di acqua di rete contaminata possa determinare un incremento dell'incidenza di cancro della mammella o di altri tumori ER dipendenti.

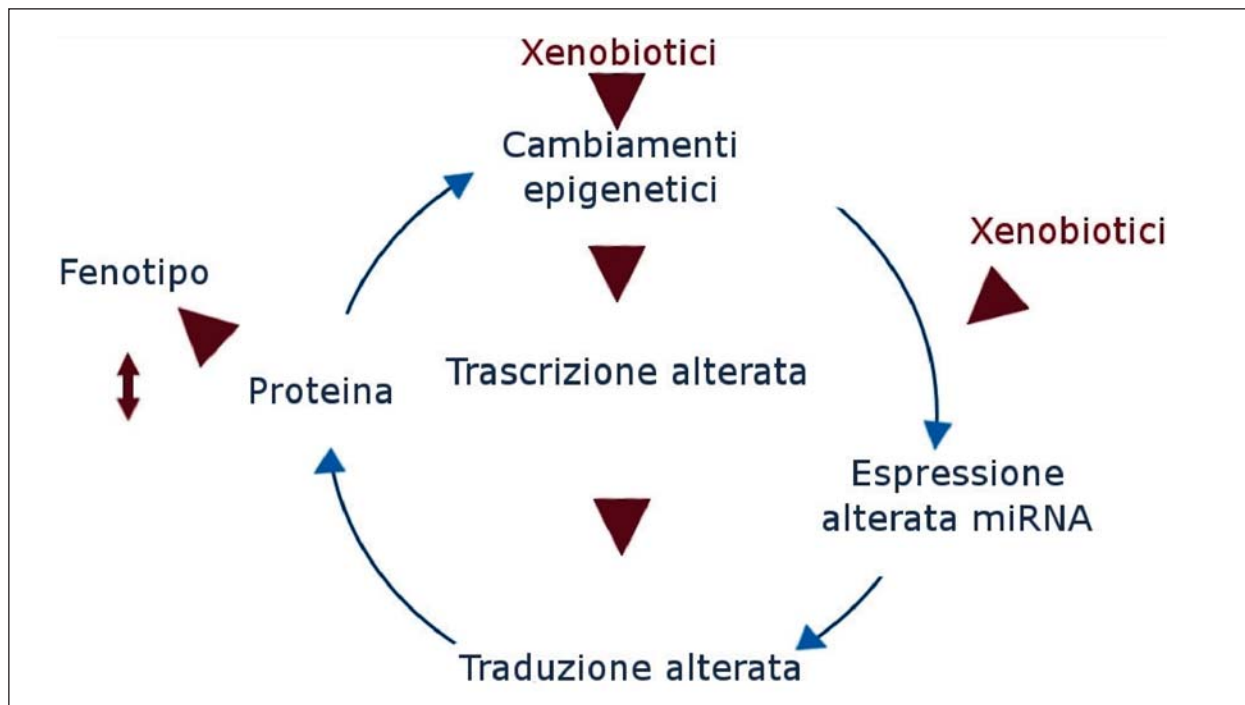


Figura 15 Meccanismi epigenetici possono mediare la tossicità di xenobiotici. L'epigenetica è lo studio dei cambiamenti ereditabili nell'espressione genica che avvengono senza modifiche nella sequenza del DNA. L'epigenoma è suscettibile all'azione di fattori ambientali (esposizione a xenobiotici, comportamenti sociali e carenze nutrizionali), che possono modificare le caratteristiche epigenetiche di un individuo. Modifiche epigenetiche determinano cambiamenti nell'espressione genica senza modificazioni della sequenza nucleotidica del genoma, attraverso alterazioni della metilazione del DNA, modificazioni degli istoni e del pathway dei microRNA. I miRNA regolano i livelli di espressione di geni coinvolti nella risposta agli xenobiotici, hanno un ruolo importante nel controllo della metilazione del DNA e delle modificazioni a livello degli istoni. I profili di espressione dei miRNA possono essere alterati direttamente in seguito ad esposizione a xenobiotici.

Non si esclude un ruolo dell'As nel causare alterazioni nella trasduzione del segnale (*signalling*), condizione alla quale alcuni autori hanno associato anche possibili patologie cardiovascolari.

Ad esempio, un recente studio condotto da Waalkes ha evidenziato che l'esposizione ad As inorganico nei topi aumenta l'incidenza di cancerogenesi nella prole. L'ipometilazione dei promotori dei recettori ER porta a un *overexpression* (Chen, 2004; Liu, 2006a; Liu, 2006b; Shen, 2006).

Gli ER rivestono un ruolo importante nel normale sviluppo e funzione del fegato e nella cancerogenesi a carico di questo organo in sistemi sperimentali. Al riguardo si sottolinea come l'esposizione ad As presente nell'acqua destinata al consumo umano sia stata associata con un aumento del rischio di

cancro epatico, per cui è possibile che gli effetti dell'As sugli ER possano incidere in modo significativo su questa patologia. Lo studio di Waalkes sull'esposizione fetale ad As suggerisce l'esistenza di un *imprinting* correlato agli ER che svolge un ruolo importante nell'induzione di specifiche patologie nel soggetto adulto.

L'esposizione a xenobiotici può modificare processi biologici che alterano i meccanismi epigenetici. L'As incrementa la produzione delle specie ossigeno reattive (ROS) e il danno ossidativo al DNA può interferire con la capacità delle metiltransferasi di interagire con il DNA, risultando in una generalizzata alterazione della metilazione dei residui di citosina ai siti CpG. Sembra ormai accertato il ruolo che l'As può svolgere nelle aberrazioni epigenetiche, essendo peraltro stato evidenziato che la somministrazione a topi di acqua contaminata con questo elemento, induce un'ipometilazione generalizzata del tessuto epatico. Questo dato è stato rilevato *in vitro* in cellule epiteliali di fegato di ratto, dove l'esposizione cronica ad As ha comportato, oltre all'ipometilazione generalizzata, anche una riduzione dei livelli di S-adenosilmetionina e una ridotta attività della DNA metiltransferasi. Il fenomeno dell'ipermetilazione è stato inoltre evidenziato *in vitro* su cellule umane di adenocarcinoma polmonare esposte ad arsenico a carico del promotore del gene p53. Quanto evidenziato è stato confermato da una significativa ipermetilazione dello stesso promotore in soggetti esposti ad As, rispetto ai controlli, con una significativa relazione dose-risposta. La medesima aberrazione a carico dello stesso gene è stata osservata in pazienti affetti da cancro della pelle indotto da As. Nel cancro della vescica l'As induce ipermetilazione dei geni onco-soppressori RASSF1A e PRSS3 (Ficociello, 2010).

11. ESPRESSIONE GENICA, POLIMORFISMI, BIOMARCATORI E MicroRNA

La tecnologia *microarrays* è stata recentemente utilizzata su un modello animale (topo), per valutare le variazioni di espressione genica e gli effetti a lungo termine dell'ingestione di dosi crescenti di As presenti in acqua (Andrew, 2007). Tale studio ha evidenziato una variazione statisticamente significativa di trascritti coinvolti in processi di angiogenesi, metabolismo di lipidi, trasporto di ossigeno, apoptosi, ciclo cellulare e risposta immunitaria. L'alterazione di questi *pathways* è stata rilevata anche in un modello cellulare (epatociti di ratto) unitamente alla deregolazione di recettori ormonali e di diversi oncogeni (Chen, 2001).

Un'ulteriore ricerca, condotta sullo stesso tipo di modello sperimentale, ha invece dimostrato che somministrando acqua contaminata da arsenito di sodio 0,01% si sviluppava iperplasia uroteliale vescicale a distanza di 4 settimane, con accumulo di As(III) inorganico a carico del tessuto vescicale. (Simeonova, 2000). I geni alterati erano coinvolti nei meccanismi di crescita cellulare (quali c-fos, c-jun e EGR-1) e di blocco di GADD153 e GADD45. Si è pertanto ipotizzato che l'effetto dell'As sia in grado di determinare un incremento proliferativo delle cellule uroepiteliali come possibile causa di insorgenza di tumore.

Per quanto riguarda l'effetto dell'As nell'uomo, uno studio condotto su una popolazione del Bangladesh esposta per via cronica ad acqua contaminata (Argos, 2006) ha posto in evidenza che in alcuni soggetti erano presenti lesioni cutanee riferibili all'elemento. Dopo estrazione dell'RNA dai linfociti di sangue periferico (soggetti con presenza e non delle citate lesioni) sono state condotte indagini di laboratorio con la tecnica dei *microarrays*. I *pathways* alterati riguardavano lo *splicing* dell'RNA, il processamento e il metabolismo dell'RNA messaggero, l'alterazione di complessi ribonucleoproteici e dei processi di traduzione e *folding* proteico.

La modalità di azione dell'As è stata oggetto di recenti *review* (Kitchin, 2001; Rossman, 2003; Kligerman e Tennant, 2006) che hanno sottolineato l'importanza di alcuni fattori quali la dose espositiva e la sua durata, la valutazione del sistema biologico o cellulare e le specie arsenicali. Studi recenti (Ahlborn, 2008) hanno dimostrato che alle dosi più elevate di As (10 ppm) si verificava una significativa alterazione dei *pathways* relativi alla regolazione dell'actina nel citoscheletro, MAPK, Jak-Stat, *Tight junction*, *Toll-like*, fosfatidilinositolo e i *pathways* del *signalling* dell'insulina.

Indicativamente 20 geni mostrano una dose risposta, includendo quelli associati alla cancerogenesi o alla crescita tumorale tra cui ciclina D1, CLIC4, efrina A1, STAT3 e DNA metiltransferasi 3a. Dosi uguali o inferiori a 1 ppm solo raramente erano in grado di indurre alterazioni significative dei suddetti *pathways*. In tal caso, le specie arsenicali potevano contribuire alla cancerogenesi come co-cancerogeni/mutageni (ad es. esposizione a raggi UV, fumo, deficit nella dieta) (Rossman, 2002 e 2004) (Figura 12).

Sebbene alle dosi più elevate di As non siano stati correlati in passato cambiamenti trascrizionali nei geni identificati con la cancerogenesi, l'ultimo studio citato suggerisce che essi potrebbero svolgere un ruolo negli stadi precoci della cancerogenesi epiteliale ed essere quindi considerati po-

tenziali biomarcatori. Più recentemente un altro studio ha evidenziato come la distribuzione sub-cellulare della proteina PCBP2 (poly-C binding protein 2) possa essere alterata dopo esposizione ad arsenito di sodio. (Fujimura K, 2008) La proteina PCBP2 è un componente dell' α -complex dell'mRNA dell' α -globina umana che aumenta la stabilità dell'RNA messaggero, facilita la traduzione di trascritti cellulari e virali ed è anche implicata in altri importanti processi biologici quali la regolazione trascrizionale e il silenziamento traduzionale. Appare quindi chiaro come l'effetto dell'esposizione ad As debba essere meglio compresa al fine di chiarire il complesso meccanismo di regolazione genica in tali sistemi.

È stato riportato che le notevoli variazioni inter-individuali nel metabolismo dell'As possono essere dovute alla presenza di polimorfismi a carico di geni che codificano enzimi coinvolti nella metilazione dell'arsenico (Vahter, 2000). Tale processo assume rilevanza in quanto le forme di arsenico organico sono meno tossiche di quello inorganico (processo di detossificazione). Nel ratto la metilazione dell'As avviene ad opera dell'enzima S-adenosil-metionina dipendente (AS3MT). Nel gene AS3MT dell'uomo sono noti i seguenti polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs): R173W (C517T); M287T (T860C) e T306I (C917T) rilevati nella popolazione afro-americana e caucasio-americana (Wood, 2006). Di questi, il polimorfismo M287T è stato ampiamente studiato in popolazioni asiatiche, africane e caucasiche (Fujihara, 2008). La frequenza dei polimorfismi è risultata significativamente più bassa nella popolazione asiatica e questo suggerisce che il rischio collegato all'esposizione ad As potrebbe essere inferiore in queste popolazioni, nonostante la concentrazione dell'elemento nelle acque destinate al consumo umano risulti tra le più elevate riportate in letteratura (anche superiore a 1000 ppb).

Un altro studio ha evidenziato che la variabilità individuale può essere collegata alla suscettibilità di contrarre tumori cutanei o lesioni da esposizione ad As. Oltre al gene AS3MT, anche il gene che codifica per l'enzima che fosforila il nucleoside purina (PNP), un enzima che funziona da arsenato riduttasi, è coinvolto nel metabolismo dell'As. Tre polimorfismi esonici del gene PNP (His20His, Gly51Ser e Pro57Pro) sono stati collegati a forme di arsenicosi cutanea (De Chaudhuri, 2008). Da quanto evidenziato appare evidente che lo studio dei polimorfismi è di fondamentale importanza nella conoscenza dei meccanismi di trasformazione e metabolismo dell'As nell'uomo e nella valutazione dei rischi collegati alla sua esposizione.

Nel caso dell'esposizione ambientale e occupazionale ad As, l'urina e in misura minore il sangue, sono state le due matrici più comunemente utilizzate per l'analisi quantitativa dell'arsenico. Nella fase iniziale di impiego di questi indicatori biologici si è privilegiata la determinazione del contenuto totale di As e solo successivamente, con l'evoluzione tecnico strumentale si è fatto ricorso al riconoscimento delle diverse forme arsenicali nei fluidi biologici considerati. Al riguardo ulteriori approfondimenti e ricerche si rendono necessarie per l'identificazione di ulteriori forme metaboliche (arsenozuccheri) in quanto l'alimentazione può rappresentare un significativo fattore di confondimento nell'interpretazione del dato finale.

L'arsenico urinario è un biomarcatore che può essere impiegato, tenuto conto delle premesse sopra riportate, sia per studi su gruppi di popolazione generale sia per il monitoraggio di soggetti pro-

fessionalmente esposti ad As (Hughes, 2006). Trattandosi di un biomarcatore di esposizione recente è evidente che l'individuazione dell'As nelle urine può risultare estremamente utile nel caso in cui l'esposizione sia continuativa, come ad esempio si verifica in alcune popolazioni asiatiche dove la contaminazione dell'acqua destinata al consumo umano rappresenta una fonte costante di *intake* di arsenico inorganico, con evidenti riflessi sulla dose quotidianamente assunta con gli alimenti. Viceversa, risultano evidenti i limiti di utilizzazione dell'As urinario nel caso di soggetti professionalmente esposti, se la durata dell'esposizione inalatoria ad As non è continuativa. Tale considerazione vale, in misura anche maggiore, per il contenuto di As nel sangue o nel plasma, in quanto in questo compartimento la concentrazione di As e delle eventuali forme chimiche presenti, tende a decrescere ancora più rapidamente.

Una tipologia di indicatori biologici, per certi versi più accessibile, è rappresentata dall'analisi dei capelli e delle unghie che possono venir considerati come biomarcatori a medio e lungo termine. Al riguardo si fa presente che la velocità di crescita del capello è stimata pari a 1 cm/mese per cui dalla sua analisi si possono ottenere informazioni su un periodo medio lungo di esposizione o limitandosi ai segmenti più recenti (vicini alla cute) si può arrivare a definire una sorta di calendario dell'esposizione più recente (Karagas, 1996 e 2000).

Tuttavia la preparazione dei campioni, come in precedenza dettagliato, può risultare complessa ed esporre al rischio di contaminazione accidentale da As, dovendo ricorrere a reattivi per operazioni di lavaggio (acetone, soluzione acquosa di Triton X-100 1%). Un indiscutibile limite di questo tipo di analisi è la mancanza di una correlazione statisticamente significativa tra contenuto di As nelle unghie ed esposizione pregressa alle forme inorganiche dell'elemento (Slotnick, 2006).

Un'esigenza sempre più avvertita è quindi quella di arrivare a identificare nuovi biomarcatori di esposizione, in grado di evidenziare a quale livello espositivo si possono manifestare in soggetti suscettibili effetti avversi alla salute, in assenza totale di sintomi clinici. Analoga considerazione vale per gli indicatori di effetto in quanto i dati resi eventualmente disponibili potrebbero essere utilizzati per verificare l'esistenza di una correlazione dose/riposta, anche a bassi livelli di concentrazione.

Un esempio di potenziale biomarcatore di effetto per l'As inorganico potrebbe essere rappresentato dalla misura del TGF α in cellule uroteliali esfoliate della vescica, acquisendo contemporaneamente valori sul contenuto di As nelle urine previa determinazione delle relative forme arsenicali (Valenzuela, 2007).

Ulteriori e possibili biomarcatori di effetto potrebbero essere la clastogenicità nei linfociti periferici (Maki e Paakkanen, 1998), la presenza di micronuclei nella mucosa orale e nelle cellule della vescica (Biggs, 1997) e l'induzione dell'enzima emeossigenasi (Del Razo, 2001a).

Considerando che i meccanismi coinvolti nella tossicità arsenico-indotta e nella tumorigenesi risultano differenti sono stati utilizzati studi *in vitro* con cellule umane e animali per identificare le modalità d'azione responsabili degli effetti citotossici e genotossici indotti dall'As inorganico.

Ad esempio, si ritiene che danni al DNA arsenico-indotti siano riconducibili, in parte o *in toto* a fenomeni di stress ossidativo. Molecole reattive prodotte in un ambiente cellulare sottoposto a stress ossidativo sono in grado di provocare danni a livello dei cromosomi e interferire con la divisione cel-

lulare. Quest'ultimo effetto sarebbe riferibile a interferenze con il fuso mitotico (Kligerman, 2005) che possono portare ad aneuploidia, instabilità genetica, inizializzazione delle cellule, e potenzialmente indurre la formazione di tumori. Studi *in vitro* dovrebbero essere integrati da studi in animali e in popolazioni umane. Secondo alcuni autori lo stress ossidativo è una potenziale risposta all'esposizione ad As che potrebbe portare a cancerogenesi (Hughes e Kitchin, 2006). Nel merito sarebbe altresì opportuno indagare il significato e l'utilità di altri biomarcatori di effetto dello stress ossidativo indotto da As (8-idrossi-deossiguanosina, isoprostani urinari, etc.). In particolare sarebbe utile studiare l'espressione di geni che codificano enzimi di riparazione (8-ossiguanina-DNA glicosilasi). Questi studi potrebbero anche permettere di identificare i *pathways* responsabili degli effetti cancerogeni dell'As inorganico.

Un progetto ISPESL finanziato dal Ministero della Salute (*Progetto afferente al Programma Strategico 2008-2011 "Sviluppo e applicazione di metodologie e tecniche innovative per la valutazione del rischio e degli effetti sulla salute in esposizioni ambientali e occupazionali. Progetto 6-Studio del rapporto causa-effetto tra geni e stress ambientali nell'induzione dell'effetto tossico". Coordinatore Scientifico del Progetto 6: Dott.ssa Elena Sturchio*), volto all'analisi dell'espressione genica mediante tecnologia microarrays e condotto su linee cellulari umane HEK-293T e Jurkat trattate con arsenito di sodio ad una concentrazione di 2 mM per 24 ore, ha consentito di individuare i geni maggiormente deregolati dopo esposizione ad As(III). Dopo 24 ore di esposizione, sono risultati upregolati alcuni geni legati all'attivazione di processi ossidativi quali il gene emeossigenasi-1 (HMOX-1) e alcune metallotioneine (MT1/MT2) in maniera diversa nelle due linee cellulari testate. Anche alcuni geni legati al metabolismo dell'arsenico, quali l'AS3MT mostrano una modesta upregolazione. Il gene CYP1B1 risulta infine il più downregolato nella linea cellulare HEK-293T e tale dato è in accordo con quanto trovato precedentemente da altri autori (Ruiz-Ramos, 2009). Come già accennato precedentemente, il metabolismo dell'As è collegato a quello dell'acido folico. Dal nostro studio high-throughput risultano deregolati alcuni geni legati al metabolismo dell'acido folico (one-carbon metabolism) sebbene le variazioni trovate non siano state confermate con studi di real-time PCR (**Fig. 16**).

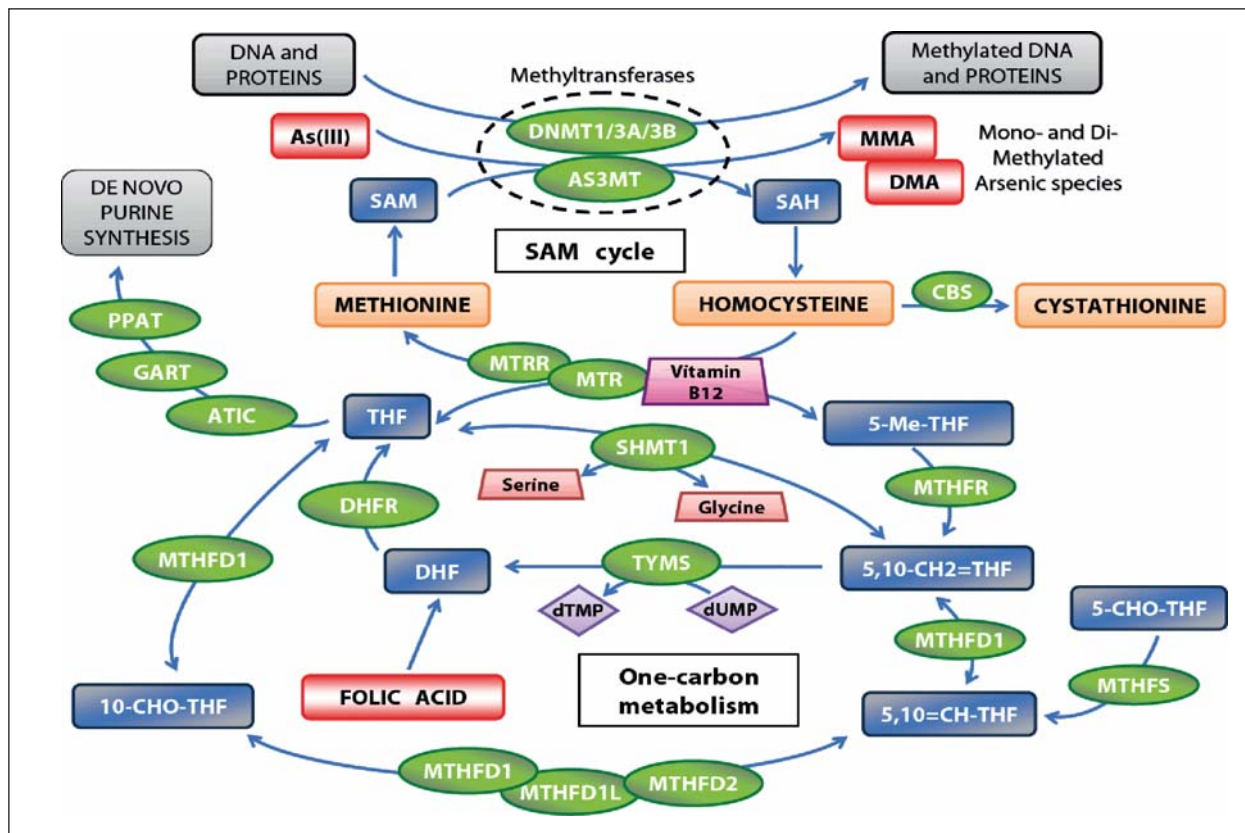


Figura 16. Il meccanismo di metilazione dell'arsenico e' collegato alla metilazione dell'acido folico mediante un processo che porta alla trasformazione dell'omocisteina in metionina. SAM: S-adenosil metionina; As3MT: As+3 metiltransferasi; MTHFR: metilen-tetraidrofolato reductasi, 5-Me-THF: 5- metil-tetraidrofolato; THF: tetraidrofolato, DHF: diidrofolato, 5,10-CH₂-THF: 5-10 metilen-tetraidrofolato; MTHFS: 5,10-metilentetraidrofolato sintetasi; SAH: S-adenosil homocisteina; DMG: dimetilglicina; DHFR: diidrofolato reductasi; MTHFD1L: metilentetraidrofolato deidrogenasi (NADP+ dependente) 1-like, SHMT1: gene serina idrossimetiltransferasi; PPAT: fosforibosil pirofosfato amidotransferasi, GART: fosforibosilglicinamide sintetasi, ATIC: 5-aminoimidazol-4-carbossamide ribonucleotide formiltransferasi/IMP cicloidrolasi, CBS: cistationina-beta-sintetasi.

I microRNA (miRNA), costituiti da brevi sequenze di RNA non codificante, sono stati ampiamente studiati in questi ultimi anni per la loro attività regolatoria post-trascrizionale, in grado di alterare in modo significativo l'espressione genica. I miRNA sono importanti per la regolazione di una serie di processi biologici fondamentali per la cellula, tra cui la proliferazione, il differenziamento e l'apoptosi. Dato il loro coinvolgimento in molti dei processi chiave che regolano l'omeostasi cellulare, alterazioni

dell'espressione di miRNA possono determinare condizioni patologiche anche gravi; sono stati identificati miRNA che agiscono come oncosoppressori o oncogeni. I profili di espressione dei miRNA sono alterati nella maggior parte dei tumori umani ed è stato evidenziato come tali profili possano avere un valore sia diagnostico che prognostico (Calin, 2005; Zhi, 2010).

Un recente studio ha valutato se l'esposizione cellulare a fattori che sono in grado di indurre anomalie dello sviluppo o cancro possa variare anche il profilo dei miRNA (Marsit, 2006). È stato rilevato che la mancanza di acido folico o l'esposizione ad arsenito di sodio inducevano un'aumentata espressione di miRNA, mentre un irraggiamento con raggi non provocava alcuna alterazione. È stato dimostrato che l'esposizione cronica ad arsenico inorganico e ai suoi metaboliti mediante somministrazione di acqua contaminata, elevava l'insorgenza di tumore cutaneo in topi transgenici K6/ODC. Al fine di identificare potenziali biomarcatori e i possibili meccanismi di cancerogenesi, sono stati condotti studi sui profili di espressione genica nei citati animali previa somministrazione di 0- 0,05- 0,25 e 10 ppm di sodio arsenito. È emerso che la carenza di acido folico amplificava negli animali gli effetti del trattamento con As, con conseguente interferenza con la normale proliferazione e differenziazione cellulare. Tale esperimento conferma che la carenza di acido folico rappresenta un fattore di suscettibilità nutrizionale nella genesi del tumore cutaneo indotta da As (Nelson, 2007).

Per contribuire a chiarire i meccanismi molecolari coinvolti nell'insorgenza delle patologie correlate all'esposizione a xenobiotici è da verificare se le conseguenze dell'esposizione a tali sostanze possano essere mediate da una alterazione dei livelli di espressione dei miRNA. L'identificazione di miRNA la cui espressione sia direttamente o indirettamente influenzata dalle sostanze tossiche potrebbe permettere di identificare nuovi meccanismi molecolari coinvolti nella patogenicità degli xenobiotici e futuri biomarkers.

Nell'ambito del Progetto Strategico finanziato dal Ministero della Salute di cui sopra, è stato quindi intrapreso dall'ISPEL uno studio per comprendere le funzioni regolative di miRNA maggiormente espressi in seguito ad esposizione all'arsenico, nella modulazione della traduzione di specifici mRNA bersaglio mediante utilizzo della tecnologia dei microarray.

Tale progetto di ricerca, condotto sulle linee cellulari HEK-293 e Jurkat, ci ha permesso di studiare la deregolazione dei microRNA dopo esposizione ad arsenico. Nelle stesse condizioni infatti, sono stati trovati upregolati alcuni microRNA, quali il miR-222, miR-638 e miR-663 che sono risultati essere upregolati in alcune condizioni di stress e riportati in uno studio recente (Gilad S, 2008). Questo studio ha analizzato la variazione di microRNA dopo irraggiamento, trattamento con acqua ossigenata o etoposide. Tutti e tre gli stimoli ossidativi hanno portato all'upregolazione del miR-638 che è risultato upregolato anche nelle nostre condizioni. Il fatto che anche il trattamento con arsenito di sodio porti all'upregolazione di questo microRNA, conferma ancora una volta che i processi di stress ossidativo sono alla base del meccanismo di esposizione a questo xenobiotico. Un altro studio ha evidenziato come l'interazione tra miRNA e *target*, che porta alla repressione post-trascrizionale del gene, possa essere facilmente soppressa in particolari condizioni di stress ossidativo tra cui anche l'esposizione ad arsenito di sodio 0,1 mM (Bhattacharyya, 2006). Tale osservazione, se confermata anche *in vivo*, complicherebbe ulteriormente la comprensione dei meccanismi di azione di questo interferente.

12. BIOTECNOLOGIE. *Bioremediation e phytoremediation*

La *bioremediation* e la *phytoremediation* sono tecniche di bonifica del suolo che possono essere applicate *in situ* senza alcuna escavazione e trasporto di terreno e senza alterare, ma piuttosto migliorare le proprietà fisico-chimiche del suolo. Queste tecniche sono economicamente convenienti rispetto a quelle convenzionali e trovano applicazione soprattutto nei siti dove la contaminazione è poco profonda e di modesta entità.

Nella *phytoremediation* sono utilizzate le piante che, con diverse modalità, sono in grado di decontaminare i suoli: fitoestrazione, la pianta assorbe gli inquinanti inorganici come metalli e radionuclidi e li accumula nei suoi organi epigei (brassicacee); fitostabilizzazione, la pianta stabilizza la matrice contaminata e riduce la mobilità degli inquinanti per lisciviazione ed erosione; fotodegradazione, la pianta assorbe e degrada l'inquinante organico (pioppo); rizodegradazione, la pianta (girasole) produce essudati radicali che stimolano il metabolismo degradativo dei microorganismi della rizosfera (Petruzzelli G., 2008). Merita uno studio approfondito l'uso di piante che sottraggono l'arsenico dai terreni. La *phytoremediation* è stata proposta per rimuovere l'As dal terreno, ma presenta dei limiti:

- non rimuove l'As effettivamente dal terreno,
- è un processo molto lento, non adattabile alle esigenze dell'agricoltura.

Le piante resistenti all'As possono accumulare notevoli quantità di arsenico nei loro tessuti: 3.470 g/g in *Agrostis tenuis* e 560 g/g in *H. lanatus* (Porter & Peterson, 1975). La tossicità dell'arsenico dipende dalla sua forma chimica, alcuni composti inorganici possono essere più tossici delle forme organiche (Tamaki & Frankenberger, 1992). Si deve pertanto ritenere che le piante resistenti all'arsenico compartimentalizzano e/o trasformano l'arsenico in altre specie meno fitotossiche, per consentire alle cellule di resistere ad elevati carichi di arsenico (Meharg, 1994). Esiste la possibilità di produrre cultivar agronomiche più adatte a suoli ricchi di As con l'introduzione di una variazione genetica che modifichi la risposta delle piante al suo assorbimento e metabolismo (cultivar che assimilano meno arsenico, o che ne accumulano meno nei frutti e nei semi).

Nella *phytoremediation* possono essere utilizzate le piante iperaccumulatrici (felci e piante acquatiche) che sono in grado di completare il loro ciclo vitale in presenza di elevati livelli di arsenico, attraverso la riduzione di arseniato in arsenito, la complessazione dell'arsenito e compartimentazione vacuolare dell'arsenico inorganico o dei complessi.

Tali piante (iperaccumulatrici) includono le felci (*Pteris vittata*) e la senape indiana. Studi recenti (Ma et al., 2001; Francesconi et al., 2002; Visoottiviset et al., 2002; Zhao et al., 2002) hanno dimostrato infatti che le felci appartenenti all'ordine delle *Pteridales* (*Pteris vittata*, *Pteris cretica*, *Pteris longifolia*, *Pteris umbrosa* and *Pityrogramma calomelano*) iperaccumulano l'As nei loro tessuti e sembrano essere ideali per la fitoestrazione unicamente della frazione labile e biodisponibile. Non si conosce il motivo per cui le felci accumulino l'arsenico, che sembra addirittura favorirne la crescita. La fitoestrazione è però efficace solo se la pianta usata produce molta biomassa e quindi accumula grandi quantità di arsenico. In particolare la *Pteris vittata* (Fig. 17) potrebbe rivelarsi utilissima per decontaminare dall'As quei terreni contaminati da attività industriali, minerarie e dall'agricoltura. Le felci accumulano arsenico (fino a 200 volte la

concentrazione del terreno) anche quando crescono su terreni non contaminati, che ne contengono una quantità non tossica (Le Scienze, 2001). L'arsenico assorbito da queste piante è rimosso dai campi quando avviene la raccolta. L'uso della felce e della senape potrebbe essere valutato nei casi in cui è difficile avere una scorta di acqua d'irrigazione contenente bassi quantitativi di As. Il giacinto di acqua (*Eichhornia crassipes*) è un iperaccumulatore di As, ma è usato soltanto per rimuovere l'arsenico dalle acque di irrigazione (per esempio: vasche di sedimentazione) non dai terreni. La possibilità di usare le piante iperaccumulatrici per riabilitare i terreni delle risaie deve essere tuttavia testata al fine di valutare i problemi di smaltimento dei residui della pianta con alto contenuto di arsenico e ridurre i rischi per la salute umana, per il bestiame e la fauna selvatica. Anche la tolleranza all'As può essere conferita, alle piante, con la riduzione del suo assorbimento attraverso la soppressione del trasporto del fosfato. Le piante che tollerano elevati livelli di arsenico nei loro tessuti sono in grado di sopravvivere nei suoli inquinati dai metalli pesanti. La trasformazione dell'arsenico può rappresentare un meccanismo costitutivo o un adattamento (Meharg, 1994). Queste piante possono essere escludenti (mantengono un basso livello di concentrazione dei metalli nei germogli indipendentemente dalla concentrazione del metallo nel suolo; Baker, 1981), accumulatrici (i metalli sono concentrati nelle parti epigee della pianta sia a basse che ad elevate concentrazioni di metallo nel suolo; Baker, 1981) e indicatrici (la concentrazione interna del metallo corrisponde a quella esterna del suolo; McGrath et al., 2002). Le piante tolleranti (es. *Agrostis capillaris*, Fig. 17 Porter e Peterson, 1975) limitano l'assimilazione dell'As dal suolo e/o la traslocazione alle parti aeree, mentre le iperaccumulatrici lo traslocano efficientemente e aumentano la produzione di biomassa in presenza di elevate concentrazioni di questo elemento.



Figura 17 *A. capillaris* e *P.vittata*

La *bioremediation* è un processo di decontaminazione naturale nel quale i funghi sono molto utilizzati (Visoottiviseti e Panviroj, 2001; Turpeinein et al., 2002). Urik et al. nel 2007 hanno dimostrato che è possibile ottenere la biovolatilizzazione dell'As da ceppi fungini isolati in siti altamente contaminati. Ci sono inoltre alcune specie fungine in grado di accumulare ed eliminare l'As nei siti inquinati (Huang e Huang 1996; Hiller 2003; Volesky 2003).

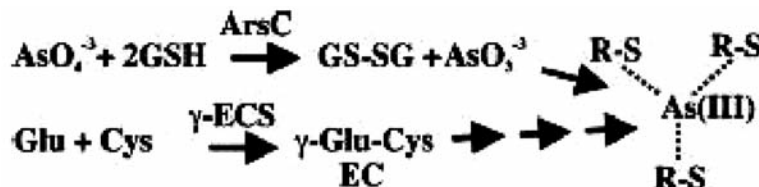
Anche le micorrize che sono funghi simbiotici hanno sviluppato tolleranza ai metalli pesanti poiché sono stati rilevati anche in piante cresciute su suoli contaminati (Shetty et al., 1995).

I funghi micorrizici determinano l'adattamento della pianta ospite al suolo contaminato da arsenico (Sharples et al. 2000 a e b) con lo stesso meccanismo utilizzato dai batteri e dai lieviti (Rosen, 1999) che consiste nella riduzione dell'arseniato in arsenito. Le micorrize potrebbero ridurre l'assorbimento radicale dei metalli o immobilizzarli nelle loro ife e impedirne la traslocazione dalle radici alle parti epigee. Le piante micorrizzate impedendo la traslocazione dei metalli pesanti nei germogli delle piante, possono essere sfruttate nel recupero dei suoli contaminati mediante *phytoremediation* (Leyval et al., 1997) o nella coltivazione di piante alimentari su suoli inquinati da metalli pesanti.

Piante transgeniche

Il mezzo più efficace per decontaminare un suolo dall'arsenico è la sua estrazione da parte delle piante iperaccumulatrici che lo traslocano in steli e foglie. Il gene batterico *ArsC* codifica per l'arsenato reduttasi *ArsC* e utilizza il glutatione (GSH) come donatore di ioni idrogeno/elettroni nella riduzione elettrochimica dell'ossianione arseniato (AsO_4^{3-} , in ossianione arsenito (AsO_3^{3-}). Mentre l'arseniato è analogo al fosfato, l'arsenito è una specie chimica molto diversa, fortemente reattiva con una forte affinità verso i gruppi tio-lici, così come la -glutamilsteina sintetasi, il glutatione, e le fitochelatine. Recenti studi molecolari hanno rivelato molti dei prodotti genici coinvolti in questi processi, fornendo gli strumenti per migliorare le specie coltivate e di ottimizzare la *phytoremediation*, ma finora sono stati manipolati solo singoli geni.

Il primo sistema transgenico per la rimozione dell'arsenico dal suolo è stata sviluppata presso l'Università della Georgia (Atene), utilizzando piante di *Arabidopsis thaliana* geneticamente modificate (**Fig. 18**). L'As viene rimosso dal suolo e trasportato nelle foglie della pianta in una forma che è biologicamente molto meno disponibile. In queste piante geneticamente modificate (Meharg et al.) sono stati inseriti due geni del batterio *E. coli* (*arsC* e γ -ECS) che sono superespressi. Questi geni codificano rispettivamente per gli enzimi arsenato reduttasi, che catalizza la riduzione elettrochimica di arsenato in arsenito, e -glutamilsteina sintetasi che catalizza la formazione di -glutamilsteina dagli aminoacidi glutammato e cisteina e interviene nella sintesi del glutatione (GSH) e delle fitochelatine. Queste piante transgeniche possono essere utilizzate per rimuovere l'arsenico dai terreni contaminati.



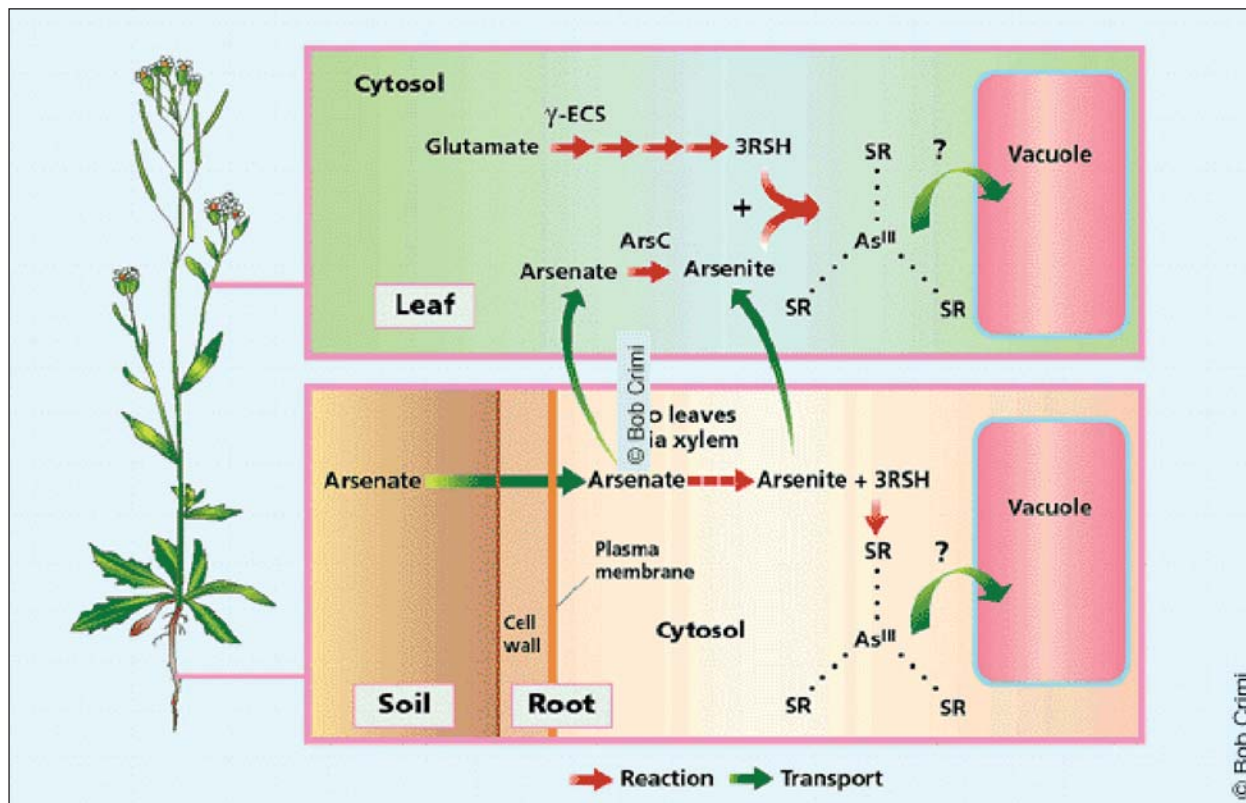


Figura 18 Assorbimento, trasporto, e metabolismo in *A. thaliana* transgenica con i geni batterici *arsC* and γ -ECS super-espressi. (M.Doucleff e N. Terry "Pumping out the arsenic" *Nature Biotechnology* 20, 1094 – 1095, 2002).

L'arsenico presente nel suolo si trova principalmente in forma ossidata arseniato ($\text{As}_5\text{O}_4^{3-}$). Una parte dell'arseniato assorbito nelle radici della pianta può essere incorporato nelle pareti cellulari (probabilmente come FeAsO_4). Il restante attraversa le membrane cellulari della radice probabilmente mediante i trasportatori di diffusione facilitata del fosfato, che è chimicamente simile all'arseniato. All'interno di alcune cellule della radice l'arseniato è ridotto ad arsenito ($\text{As}_3\text{O}_3^{3-}$). Una piccola frazione di arseniato e arsenito viene trasportata dalle radici alle foglie attraverso lo xilema. L'arseniato è poi ridotto ad arsenito dall'enzima *ArsC* che si combina con un tiolo per formare composti arsenico-tiolati. In questa forma, l'arsenico è probabilmente trasportato irreversibilmente nei vacuoli, dove non è più dannoso per la pianta.

Il gene γ -ECS prodotto dirige la sintesi del dipeptide γ -EC, l'enzima che sembra agire sul *pathway* di sintesi delle fitochelatine. Tutti i composti tiolo-peptide nel *pathway* delle fitochelatine (γ -CE, GSH, e fitochelatine) possono legarsi all'arsenito e contribuire potenzialmente alla tolleranza e all'accumulo di arsenico. Sembra che questo dipenda dalla maggiore riduzione elettrochimica dell'arseniato in arsenito dovuta all'attività di *ArsC* e il legame dell'arsenito ai prodotti di γ -ECS (γ -EC, GSH, PC). Questa

strategia viene utilizzata per migliorare l'iperaccumulazione del mercurio. Esistono comunque numerose altre strategie per favorire l'estrazione, il trasporto e lo stoccaggio di mercurio e arsenico. L'espressione costitutiva dell'enzima γ -ECS guidata da *ACT2pt* potrebbe condurre ad un aumento di composti tiolo-peptide in tutti i principali organi vegetativi (radici, fusto, foglie, petali, sepal) e dar luogo a piante che possono crescere su terreni contaminati dall'arsenico. Inoltre, la sovraespressione delle proteine ArsC e γ -ECS nelle piante ibride aumenta ulteriormente la tolleranza all'arsenico e l'iperaccumulazione di arsenico nelle parti aeree, molto più di quanto si potrebbe ottenere con la sola espressione di γ -ECS.

Gli ambienti geotermici, noti per il loro elevato contenuto di arsenico, sono stati spesso utilizzati in studi per individuare i microrganismi (Archaea e batteri) coinvolti nelle sue trasformazioni redox. Poca attenzione è invece stata dedicata agli eucarioti che popolano questi ambienti estremi, e al loro potenziale contributo nei cicli biogeochimici. Studi recenti sembrano mostrare che le alghe svolgano un ruolo significativo nei cicli dell'arsenico in ambienti geotermici, marini e d'acqua dolce e che la metilazione dell'arsenico costituisce una componente importante nei cicli biogeochimici dell'arsenico. In studi di biotrasformazione dell'arsenico su un'alga eucariota termoacidofila dell'ordine delle *Cyanidiales*, (Yellowstone PNAS USA 2009) è stata evidenziata la sua influenza sul ciclo dell'arsenico a temperature elevate. Due geni per l'arsenico metiltransferasi (CmarsM7 e CmarsM8), che conferiscono resistenza ad As (III) in questo organismo, sono stati clonati in un ceppo di *E. coli* ipersensibile all'arsenito. I due CmArsMs ricombinanti sono stati purificati e mostrato di trasformare As (III) in monometilarsenito, DMA (V), TMAO e gas trimetilarsina, ad una temperatura ottimale di 60°-70° C. Tali studi offrono una spiegazione molecolare di come queste alghe riescano a tollerare l'arsenico nel loro ambiente e forniscono una caratterizzazione delle loro metiltransferasi.

In molti organismi unicellulari la tolleranza all'arsenico avviene per rimozione attiva dell'arsenito citosolico, mediante la limitazione dell'assorbimento dell'arseniato.

Nei laboratori dello Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology è stato prodotto un batterio geneticamente modificato, tuttora in sperimentazione, in grado di rilevare la presenza di arsenico nelle acque. Questo batterio, infatti, posto su strisce di carta immerse nell'acqua, emette luce in presenza di questo elemento anche a basse concentrazioni. I vantaggi di questo batterio sarebbero l'elevata precisione, l'economicità, il mancato rilascio nell'ambiente di sostanze inquinanti anche se al momento non è da escludere la possibilità che sia sensibile anche ad altre sostanze chimiche presenti nelle vicinanze dell'arsenico. In Vietnam è già partito il primo esperimento sul campo. (<http://www.molecularlab.it/news/view.asp?n=833>).

13. BIBLIOGRAFIA

Adriano D.C. 2001 Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer, New York.

Alais C. 2000 Scienza del latte. 3rd ed. Milano: Tecniche Nuove.

Alam M.G.M., Allinson G., Stagnitti F., Tanaka A., Westbrooke M. 2002. Arsenic contamination in Bangladesh groundwater: a major environmental and social disaster. Environ. Sci. Technol. 12(3), 235-253.

Andrew A. Meharg, Guoxin Sun, Paul N. Williams, Eureka Adomako, Claire Deacon, Yong-Guan Zhu, Joerg Feldmann, Andrea Raab 2008 Inorganic arsenic levels in baby rice are of concern Environmental Pollution 152 746-749.

APAT, Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare 2007 Mappatura del rischio industriale in Italia, Settembre 2007

APAT 2003 Prima ricognizione sulla presenza di sostanze pericolose nei corpi idrici in Italia – Attuazione Direttiva 76/464/CEE, Rapporti 34/2003

ARPAT 2001 Contributo del dipartimento ARPAT di Grosseto allo studio delle anomalie da metalli, con particolare riferimento all'arsenico, nei terreni agricoli del Comune di Scarlino – Primi risultati del monitoraggio dei suoli agricoli del Comune di Scarlino, Maggio 2000 – Maggio 2001.

ATSDR 2000 Toxicological Profile for Arsenic. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Baker A.J.M. 1981 Accumulators and excluders – strategies in the response of plants to heavy metals. J. Plant Nutr. 3, p.643-654.

Baldantoni E., Ferronato A. 1996 L'arsenico nelle acque del Mediobrenta, Veneto. Acqua Aria, maggio 1996, pp. 505-510.

Bates MN. 1992 Arsenic ingestion and internal cancer: a review. Am J Epidemiol; 139: 1123-1132.

M. Belluati 1994 (Industrie Chimiche Caffaro S.p.A.): L'utilizzo del biossido di cloro nella disinfezione delle acque reflue; in La disinfezione delle acque; 4a Giornata di Studio di Ingegneria Sanitaria Ambientale, Brescia, 16 giugno 1994.

Beni C., Pennelli B., Ronchi B., Marconi S. 2007 Xenobiotics concentration and mobility in bovine milk from Italian farms. Prog. Nutr. 9(1), 39-45.

Beretka J., Nelson P. 1994 The current state of utilization of fly ash in Australia. In "Ash – A Valuable Resource," Vol.1. pp.51-63. South African Coal Ash Association.

Beretta C. 1984 Tossicologia veterinaria Milano:Ed.Grasso.

Byrne, A.R., Šlejkovec, Z., Stijve, T., Fay, IL., Gössler, W., Gailer, J. and Irgolic, K.J. 1995. Arsenobetaine and other arsenic species in mushrooms. *Appl Organomet Chem* 9:305- 313.

Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, Iorio MV, Visone R, Sever NI, Fab-bri M, Iuliano R, Palumbo T, Pichiorri F, Roldo C, Garzon R, Sevignani C, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. 2005 A MicroRNA signature associated with prognosis and pro-gression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 27;353(17):1793-801

Casarett, Doull's 2000 I fondamenti dell'azione delle sostanze tossiche. 5th ed.Roma: EMSI.

Caussy D. 2003 Case Studies of the impact of understanding bioavailability: arsenic. *Ecotox. Environ. Safe.* 56, 164-173.

Cerruti G. 1999 Residui additivi e contaminanti negli alimenti. Ist. Ed Milano:Tecniche Nuove.

Charter R.A., Tabatabai M.A., Schafer J.W. 1995 Arsenic, molybdenum, selenium, and tungsten contents of fertilizers and phosphate rocks. *Commun. Soil Sci. Plant Anal* 26, p.3051-3062.

Chen CJ. 1992 Cancer potential in liver, lung bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. *Br J Cancer*; 66: 888-892.

Cheng Wang-da, Zhang Guo-ping, Yao Hai-gen, Wu Wei, Xu Min 2006, Genotypic and environmental variation in cadmium, chromium, arsenic, nickel, and lead concentrations in rice grains *J Zhejiang Univ Science B* 7(7):565-571.

Cidu R., Caboi R., Biddau R., Petrini R., Slejko F., Flora O., Stenni B., Aiuppa A., Parello F., Valenza M. 2008, Caratterizzazione idrogeochimica ed isotopica e valutazione della qualità delle acque superfi-ciali e sotterranee campionate nel foglio 549 Muravera. In: *GEOBASI - Il foglio IGMI N° 549 Muravera -* (G. Ottonello Ed.). Pacini Ricerca Editore, pp. 149-183

Coddington, K. 1986 A review of arsenicals in biology. *Toxicol. Environ. Chem.* 11, p.281-290

Cullen WR. 1989 Arsenic speciation in the environment. *Chem Rev*; 89: 713-764.

Dall'Aglio M. 1996 Problemi emergenti di geochimica ambientale e salute in Italia con particolare ri-ferimento all'arsenico. Atti del II° Convegno Nazionale sulla protezione e gestione delle acque sot-terranee. Metodologie, tecnologie e obiettivi. Modena, 17/19 maggio 1995, volume 4 ,Quad. Geol. Appl., 1, gennaio-giugno 1996, pp. 85-95, Pitagora Editrice, Bologna.

Das, H.K., Mitra, A.K., Sengupta, P.K., Hossain, A., Islam, F., Rabbani, H.H., 2004. Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: a preliminary study. *Environment International* 30, 383-387.

De Sesso J.M. 1998 An assessment of the developmental toxicity of inorganic arsenic. *Reprod Toxicol*; 12: 385-433.

Decisione 2000/479/CE Decisione della Commissione, del 17 luglio 2000, in merito all'attuazione del Registro europeo delle emissioni inquinanti (EPER) ai sensi dell'articolo 15 della direttiva 96/61/CE del Consiglio sulla prevenzione e la riduzione integrate dell'inquinamento (IPPC), *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* del 28 luglio 2000 L 192, **abrogata e sostituita dal Regolamento (CE) 166/2006** del Parlamento Europeo e del Consiglio del 18 gennaio 2006 relativo all'istituzione di un registro europeo delle emissioni e dei trasferimenti di sostanze inquinanti e che modifica le direttive 91/689/CEE e 96/61/CE del Consiglio, *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* del 4 febbraio 2006, L 33/1

Decreto Legislativo 152/2006 Norme in materia ambientale; *Gazzetta Ufficiale* n.88 del 14 aprile 2006, Supplemento Ordinario n.96

Decreto Legislativo 133/2005 Attuazione della direttiva 2000/76/CE, in materia di incenerimento dei rifiuti, *Gazzetta Ufficiale* n. 163 del 15 luglio 2005, Supplemento Ordinario n. 122

Decreto Legislativo 59/2005 Attuazione integrale della direttiva 96/61/Ce relativa alla prevenzione e riduzione integrate dell'inquinamento; *Gazzetta Ufficiale* n.93 del 22 aprile 2005, Supplemento Ordinario n.72

Decreto Legislativo 31/2001 Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano; *Gazzetta Ufficiale* n. 52 del 3 marzo 2001, Supplemento Ordinario n. 41.

Decreto Legislativo 10 maggio 2004, n.149 Attuazione delle direttive 2001/102/CE, 2002/32/CE, 2003/57/CE e 2003/100/CE, relative alle sostanze ed ai prodotti indesiderabili nell'alimentazione degli animali; *Gazzetta Ufficiale* N. 139 del 16 Giugno 2004.

Direttiva 98/83/CE del Consiglio del 3 novembre 1998 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano; *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* del 5 dicembre 1998 L 330/32.

Direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 7 maggio 2002 relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali; *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* del 30 maggio 2002, L 140/10.

Direttiva 2003/100/CE della Commissione del 31 ottobre 2003 che modifica l'allegato I della Direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio relativa alle sostanze indesiderabili nell'alimentazione degli animali; *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* del 1 novembre 2003, L 285/33.

Direttiva 2004/107/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 15 dicembre 2004 concernente l'arsenico, il cadmio, il mercurio, il nickel e gli idrocarburi policiclici aromatici nell'aria ambiente; *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* del 26 gennaio 2005, L 23/3.

Direttiva 96/61/CE del Consiglio del 24 settembre 1996 sulla prevenzione e la riduzione integrate dell'inquinamento; Gazzetta ufficiale dell'Unione europea del 10 ottobre 1996, L 257, **abrogata e sostituita dalla versione codificata, Direttiva 2008/1/Ce** del Parlamento europeo e del Consiglio del 15 gennaio 2008 sulla prevenzione e la riduzione integrate dell'inquinamento, Gazzetta ufficiale delle Comunità europee del 29 gennaio 2008, L 24.

Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio 12 giugno 2002 Regolamento attuativo degli articoli 31 e 33 del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22 relativo all'individuazione dei rifiuti pericolosi che è possibile ammettere alle procedure semplificate, Gazzetta Ufficiale n.177 del 30 luglio 2002.

Decreto del Ministero dell'Ambiente 5 febbraio 1998 Individuazione dei rifiuti non pericolosi sottoposti alle procedure semplificate di recupero ai sensi degli articoli 31 e 33 del decreto legislativo 5 febbraio 1997, n. 22 Gazzetta Ufficiale del 16 aprile 1998, Supplemento Ordinario n.88

Dixon HBF. 1997 The biochemical action of arsonic acids especially as phosphate analogues. Adv Inorg Chem; 44: 191-227.

Doucleff M. and Terry N. 2002 Pumping out the arsenic Nature Biotechnology 20, 1094 – 1095.

EFSA 2009, Scientific Opinion on Arsenic in Food; EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), EFSA Journal; 7 (10): 1351.

Ellenhorn MJ. 1997 Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1540.

Ficociello B., Sturchio E., Minoia C., Casorri L., Signorini S., Imbriani M. 2010 Epigenetica ed esposizione ambientale a xenobiotici Ital Med Lav Erg 32:1,13-22

Fitz W.J., Wenzel W.W., Zhang H., Nurmi J., Štípek K., Fischerová Z., Schweiger P., Köllensperger G., Ma L.Q., Stinger G. 2003 Rhizosphere characteristics of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and monitoring of phytoremoval efficiency. Environ. Sci. Technol., 37: 5008–5014.

Francesconi KA. 2002 Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. Clin Chem; 48: 92-101.

Francesconi, K.A. 2007. Toxic metal species and food regulations e making a healthy choice. The Analyst 132, 17-20.

Gialdini F., Sorlini S., Belluati M. 2008 Conventional oxidation treatments for arsenic removal with chlorine dioxide, chlorine, potassium permanganate and monochloramine, Atti del "2nd international conference Cost Action 637 METEAU – Metals and Related Substances in Drinking Water" Lisbona (Portogallo) 29-31/10/2008.

Gialdini F., Sorlini S. 2007 European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research, Metals and Related Substances in Drinking Water Cost Action 637 International Conference Plumbosolvency Cuprosolvency Other metals and related substances Health, environmental, and socio-economic impacts Antalya, Turchia 24 – 26 Ottobre 2007, Atti.

Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholakh H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut 2008 A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. PLoS One. Sep 5;3(9):e3148.

Helgesen H., Larsen E.H., 1998 Bioavailability and speciation of arsenic in carrots grown in contaminated soil. Analyst 123(5), 791-796.

Hiller E. 2003 Adsorption of arsenates on soils: kinetic and equilibrium studies. In Journal of Hydrology and Hydromechanics 51, 228-297.

Huang Y.C. 1994 Arsenic distribution in soil. In: Arsenic in the environment, Part I: Cycling and characterization. Nriagu, J. O. (Ed). Wiley-Interscience, New York, p.17-49.

Huang S., Huang C. P., 1996 Application of *Aspergillus niger* and *Rhizopus oryzae* for Cu (II) removal. In Water Research 30, 1985-1990.

Hughes MF. 2002 Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. Toxicol Lett; 133:1-16.

IARC 2004 Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic. The monographs: Arsenic in Drinking-water; 84: 40-267.

IARC 1987. Arsenic and arsenic compounds. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 23 (suppl 7): 100-103.

INES 2006 Inventario Nazionale delle Emissioni e loro Sorgenti, Registro 2006 validato ed aggiornato all'8/04/2010, disponibile su <http://www.eper.sinanet.apat.it/site/it-IT/> (accesso in data 24/05/2010)]

ISPRA 2009 La disaggregazione a livello provinciale dell'inventario nazionale delle emissioni, Anni 1990 – 1995 – 2000 - 2005. Rapporti 92/2009. Disponibile su <http://www.apat.gov.it/site/it-IT/APAT/Pubblicazioni/Rapporti/>

ISPRA 2010a, Banca Dati BRACE - Misure di qualità dell'aria a livello nazionale, disponibile su <http://www.sinanet.apat.it/it/aria> (accesso in data 19/04/2010)

ISPRA 2010b Risorsa Inventaria Manuale e linee guida degli inventari locali e database dei fattori di emissione, disponibile in: http://www.sinanet.apat.it/it/inventaria/disaggregazione_prov2005/ (accesso in data 11/05/2010)

Joint FAO/WHO Expert Committee for Food Additives, 1989. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 33rd report, Tech Rep Ser 776; WHO, Geneva, Switzerland, pp. 27-38.

Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001 Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, FL.

Kitchin KT. 2001 Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal models and methylated arsenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol*; 172: 249-261.

Lasat M.M., 2000 Phytoextraction of metals from contaminated soils: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *J. Hazard. Subst. Res.* 2, 1-21.

Lebourg A., Sterckeman T., Ciesielski H., Proix N., 1996 Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol. *Agronomie* 16, 201-215.

Le Scienze 2001 La felce: una spugna per l'arsenico; <http://lescienze.espresso.repubblica.it>.

Leyval C., Turnau K., Haselwandter K. 1997 Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7, p.139-153.

Li X., Thornton I. 1993 Arsenic, antimony, and bismuth in soil and pasture herbage in some old metalliferous mining areas in England. *Environ. Geochem. Health.* 15, p.135-144.

Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W., Cai Y., Kennelly E.D. 2001 A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* 409, p. 579.

Mandal BK. 2002 Arsenic round the world: A review. *Talanta*; 58: 201-235.

Mantelli F. 2002 Presenza di arsenico nelle acque distribuite al consumo umano in Toscana, Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Toscana (ARPAT) – Dipartimento provinciale di Firenze.

Marschner e Romheld, 1983 *In vivo* measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface; effect of plant species and nitrate source. *Z. Pflanzenernaehr, Bodenkd.* 111, 224-251.

Masotti A., Da Sacco L., Bottazzo G. F., Sturchio E. 2009 Risk assessment of inorganic arsenic pollution on human health, *Environmental Pollution* 157; 1771–1772.

McGrath S.W., Zhao F.J., Lombi E. 2002 Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides. *Adv. Agron.* 75, p.1-56.

Meharg A.A., McNair M.R. 1994 Relationship between plant phosphorus status and the kinetics of arsenate influx in clones of *Deshampsia cespitosa* L. Beauv. That differ in their tolerance to arsenate. *Plant Soil* 162, p.99-106.

Meharg A.A., Sun G., Williams P.N., Adamako E., Deacon C., Zhu Y.-G., Feldmann J., Raab A. 2008. Inorganic arsenic levels in baby rice are of concern. *Environ. Pollut.* 157: 1771-1772

NRC. 1999 Arsenic in Drinking Water. Washington, DC: National Research Council.

NRC. 2001 Arsenic in Drinking Water. Update. Washington, DC: National Research Council.

Petruzzelli G. 2008 Meccanismi di biodisponibilità nel suolo. Istituto per lo Studio degli Ecosistemi CNR Pisa (http://www.apat.gov.it/site/files/Doc_bioindicatori/Abstract_Petruzzelli.pdf).

Pizarro I., Gómez M., Cámara C., Palacios M.A. 2003 Arsenic speciation in environmental and biological samples. Extraction and stability studies. *Anal. Chim. Acta*, 495: 85–98.

Porter E.K., Peterson P.J. 1975 Arsenic accumulation by plants on mine waste (United Kingdom). *Sci. Total. Environ.* 4, 365-371.

Prandi N. 1998 Presenza di arsenico nell'acqua potabile del territorio dell'Azienda Ussl n. 20 di Viadana (MN). Possibile indicatore di rischio sanitario nelle derrate di origine animale e nell'uomo. *Ingegneria alimentare* 1, pp. 13-19.

Regolamento (CE) n.790/2009 della Commissione del 10 agosto 2009 recante modifica, ai fini dell'adeguamento al progresso tecnico e scientifico, del regolamento (CE) n. 1272/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele; Gazzetta ufficiale dell'Unione europea del 5 settembre 2009, L 235/1

Regolamento (CE) n.1272/2008 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006; Gazzetta ufficiale dell'Unione europea del 31 dicembre 2008, L 353/1

Regolamento 1881/2006/CE della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari; Gazzetta ufficiale dell'Unione europea del 20 dicembre 2006, L 364/5.

Regolamento 466/2001/CE della Commissione dell'8 marzo 2001 che definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari; Gazzetta ufficiale delle Comunità europee del 16 marzo 2001, L 77/1.

Riviere J.E., Boosinger T.R., Everson R.J. 1981. Inorganic arsenic toxicosis in cattle. *Mod Vet Pract* 62:209-11.

Rosen B. 1999 Families of arsenic transporters. *Trends Microbiol.*, 7, p.201-212.

Rossman TG. 2003 Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach. *Mutat Res*; 533: 37-65.

Ruiz-Ramos, R., Lopez-Carrillo, L., Albores, A., Hernandez-Ramirez, R. U. & Cebrian, M. E. 2009 Sodium arsenite alters cell cycle and MTHFR, MT1/2, and c-Myc protein levels in MCF-7 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 241, 269-274.

Ruiz-Ramos, R., Lopez-Carrillo, L., Rios-Perez, A. D., De Vizcaya-Ruiz, A. & Cebrian, M. E. 2009 Sodium arsenite induces ROS generation, DNA oxidative damage, HO-1 and c-Myc proteins, NF-kappaB activation and cell proliferation in human breast cancer MCF-7 cells. *Mutat. Res.* 674, 109-115.

Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2000a Mechanism of arsenate resistance in the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ercae*. *Plant Physiol.* 124, p.1327-1334.

Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2000b Simbiotic solution to arsenic contamination. *Nature* 404, p.951-952.

Shetty K.G., Banks M.K., Hetrik B.A., Schwab A.P. 1995 Effects of mycorrhizae and fertilizer amendments on zinc tolerance of plants. *Environmental Pollution* 88, p.307-314.

Simsek O. 2000 The effects of environmental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Nahrung- Food*; 44: 360-371.

Singh S.P., Rakipov N.G., 1986 *International Journal of Environmental Studies* 31, 291-295. In: Violante, A., Gianfreda, L.: 2000. *Soil Biochemistry* Vol.10.

Smadley P.L., Kinniburgh D.G. 2002 A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 17, p.517-568.

Sturchio E., Minoia C., Masotti A., Leoni E., Sottani C., Biancamonti G., Ronchi A., Casorri L., Signorini S., Imbriani M. 2009 Interferenti endocrini, Schede Monografiche: Arsenico, *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia* Vol. 31 pag. 5-32.

Thatcher C.D., Meldrum J.B., Wikse S.E. and Whittier W.D. 1985 Arsenic toxicosis and suspected chromium toxicosis in a herd of cattle. *JAVMA* 187:179-182.

The Stationary Office, 1959. The arsenic in food regulations 1559 (S.I. 1959/831) as amended, London.

Turpeinein R., Panstar-Kallio M., Kaireslao T. 2002 Role of microbes in controlling the speciation of arsenic and production of arsines in contaminated soils. In *The Science of the Total Environment* 285, 133-145.

Urik M., Cernanskt S., Sevc J., Simonovicova A., Lettera P. 2007 Biovolatilization of arsenic by different fungal strains In *Water Air Soil Pollution* 186, 337-342.

U.S. EPA 2003, U.S. EPA Workshop on Managing Arsenic Risks to the Environment: Characterization of Waste, Chemistry, and Treatment and Disposal, Proceedings and Summary Report, EPA/625/R-03/010, October 2003

U.S. EPA 2002, Arsenic Treatment Technologies for Soil, Waste and Water, EPA-542-R-02-004, September 2002 [http://www.clu-in.org/download/remed/542r02004/arsenic_report.pdf]

U.S. EPA 1993 Arsenic, Inorganic (CASRN 7440-38-2), Integrated Risk Information System. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency. Available: <http://www.epa.gov/iris/subst/0278.htm>.

U.S. EPA 1988 Special report on ingested inorganic arsenic, skin cancer, nutritional essentially. Technical report EPA/625/3- 87/013, Washington, DC.

Vahter M. 2000 Genetic polymorphisms in the biotransformation of inorganic arsenic and its role in toxicity. *Toxicol Lett*; 112: 209-217.

Violante A., Ricciardella M., Pigna M., Capasso R. 2005a Effects of organic ligands on the sorption of trace elements onto metal oxides and organo-mineral complexes. In: *Biogeochemistry of Trace Elements in the Rhizosphere*. Huang, P.M., Gobran, G.R., Elsevier, B.V. (Eds), p. 157-182.

Violante A., Pign, M., Del Gaudio S., 2005b Adsorption-Desorption Processes of Arsenate in Soil Environments. In: *Soil Abiotic & Biotic Interactions and the Impact on the Ecosystem & Human Welfare*. Huang P.M., Bollag J.-M., Violante A. and Vityakon P (Eds.), Science Publishers (Enfield, NH USA), p. 269-299.

Visootviseth P., Francesconi K., Sridokchan W. 2002 The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. *Environ. Pollut.* 118, p.453-461.

Visootviseth P., Panviroj N. 2001 Selection of fungi capable of removing toxic arsenic *dove*.

Volesky B., 2003 Sorption and biosorption. Montreal: BV Sorbetex.

Wang JP. 2002 Porphyrins as early biomarkers for arsenic exposure in animals and humans. *Cell Mol Biol*; 48: 835-843.

WHO 1996 Guidelines for Drinking Water Quality, Recommendations, 2nd ed., vol. 2, Geneva.

WHO 2001 Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224. World Health Organization, Geneva.

Xu X.Y., McGrath S.P., Meharg A. A., Zhao F.J. 2008, Growing Rice Aerobically Markedly Decreases Arsenic Accumulation *Environ. Sci. Technol.*, 42, 5574–5579

Yamily J., Zavala, and John M. 2008 Duxbury Arsenic in Rice: I. Estimating Normal Levels of Total Arsenic in Rice Grain Environ. Sci. Technol., 42 (10), 3856-3860 • DOI: 10.1021/es702747y • Publication Date (Web): 16 April 2008.

Zavatti A., Attramini D., Bonazzi A., Boraldi V., Malagò R., Martinelli G., Naldi S., Patrizi G., Pezzera G., Vandin W., Venturini L., Zuppi G. M. 1995 La presenza di arsenico nelle acque sotterranee della Pianura Padana: evidenze ambientali e ipotesi geochimiche. Atti del II° Convegno Nazionale sulla protezione e gestione delle acque sotterranee. Metodologie, tecnologie e obiettivi. Nonantola (MO) 17/19 maggio 1995, volume 2, Quaderni Geol. Appl., 1, gennaio-giugno 1996, pp. 2301-2326, Pitagora Editrice, Bologna.

Zhang X.L.S, Zhu X.S.Y-G. 2005 Toxicity of arsenate and arsenite on germination, seedling growth and amyolytic activity of wheat. Chemosphere 61, p.293-301.

Zhao F.J., Dunham S.J, McGrath S.P. 2002 Arsenic hyperaccumulation by different fern species. New Phytol. 156, 27-31.

Zhi F, Chen X, Wang S, Xia X, Shi Y, Guan W, Shao N, Qu H, Yang C, Zhang Y, Wang Q, Zang R, Zen K, Zhang CY, Zhang J, Yang Y. 2010 The use of hsa-miR-21, hsa-miR-181b and hsa-miR-106a as prognostic indicators of astrocytoma. Eur J Cancer. Mar 8. [Epub ahead of print].

<http://www.iffonet.intranet/content/archivos/80.pdf>

http://www.torinoscienza.it/link/apri?obj_id=2448

<http://www.molecularlab.it/news/view.asp?n=833>.

