

ARSENIC IN BERRIES AND ITS CORRELATION WITH NATURAL SOIL CONTENT: EXPERIENCE IN TRENTO (ITALY)

D. Bertoldi^(1,2), R. Larcher⁽¹⁾, G. Nicolini⁽¹⁾, M. Bertamini⁽¹⁾, G. Concheri⁽²⁾

⁽¹⁾ IASMA – Fondazione E. Mach, via Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN), Italy
daniela.bertoldi@iasma.it

⁽²⁾ Università di Padova, Dip. Biotecnologie Agrarie, viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

ABSTRACT

Il lavoro presenta l'evoluzione dei contenuti di arsenico nelle uve durante lo sviluppo e la maturazione, e la sua distribuzione nell'acino; verifica inoltre la relazione tra i contenuti di As nelle uve, nelle foglie e nei suoli caratterizzati da una dotazione differente e naturale di questo elemento.

Nella bacca l'arsenico cresce durante la stagione vegetativa e a maturazione è localizzato nella polpa (50%), nella buccia (40%) e in minima parte nei semi.

La correlazione tra i contenuti di As nelle bacche raccolte in 18 vigneti, nelle corrispondenti foglie e nei rispettivi suoli estratti con acetato di ammonio risulta statisticamente significativa.

KEY-WORDS

arsenico – arsenico biodisponibile – suolo – *Vitis* – acino – ICP-MS

ABSTRACT

The work illustrates arsenic content in grapes during development and ripening and its distribution in the berry, together with the relationship between As content in grape berries, leaves and soils where this element is naturally present in different amounts.

Arsenic increases in the berry during the growing season and is located in the pulp (50%), the skin (40%) and to a lesser extent in the seeds in ripe berries.

The correlation between the As content in berries collected in 18 vineyards and in the corresponding leaves and soils, extracted using ammonium acetate, is statistically significant.

KEY-WORDS

arsenic – bioavailable arsenic – soil – *Vitis* – grape berry – ICP-MS

INTRODUZIONE

L'arsenico (As) è naturalmente presente nella crosta terrestre, diffuso in vari tipi di rocce e soprattutto nei sedimenti argillosi e negli scisti. È un elemento calcofilo spesso associato a solfuri minerali soprattutto di Fe, Cu e Pb quali pirite, calcopirite e galena ed ha un comportamento geochimico simile al P (elemento antagonista). È presente nell'ambiente sia in forme inorganiche che organiche, interconvertibili tra loro (attraverso ad es. processi di metilazione) a seguito di processi biotici e abiotici.

Nei suoli non contaminati, i livelli di As variano tra <0.1 e 95 mg/kg con medie mondiali in genere inferiori a 10 mg/kg (Adriano, 2001; Kabata-Pendias, 2001). La solubilità di questo elemento - e conseguentemente la sua concentrazione nella soluzione del suolo - è influenzata principalmente dalle condizioni redox, dal pH, dalla presenza di sostanza organica e dall'attività biologica (Jones *et al.*, 2000). Nella soluzione del suolo l'As è presente con stato di ossidazione (III) o (V). L'As(III) è più solubile, mobile e tossico

dell'As(V) che risulta essere comunque la specie fitodisponibile dominante nei suoli aerobici (Adriano, 2001).

All'As di origine naturale, geogenica, si può aggiungere quello di derivazione antropica. Tale elemento può essere infatti emesso nell'ambiente in seguito all'attività industriale e mineraria, alla combustione del carbone e dalle centrali geotermiche ed essere inoltre presente come tracce nei concimi fosfatici e in molti fitofarmaci e defoglianti. Conseguentemente, concentrazioni relativamente elevate possono talvolta essere ritrovate nel suolo e destare preoccupazione in riferimento ad un possibile assorbimento da parte delle piante con successivo trasferimento attraverso la catena alimentare fino all'uomo, con rischi di cancerogenicità. L'International Agency for Research on Cancer (IARC) ha infatti classificato l'As ed i suoi composti inorganici come "cancerogeni per l'uomo" (gruppo 1) e i suoi composti organici metabolizzati dall'uomo (acido monometilarsinico e acido dimetilarsinico) come "possibili cancerogeni per l'uomo" (gruppo 2B).

Benchè i minerali e i composti dell'As siano piuttosto solubili, tuttavia, la maggior parte dell'As nei suoli non risulta molto mobile né biodisponibile poiché generalmente fortemente associato a ossidi cristallini o amorfi di Fe e Al, nei terreni acidi, e al Ca in quelli basici (Wenzel et al., 2001; Kabata-Pendias, 2001).

In condizioni aerobiche il desorbimento di As(V) dal suolo aumenta all'aumentare del pH a causa dell'aumento delle cariche negative a livello dei colloidi del suolo (Smith *et al.*, 1999; Adriano, 2001). Tuttavia, un calo del pH, per esempio a livello della rizosfera, può dissolvere gli ossidi e idrossidi di Fe e Al con la conseguente co-dissoluzione dell'As legato a questa frazione (Fitz, Wenzel, 2002). Al contrario, l'adsorbimento di As(III) aumenta con il pH.

Nonostante sia già stato osservato come l'As in genere si accumuli nelle radici e nelle foglie più vecchie (Kabata-Pendias, 2001), tuttavia informazioni più dettagliate sulla sua distribuzione in particolare nel caso della vite sono carenti.

Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare l'esistenza di una correlazione tra i contenuti di As nei suoli e nelle uve al fine di valutare la pericolosità dell'utilizzo/consumo di uve prodotte in aree geologiche naturalmente ricche di questo elemento. Si è voluto inoltre aumentare le conoscenze circa l'accumulo e localizzazione dell'As nell'acino d'uva studiandone la variazione dei contenuti nella bacca durante lo sviluppo e la maturazione e la distribuzione nelle diverse porzioni della bacca stessa.

MATERIALI E METODI

Evoluzione dei contenuti di As nella bacca.

Per lo studio dell'evoluzione dei contenuti di As nella bacca intera durante lo sviluppo e la maturazione, sono state considerate uve cv. Chardonnay (cl. 95, p.i. 3309), prelevate dall'allegagione (40 giorni prima dell'invaiaura) alla surmaturazione (60 gg dopo l'invaiaura) in 2 vigneti trentini localizzati a San Michele all'Adige (SM, 289 m s.l.m.) e Faedo-Maso Togn (MT, 723 m s.l.m.). Entrambi i vigneti insistevano su un suolo di tipo alcalino (pH 8.11 e 7.99 rispettivamente) benché con diversa dotazione di calcare totale (499 g/kg e 222 g/kg rispettivamente). Da ciascun vigneto sono stati raccolti a cadenza indicativamente settimanale, per un totale di 11-12 momenti, 4 campioni da 100 bacche ciascuno. Le bacche sono state lavate con acido nitrico 1%, risciacquate con acqua ultrapura, omogeneizzate, mineralizzate con acido nitrico concentrato in vaso chiuso (Bertoldi *et al.*, 2009) e analizzate mediante uno spettrometro di massa con sorgente al plasma accoppiata induttivamente (ICP-MS) dotato di cella di collisione (gas He) per la rimozione di interferenti, utilizzando lo Sc come standard interno.

Distribuzione dell'As nell'acino.

Per lo studio della distribuzione dell'As nelle diverse frazioni dell'acino, da ciascun appezzamento sono stati raccolti settimanalmente ulteriori 4 campioni da 100 bacche. Tale campionamento è stato effettuato nell'intervallo di composizione delle uve tra i 20 e i 24° Brix (corrispondente ad un periodo di circa 4 settimane) in modo da corrispondere a diversi livelli di maturazione tecnologica. Queste bacche sono state lavate e divise in modo da ottenere separatamente campioni di bucce e semi. Le 2 frazioni sono state omogeneizzate, mineralizzate e analizzate mediante ICP-MS. Il contenuto di As nella polpa è calcolato per differenza a partire dal contenuto nella bacca intera a cui sono sottratti i contributi di semi e buccia.

Correlazione tra i contenuti di As di suoli, bacche e foglie.

La correlazione tra i contenuti di As nelle bacche, nelle foglie e nei rispettivi suoli è stata valutata su campioni raccolti in 11 diversi vigneti localizzati in provincia di Trento, caratterizzati da condizioni pedo-climatiche e geologiche differenti (pH del suolo variabile tra 5.6 e 8.1, calcare totale variabile tra 5 e 700 g/kg). In 7 di questi vigneti i campionamenti sono stati effettuati anche in un secondo anno.

Presso questi vigneti, in prossimità della vendemmia, sono stati quindi raccolti campioni di bacche (con le stesse modalità sopra descritte), foglie (quarta foglia dopo il secondo grappolo), e suoli (fino ad una profondità di 60 cm). Le foglie sono state lavate con acido citrico 0.2%, seccate a 40°C, macinate, mineralizzate con acido nitrico concentrato e acqua ossigenata in vaso chiuso e analizzate mediante ICP-MS. I suoli sono stati seccati a temperatura ambiente e setacciati a 2 mm. È stato quantificato sia l'As "pseudototale" dissolvibile in acqua regia dopo mineralizzazione in microonde (ISO 11466/1995), sia l'As estraibile in acetato di ammonio 1M a pH 7 (SSIR, 2004). Il termine "pseudototale" si riferisce alla non completa dissoluzione della frazione silicatica del suolo da parte dell'acqua regia (Page *et al.*, 1982).

Elaborazioni statistiche

L'elaborazione dei dati è stata effettuata mediante le procedure statistiche del pacchetto software STATISTICA 8.0 (StatSoft, 2008).

RISULTATI E DISCUSSIONE

In entrambi i vigneti, i contenuti di As (espressi per bacca) aumentano nell'acino durante lo sviluppo e la maturazione (Fig. 1).

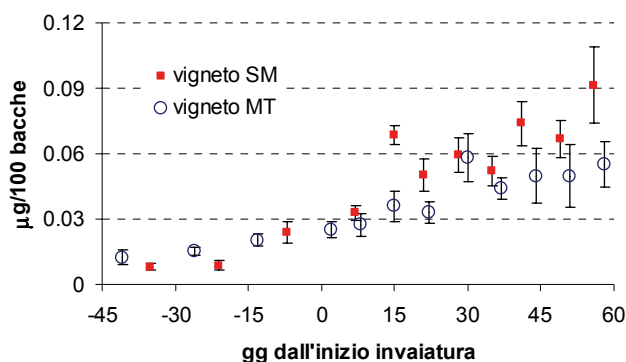


Fig. 1. Variazione dei contenuti (media \pm err. std., N=4 per ogni punto) di As nella bacca durante la stagione nei 2 vigneti

A livello dell'acino, e considerando le medie geometriche, la maggior parte dell'As è localizzato nella polpa (50% rispetto al contenuto totale nella bacca) e nella buccia (40%), con contenuti percentuali non statisticamente differenti (test ANOVA, $p < 0.05$, $N=40$) mentre il restante 10% è localizzato nei semi (Fig. 2).

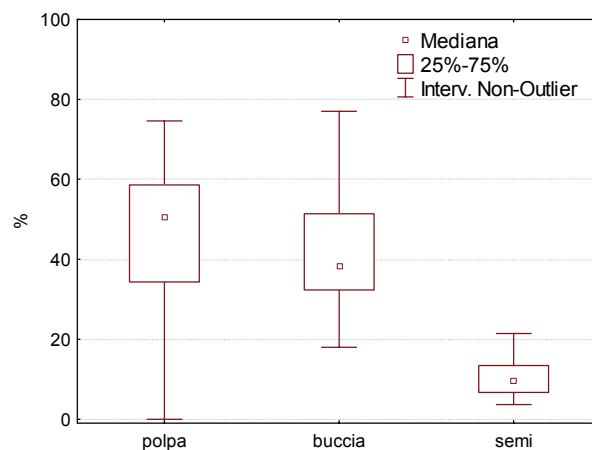


Fig. 2. Distribuzione statistica del contenuto percentuale di As nelle diverse porzioni dell'acino ($N=40$)

Considerando tutti i campioni analizzati nei 2 anni, il contenuto di As nelle bacche varia tra <0.09 e $6.23 \mu\text{g}/\text{kg}$ peso secco (p.s.) mentre il contenuto nelle foglie varia tra 16.3 e $205.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.s.. Tali valori sono decisamente o tendenzialmente inferiori a quelli riportati da Ko *et al* (2007), pari rispettivamente a $70 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.s. per le bacche e 60 - $410 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.s. per le foglie. Sono invece simili a quanto osservato da Fang *et al* (2010) in uva passa cinese, che riportano livelli sempre inferiori al loro limite di rilevamento ($7 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Il contenuto "pseudototale" di As naturalmente presente nei corrispondenti suoli varia tra 5.67 e $76.7 \text{mg}/\text{kg}$. In un caso il contenuto supera il valore di $50 \text{mg}/\text{kg}$ indicato come limite dal DM 471/99 per le aree ad uso commerciale/industriale. Si tratta di un vigneto posizionato in un'area geologicamente ricca di As per la presenza di pirite (FeS_2) e calcopirite (CuFeS_2) che contengono, come noto, significative quantità di altri elementi tra cui soprattutto As, Zn e Pb. Un ulteriore campione supera il valore di $20 \text{mg}/\text{kg}$ indicato come limite per le aree ad uso verde pubblico, privato e residenziale.

Il rapporto percentuale tra il contenuto estratto in acetato di ammonio e il contenuto "pseudototale" dissolvibile in acqua regia varia tra 0.13 e 2.55% , con valori tendenzialmente più bassi nei vigneti con suolo più acido e meno calcareo (dati non mostrati). Orescanin *et al* (2003) hanno riscontrato in suoli vitati croati una frazione di As scambiabile (estratta in acetato di ammonio) pari al 5 - 10% del contenuto totale, percentuali più che doppie rispetto a quelle da noi quantificate. Wenzel *et al* (2001) riportano invece contenuti percentuali di As inferiori al 3.8% del totale nella frazione "non-specifically sorbed" estratta con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05M .

Il test di Pearson rileva l'esistenza di una correlazione significativa ($r = 0.77$; $p < 0.05$) tra i contenuti di As nelle bacche e nelle foglie prelevate nello stesso vigneto e stagione (Fig. 3).

Una buona correlazione è stata osservata anche tra i contenuti rilevati nelle bacche e quelli del suolo estratto con acetato di ammonio 1M ($r = 0.76$; $p < 0.05$; Fig. 3), considerabili come i contenuti biodisponibili quindi più facilmente assorbibili dalla pianta. Minore e non statisticamente significativa risulta invece la correlazione ($r = 0.42$) tra i contenuti nelle bacche e quelli del suolo dissolvibili in acqua regia.

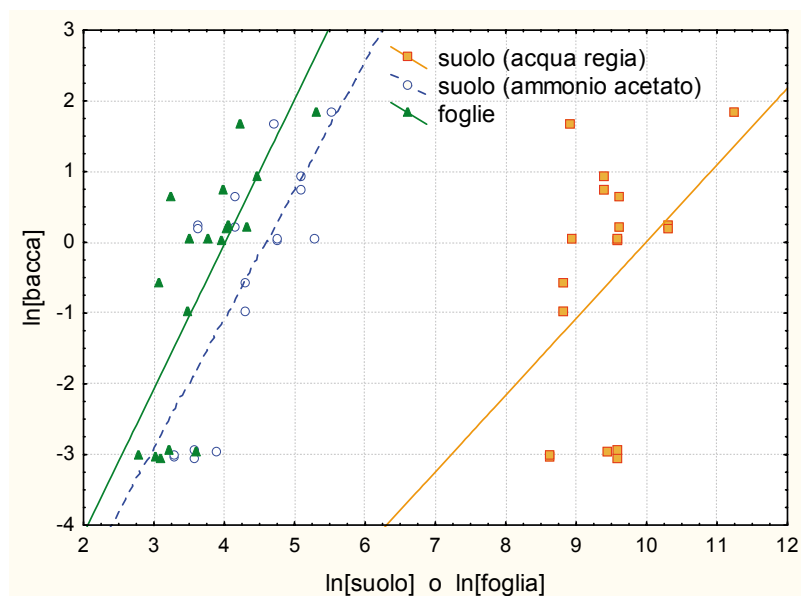


Fig. 3. Correlazione tra i contenuti (trasformati in logaritmo) di As nelle bacche, nelle foglie e nel suolo estratto con acqua regia o con acetato di ammonio 1M.

CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha messo in luce la dinamica dell'aumento dei contenuti di As nelle bacche durante lo sviluppo e la maturazione, nonché la localizzazione largamente preferenziale di tale elemento a livello di buccia e polpa. Ha messo in evidenza inoltre l'esistenza di una buona correlazione dei contenuti di As nelle bacche mature con quelli nei suoli estratti con acetato di ammonio, oltre che con quelli presenti nelle foglie.

Viti cresciute sui suoli maggiormente dotati di As (es. particolari aree geologiche) presentano uve con contenuti più elevati di questo elemento. Tuttavia, nel piano sperimentale non sono state riscontrate quantità di As nelle uve tali da destare alcuna preoccupazione per la salute umana, essendo stati rilevati contenuti massimi pari a $6.23 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.s. a fronte di una dose considerata tossica di 5-50 mg/giorno per gli adulti. I contenuti presenti in un kg di uva (peso secco) corrispondono invece al 25-50% della dose giornaliera di As richiesta per un uomo adulto mentre la quantità di As ingerita quotidianamente attraverso la dieta varia generalmente tra 0.04 e 1.4 mg (Pais, Jones, 1997).

RINGRAZIAMENTI

Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito di un dottorato di ricerca in Viticoltura, Enologia e Marketing delle Imprese Vitivinicole (Università degli Studi di Padova). Gli autori ringraziano il personale tecnico dell'Unità Viticoltura della Fondazione Mach – Istituto Agrario San Michele all'Adige per l'aiuto nella fase di campionamento.

BIBLIOGRAFIA

- Adriano D.C., 2001. Arsenic. In: Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. Adriano D.C., Ed. II edizione. New York: Springer-Verlag. n: 220-261
- Bertoldi D., Larcher R., Nicolini G., Bertamini M., Concheri G., 2009. Distribution of rare earth elements in *Vitis vinifera* L. 'Chardonnay' berries. *Vitis*, 48(1): 49-51.

- Fang Y.L., Zhang A., Wang H., Li H., Zhang Z.W., Chen S.X., Luan L.Y., 2010. Health risk assessment of trace elements in Chinese raisins produced in Xinjiang province. *Food Control*, 21: 732-739.
- Fitz W.J., Wenzel W.W., 2002. Arsenic transformation in the soil-rhizosphere-plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *Journal of Biotechnology*, 99: 259-278.
- ISO 11466, 1995. Soil quality -Extraction of trace elements soluble in aqua regia.
- Jones C.A., Langer H.W., Anderson K., McDermott T.R., Inskeep W.P., 2000. Rates of microbially mediated arsenate reduction and solubilization. *Soil Science Society of America Journal*, 64: 600-608.
- Kabata-Pendias A., 2001. Elements of group V. In: Trace elements in soils and plants. Kabata-Pendias A., Ed. III edizione. Boca Raton: CRC Press. n: 225-232
- Ko B.-G., Vogeler I., Bolan N. S., Clothier B., Green S., Kennedy J., 2007. Mobility of copper, chromium and arsenic from treated timber into grapevines. *Science of the Total Environment*, 388: 35-42.
- Orescanin V., Katunar A., Kutle A., Valkovic V., 2003. Heavy metal in soil, grape, and wine. *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, 21(1): 171-180.
- Page A.L., Miller R.H., Kenney D.R., 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2° edizione. Madison: American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.
- Pais I., Jones J.B., 1997. Trace elements. In :The Handbook of trace elements. Pais I., Jones J.B, Eds. Boca Raton: St. Lucie Press. n: 86
- Smith E., Naidu R., Alston A.M., 1999. Chemistry of arsenic in soils: I. Sorption of arsenate and arsenite by four Australian soils. *Journal of Environmental Quality*, 28: 1719-1726.
- SSIR (2004). Soil Survey Laboratory Methods Manual, Soil Survey Investigation Report n° 42, metodo 5A8.
- StatSoft Inc., 2008. STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. Tulsa, OK, 74104, USA
- Wenzel W.W., Kirchbaumer N., Prohaska T., Stingeder G., Lombi E., Adriano D.C., 2001. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure. *Analytica Chimica Acta*, 436: 309-323.