



Progetto MAPEC_LIFE: stato dell'arte e risultati preliminari

**“LIVELLI DI PARTICOLATO ATMOSFERICO E POTENZIALE
MUTAGENO/ GENOTOSSICO DEGLI ESTRATTI ORGANICI”**

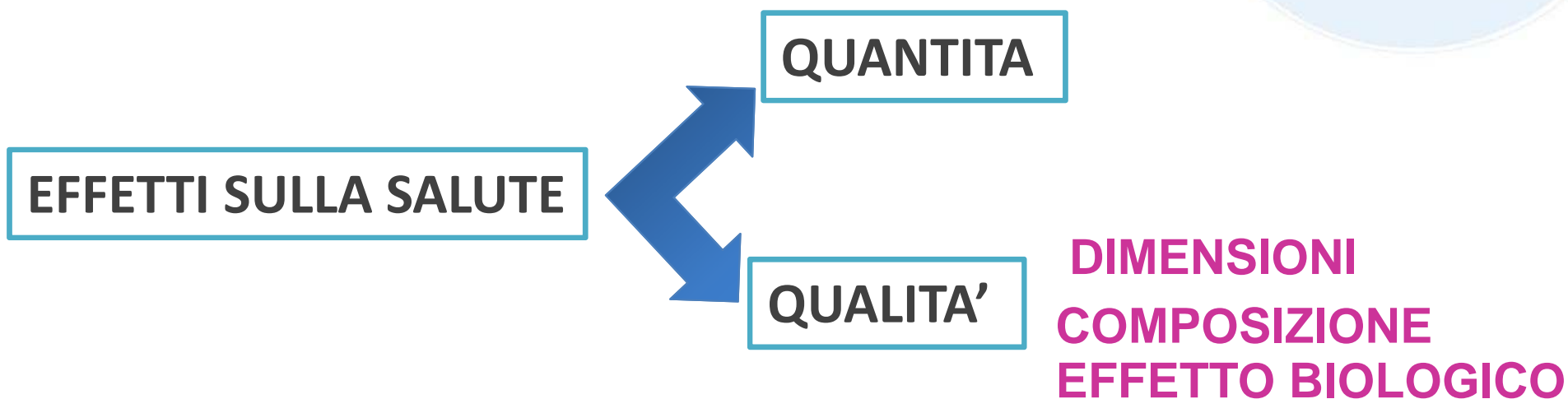
acronym “MAPEC-LIFE”



UNIVERSITA' DI TORINO

Elisabetta Carraro, Sara Bonetta, Giorgio Gilli, Tiziana Schilirò, Silvia Bonetta, Valeria Romanazzi, Cristina Pignata

PARTICOLATO ATMOSFERICO E SALUTE



➔ STRUTTURA E DIMENSIONI

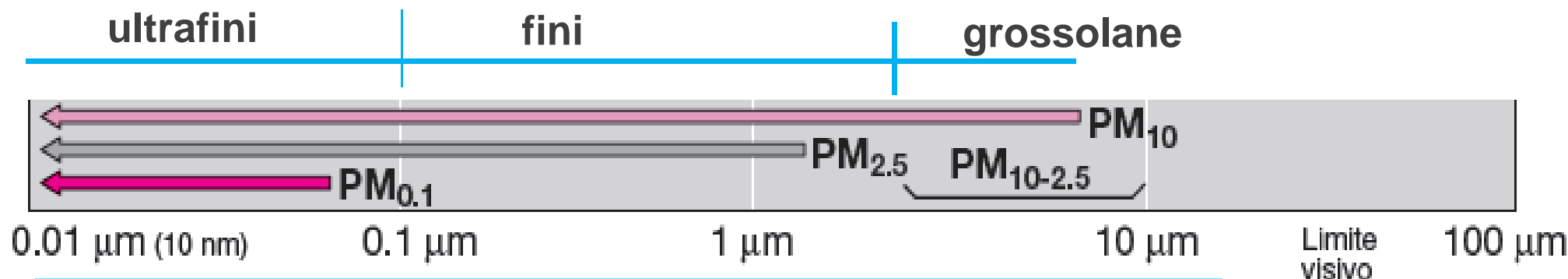


Table ES.1 Percentage of the urban population in the EU-28 exposed to air pollutant concentrations above certain EU and WHO reference concentrations (2011–2013)

Pollutant	EU reference value	Exposure estimate	WHO AQG	Exposure estimate
PM _{2.5}	Year (25)	9–14	Year (10)	87–93
PM ₁₀	Day (50)	17–30	Year (20)	61–83

Key:

< 5%	5–50%	50–75%	> 75%
------	-------	--------	-------

Notes: The estimated range in exposures refers to a recent three year period (2011–2013, except for SO₂, WHO AQG, 2011–2012) and includes variations due to meteorology, as dispersion and atmospheric conditions differ from year to year.

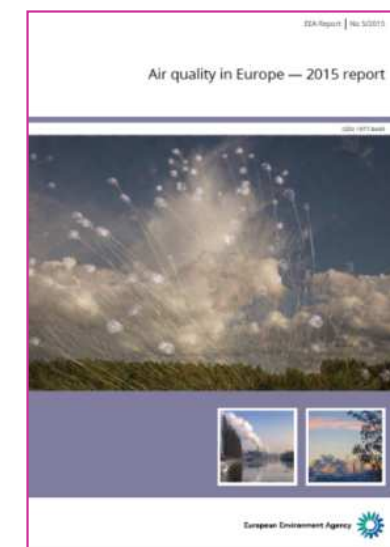
The reference concentrations include EU limit or target levels, WHO air quality guidelines (AQG) and estimated reference levels.

The reference concentrations in brackets are in μg/m³ except for BaP in ng/m³.

For some pollutants EU legislation allows a limited number of exceedances. This aspect is considered in the compilation of exposure in relation to EU air quality limit and target values. The comparison is made for the most stringent EU limit or target values set for the protection of human health. For PM₁₀ the most stringent limit value is for 24-hour mean concentration and for NO₂ it is the annual mean limit value.

As the WHO has not set AQG for BaP, the reference level in the table was estimated assuming WHO unit risk for lung cancer for PAH mixtures, and an acceptable risk of additional lifetime cancer risk of approximately 1 x 10⁻⁶ (ETC/ACM, 2011).

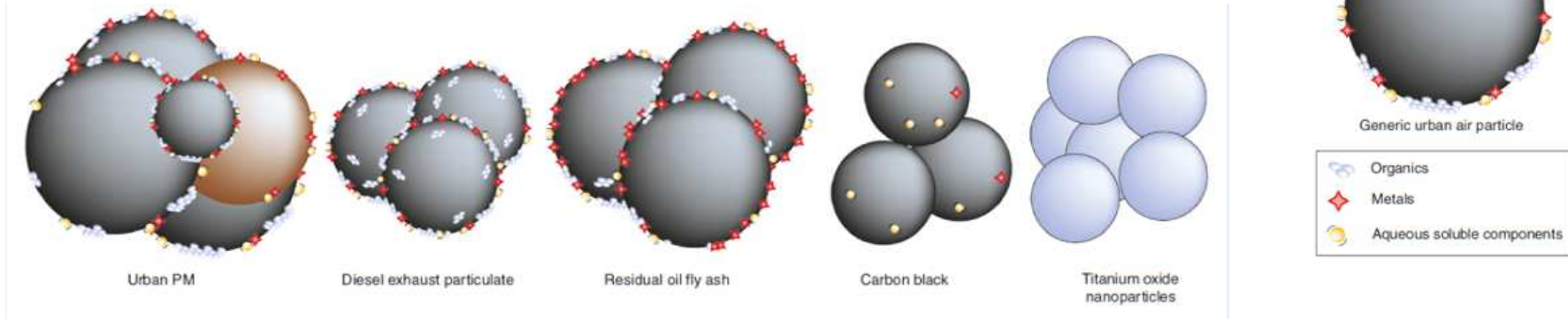
Source: Based on EEA, 2015d.



➔ COMPOSIZIONE VARIABILE

- PM primario o secondario
- sorgenti produttrici
- periodo di campionamento (cond. meteorologiche, stagione)

- ✓ composti organici
- ✓ metalli di transizione
- ✓ ioni (solfati nitrati)
- ✓ gas reattivi (O₃)
- ✓ parti carboniose,
- ✓ componenti biologiche (endotossine)
- ✓ componenti minerali (amianto, quarzo, ecc.)

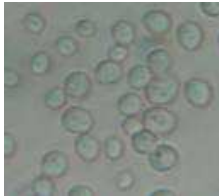
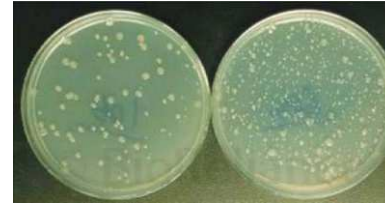


➔ EFFETTI DEL PM A LIVELLO CELLULARE

- citotossicità
- mutagenicità e genotossicità (DNA),
- stimolazione della produzione di citochine
-

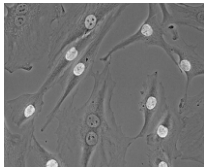
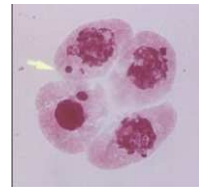
VALUTAZIONE DI MUTAGENICITÀ E GENOTOSSICITÀ DEL PM CON TEST BIOLOGICI A BREVE TERMINE

organismi procarioti



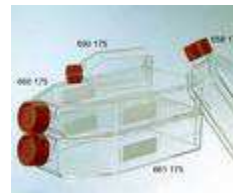
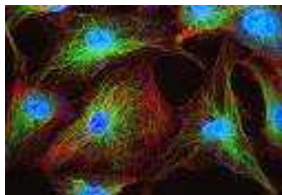
organismi eucarioti

cellule vegetali



cellule di mammifero

cellule umane



animali di laboratorio



STUDIO DEL POTENZIALE MUTAGENO E GENOTOSSICO DEL PM IN
RELAZIONE ALLE DIMENSIONI

CAMPIONAMENTO E ANALISI DEL PM



2 campionamenti (scuole)

- ✧ Autunno-inverno 2014-15
- ✧ Primavera estate 2015

Campioni di **PM** delle 5 città
Campionatori ad alto flusso (1 m³/min) 72 h

ANALISI GRAVIMETRICA

Estratto organico (BS)

PM10

10 - 7.2 μm

7.2 - 3 μm

3 - 1.5 μm

1.5 - 0.95 μm

0.95 - 0.49 μm

PM0.5

<0.49 μm



Test biologici

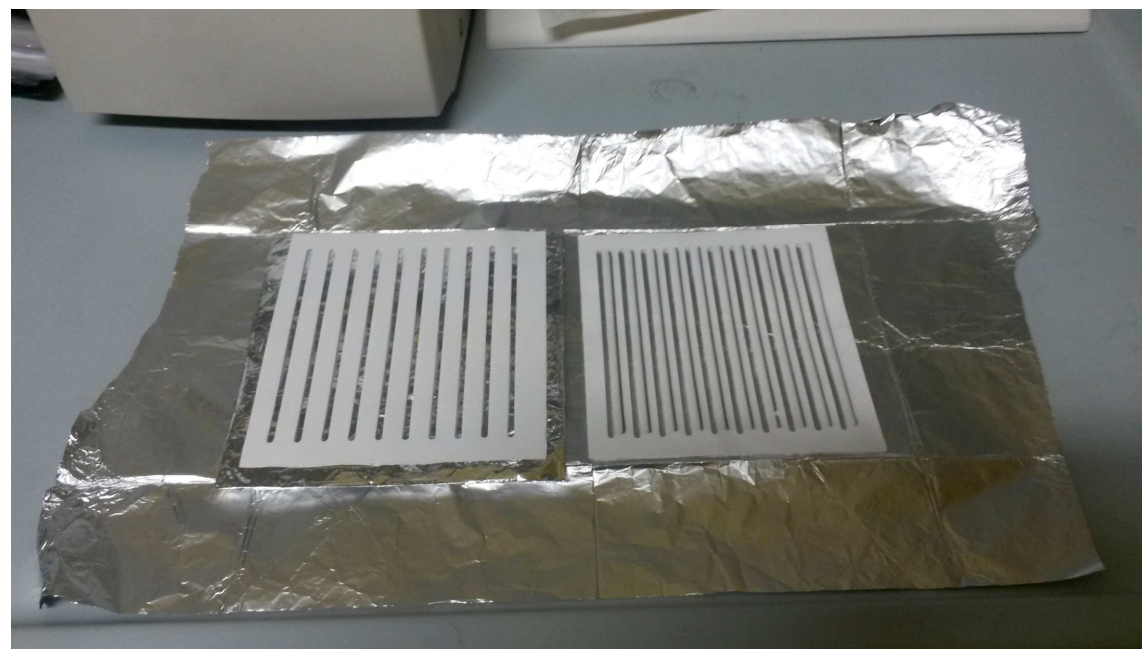
Test di Ames (BS)
Comet assay su A549 (TO)
Test dei MN su A549 (PG)
Test di tossicità (BS)

Analisi chimica

IPA e nitroIPA (BS)

Acquisizione dei dati delle centraline **ARPA**
(CO, NO₂, SO₂, benzene, O₃, PM₁₀, PM_{2.5})

RISULTATI



Test biologici: Test di Ames

TEST di reversione in *Salmonella typhimurium*



ceppi di *S. typhimurium* modificati a livello dell'operone dell'istidina incapaci di crescere in assenza di tale aa

l'operone istidina è il bersaglio modificato inattivo che recupera la sua funzione originaria a seguito di un evento mutazionale

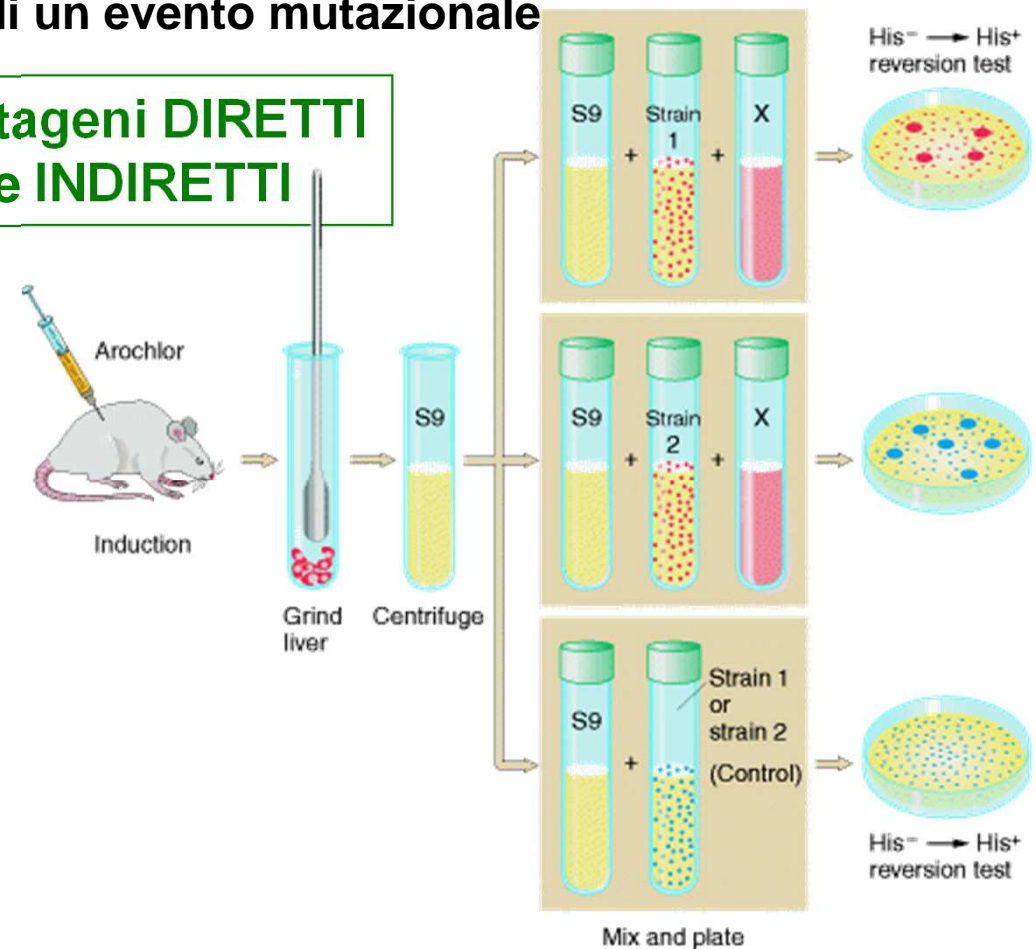
Mutageni DIRETTI e INDIRETTI

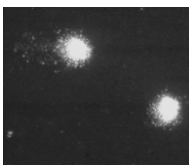
Ceppi specifici:

- TA98 (inserzioni o delezioni di basi)
- TA100 (sostituzione di basi)
- YG1021 (overproduttore di nitroreduccasi)
- TA98NR (carente per nitroreduccasi)

rev/m³ d'aria equivalente

rev/μg di PM



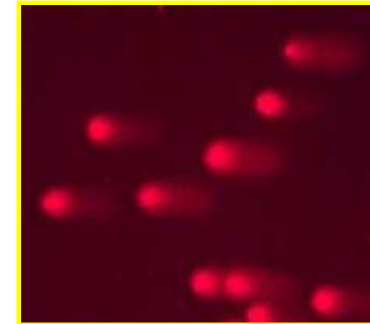


Test biologici: Comet assay

Valutazione dell'effetto genotossico (stima del **danno al DNA**) provocato dal PM

In relazione alle **condizioni sperimentali** permette di rilevare vari tipi di danno al DNA:

- **rotture** del DNA a doppio e/o singolo filamento,
- presenza di **siti alcali-labili**,
- **danno ossidativo**,
- **DNA cross-links**



Tecnica microelettroforetica: danno al DNA di ogni singola cellula viene evidenziato mediante elettroforesi su vetrino (valutazione su circa 100 cellule)

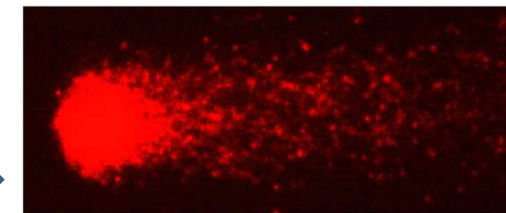
PRINCIPIO

In un campo elettrico l'incremento della migrazione del DNA (comete) è proporzionale all'incremento dell'effetto genotossico nelle singole cellule

cells + PM0.5 extracts



12-gel units



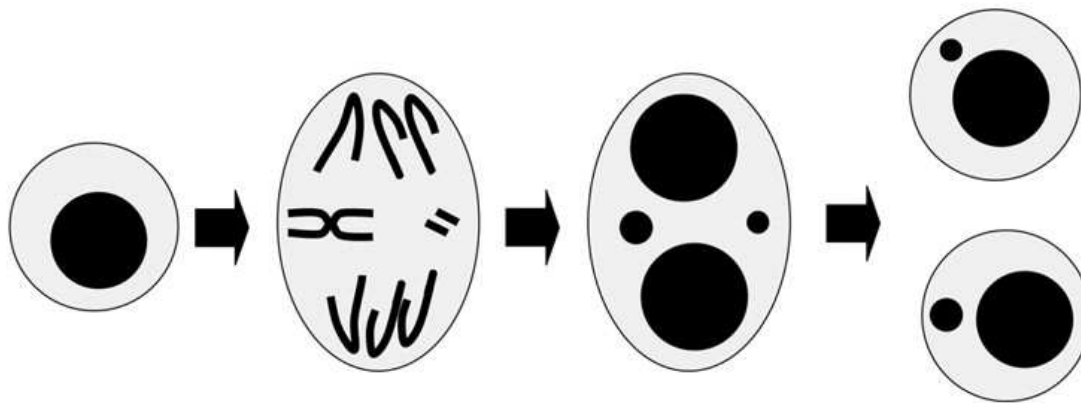
COMET ASSAY IV

Effettuato su cellule di epitelio polmonare (A549)

Test biologici: Test dei Micronuclei

I micronuclei (MN), sono piccoli nuclei addizionali che si possono trovare nel citoplasma di cellule in interfase. Si formano, durante l'anafase della mitosi, dalla condensazione di frammenti di cromosomi acentrici o da cromosomi interi che non vengono incorporati nei nuclei principali delle cellule figlie a seguito di danni genetici indotti da:

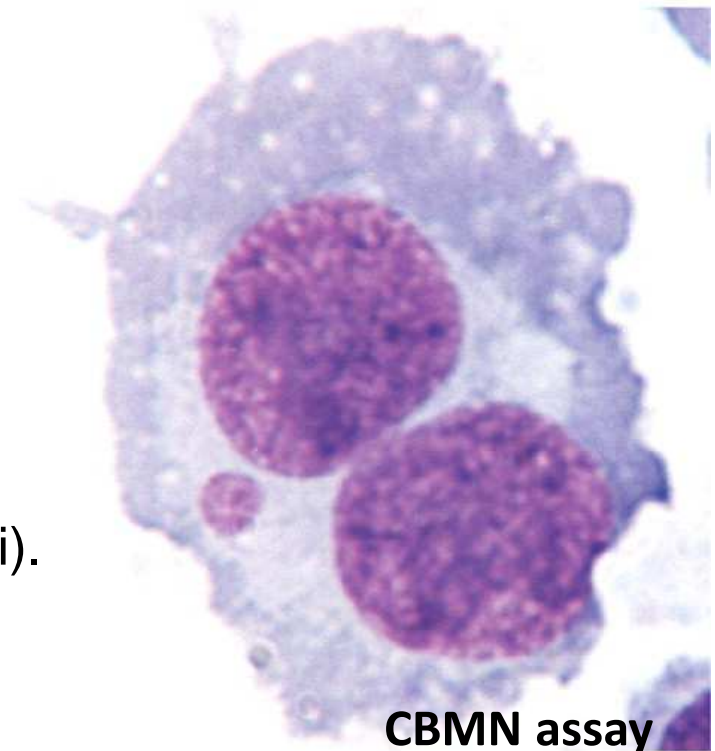
– **agenti aneuploidizzanti** che provocano disfunzioni del fuso mitotico (cromosomi interi);



– **agenti clastogeni** (frammenti cromosomici acentrici).

Effettuato su cellule di epitelio polmonare (A549)

(Fenech M., 2000, Mut.Res. 455, 81–95)



B)

Blocco della citochinesi con citocalasina B

RISULTATI PRELIMINARI

CAMPIONAMENTO INVERNALE

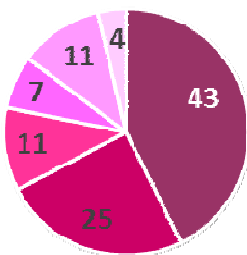
RISULTATI

LIVELLI DI PM NELLE CITTÀ PERIODO INVERNALE 2015

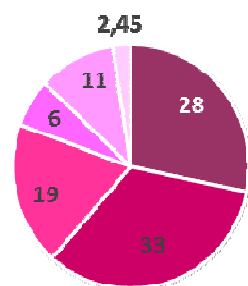


	n° siti campionati	PM 10 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] media (min - max)	PM 0.5 [$\mu\text{g}/\text{m}^3$] media (min - max)	PM 0.5 % media (min - max)
TORINO	3	62,24 (48,33 - 88,65)	22,83 (20,96 - 25,11)	38,9 (28,3 - 45,1)
PISA	4	30,22 (18,26 - 42,22)	13,73 (3,69 - 21,09)	42,8 (20,2 - 61,4)
PERUGIA	4	26,38 (16,71 - 46,90)	9,97 (6,53 - 13,65)	41,6 (25,0 - 63,0)
BRESCIA	4	39,65 (23,39 - 58,45)	12,59 (6,46 - 19,46)	32,6 (27,0 - 42,7)
LECCE	3	23,44 (16,37 - 28,56)	7,12 (9,38 - 5,61)	31,8 (19,6 - 38,9)

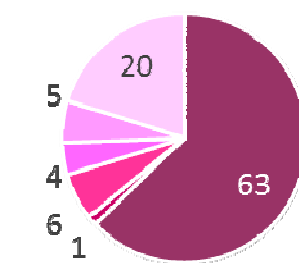
BRESCIA 3
residenziale
basso traffico



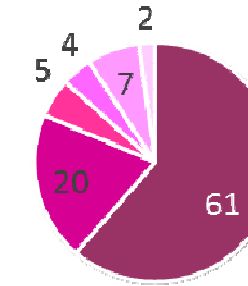
TORINO 3
industriale
alto traffico



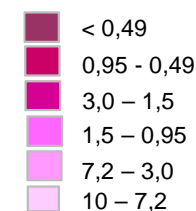
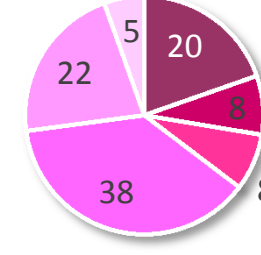
PERUGIA 1
alto traffico



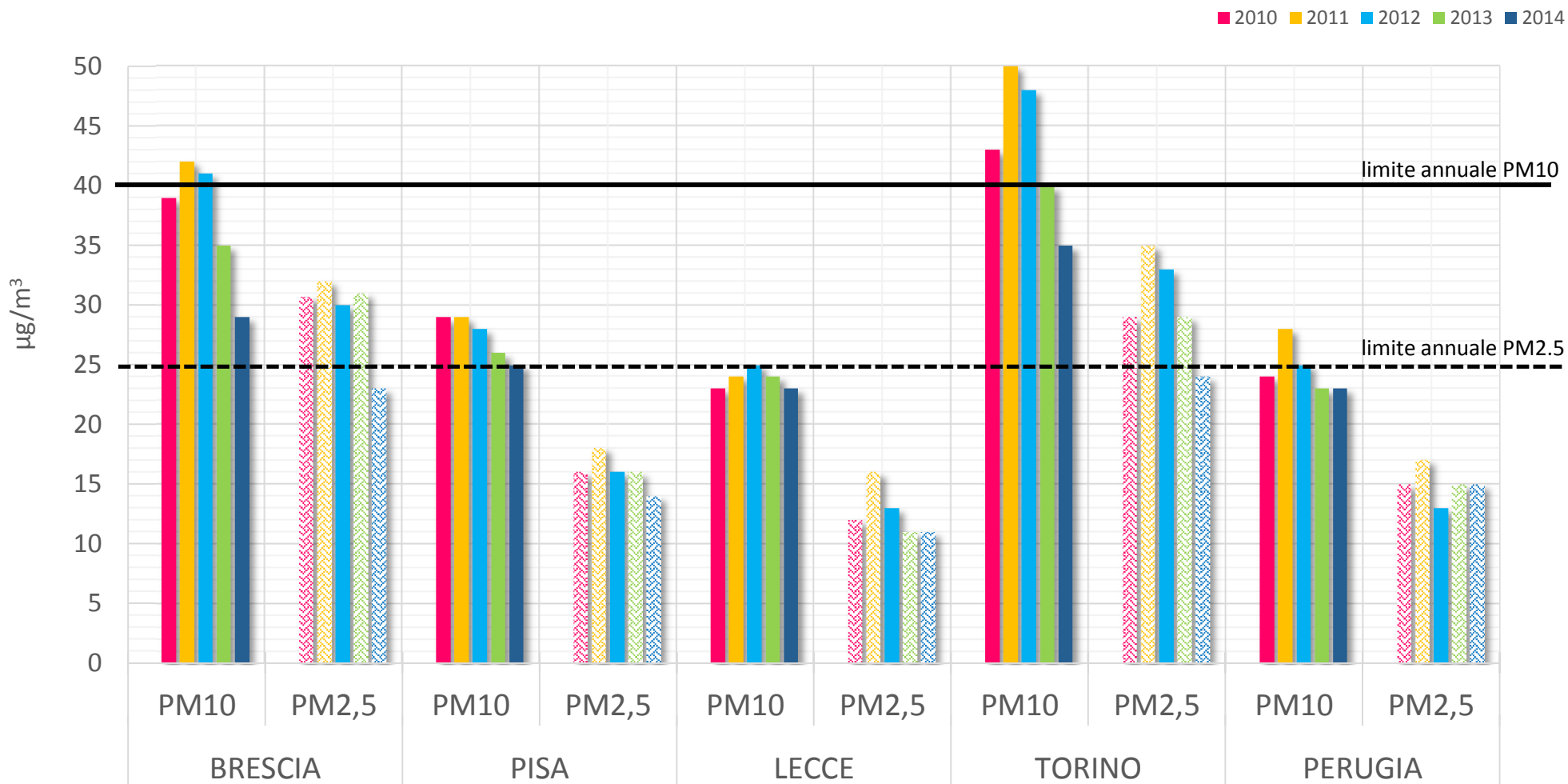
PISA 3
alto traffico



LECCE 3
alto traffico



TREND ANNUALE PM10 E PM2,5



RISULTATI Mutagenicità PM 0.5 Test di Ames

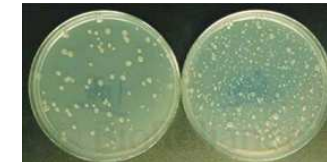


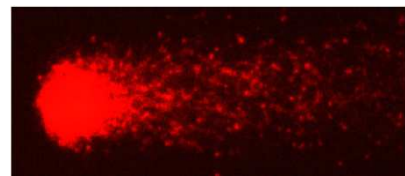
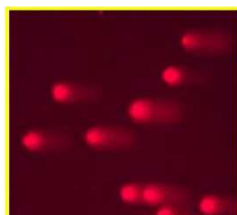
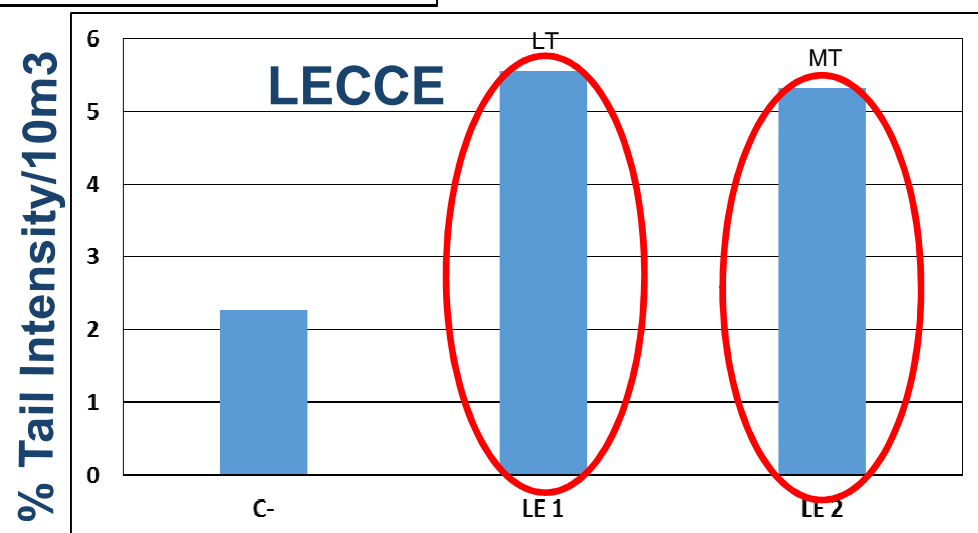
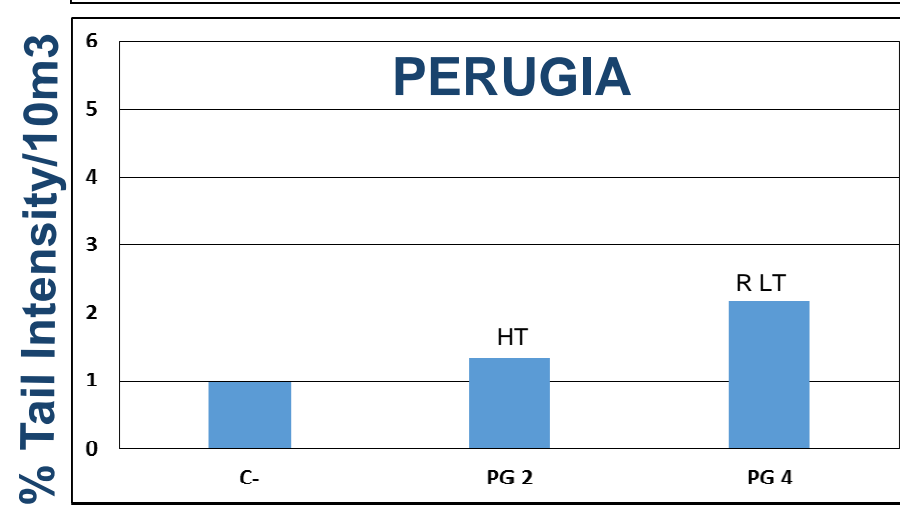
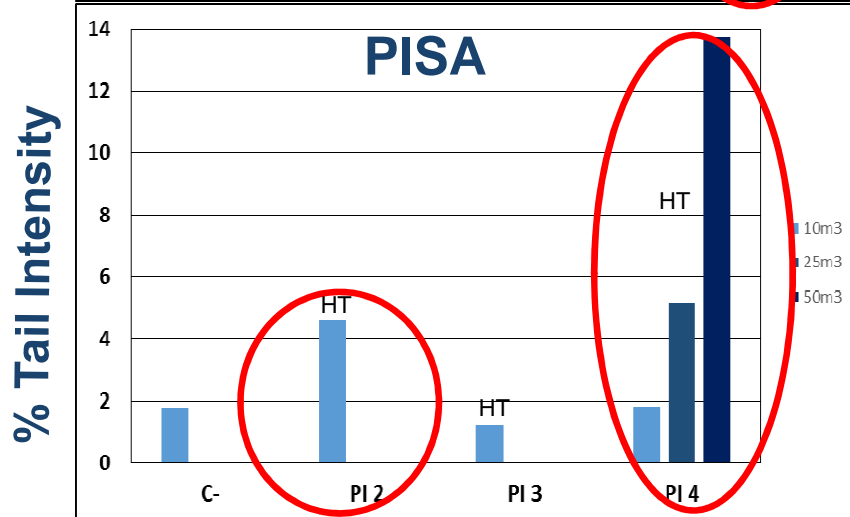
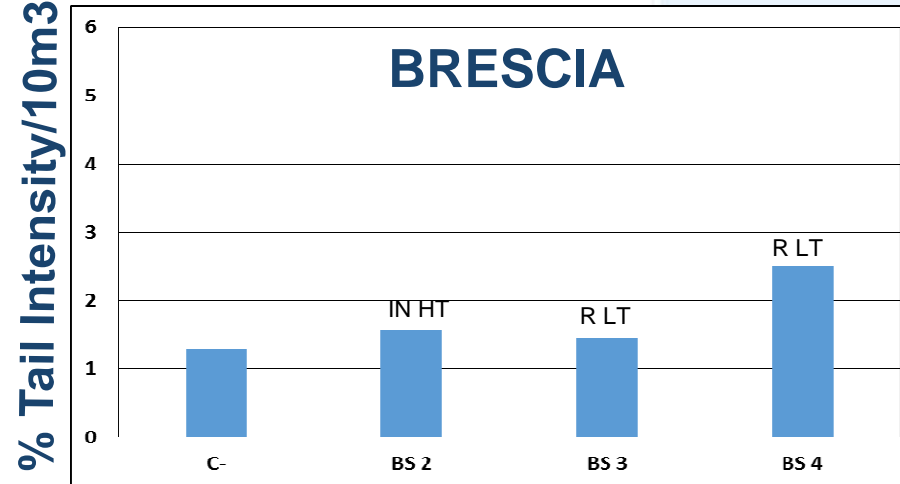
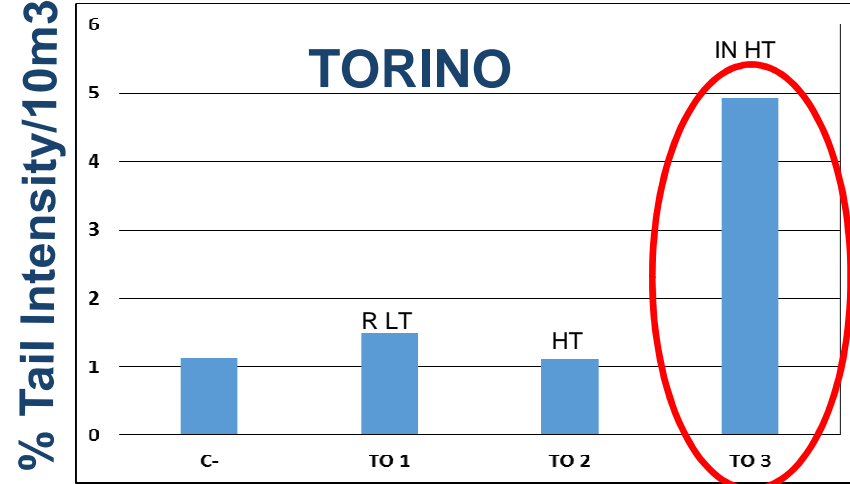
Monarca et al., Sci.Tot.Envirion., 1997

“Mutagens and carcinogens in size-classified air particulates of a Northern Italian town”

PM 0.5 (23-101 µg/m³) 7.6 net rev/m³ con TA98-S9

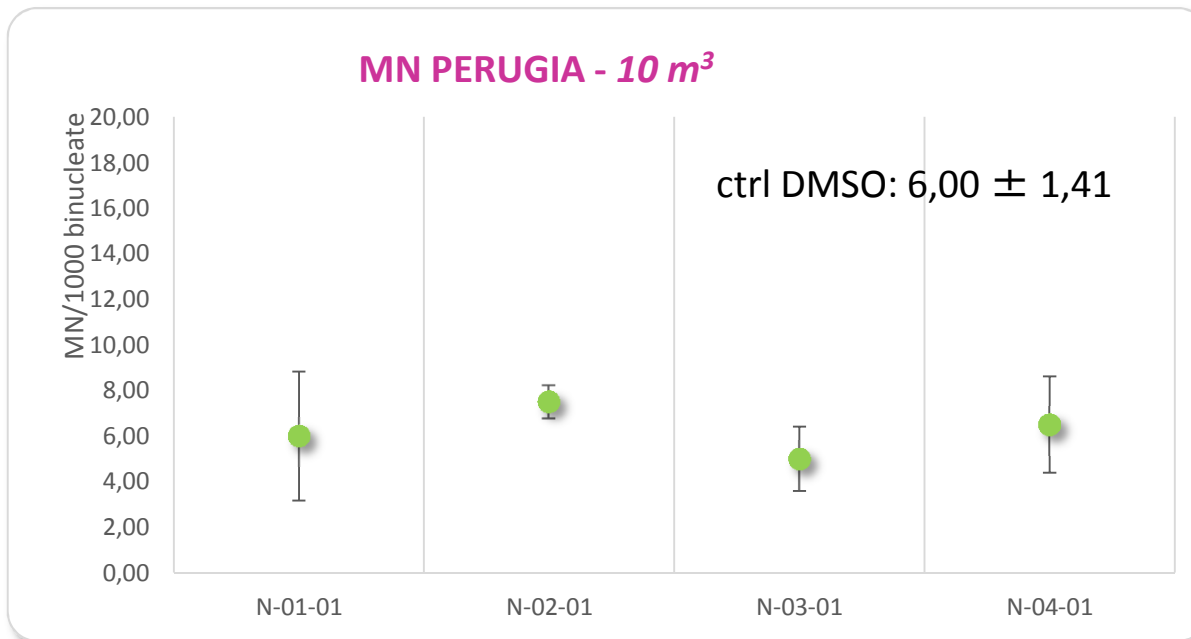
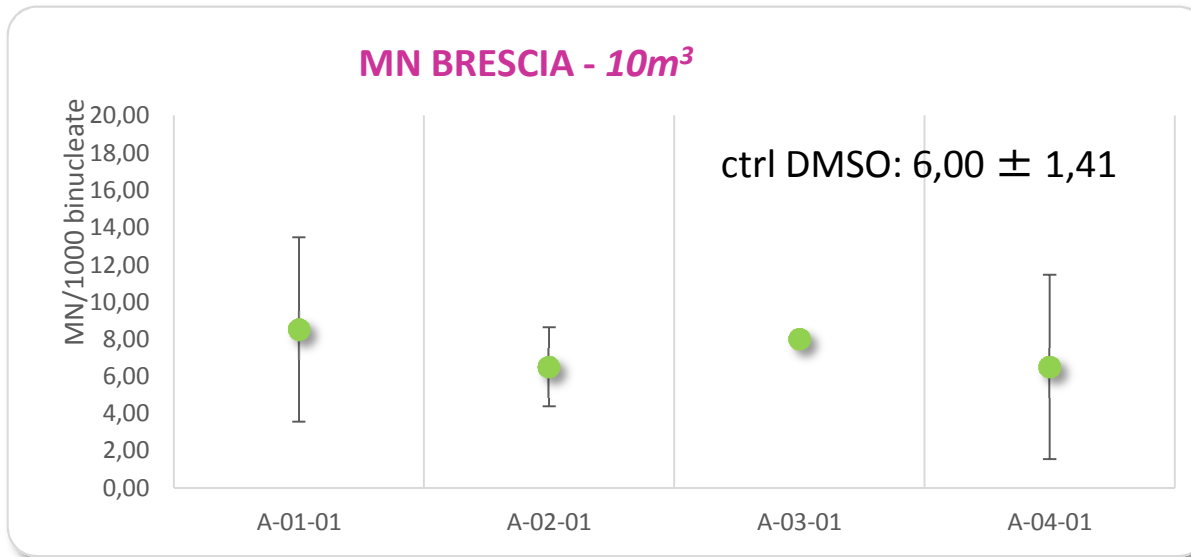
caratteristiche del sito		revertenti netti/m ³							
		- S9				+ S9			
		TA100	TA98	TA98NR	YG1021	TA100	TA98	TA98NR	YG1021
BRESCIA									
1	IN HT	-	0.5	-	7.7	-	-	-	12.9
2	IN HT	-	0.4	-	10.7	-	0.9	-	16.8
3	R LT	-	-	-	9.7	-	0.6	-	14.6
4	R LT	-	0.6	-	7.6	-	1.0	-	20.0
TORINO									
1	R LT	4.8	1.3	1.0	30.8	-	1.5	0.9	34.3
2	HT	3.0	1.5	1.2	16.5	-	1.9	0.9	35.8
3	IN HT	-	0.9	0.6	17.7	-	1.0	0.7	36.6
PISA									
1	R LT	-	-	-	1.9	-	-	-	3.0
2	HT	-	-	-	2.9	-	0.7	-	7.0
3	HT	-	-	-	7.4	-	0.9	-	14.3
4	HT	-	0.8	-	6.8	-	0.8	-	19.8
PERUGIA									
1	HT	-	0.5	-	7.2	-	0.9	-	16.4
2	HT	-	0.3	-	7.1	-	0.6	-	17.8
3	HT	-	-	-	3.0	-	-	-	7.2
4	R LT	-	0.4	-	3.4	-	-	-	10.1
LECCE									
1	LT	-	0.4	-	1.7	-	-	-	4.8
2	MT	-	0.5	0.4	4.5	-	0.6	-	8.2
3	HT	-	-	-	1.4	-	-	-	2.5





COMET TEST
rif. 10m³

RISULTATI Genotossicità PM 0.5 Test dei MN



Risultati dell'analisi chimica (IPA) PM0.5



IPA	
Naftalene	Dibenzo(a,h)acridina
Acenaftilene	Dibenzo(a,j)acridina
Acenaftene	Indeno(1,2,3-c,d)pirene
Fluorene	Benzo(g,h,i)perilene
Fenantrene	Dibenzo(a,e)pirene
Antracene	Dibenzo(a,h)pirene
Fluorantene	Dibenzo(a,i)pirene
Pirene	Dibenzo(a,l)pirene
Benzo(a)antracene	7H-benzo(c)fluorene
Crisene	5-metilcrisene
Benzo(b)fluorantene	7,12-dimetilbenzo(a)antracene
Benzo(j)fluorantene	3-metilcolantrene
Benzo(k)fluorantene	Antantrene
Benzo(a)pirene	Dibenzo(a,e)fluorantene
Benzo(e)pirene	7H-dibenzo(c,g)carbazolo
Perilene	Dibenzo(a,h)antracene

TORINO	TO 1	TO 2	TO 3
Σ IPA totali (ng/m ³)	12,13	7,78	6,07
Σ IPA cancerogeni (ng/m ³)	6,90	4,46	3,46
Benzo(a)pirene	1,3		

BRESCIA	BS 1	BS 2	BS 3	BS 4
Σ IPA totali (ng/m ³)	3,80	14,68	4,12	5,74
Σ IPA cancerogeni (ng/m ³)	2,16	7,69	2,12	3,20
Benzo(a)pirene		1,5		

PISA	PI 1	PI 2	PI 3	PI 4
Σ IPA totali (ng/m ³)	0,46	3,57	8,43	2,81
Σ IPA cancerogeni (ng/m ³)	0,23	2,05	5,24	1,62
Benzo(a)pirene			0,9	

PERUGIA	PG 1	PG 2	PG 3	PG 4
Σ IPA totali (ng/m ³)	4,73	4,93	2,15	1,70
Σ IPA cancerogeni (ng/m ³)	2,63	2,84	1,09	0,86

LECCE	LE 1	LE 2	LE 3
Σ IPA totali (ng/m ³)	1,10	2,70	0,68
Σ IPA cancerogeni (ng/m ³)	0,57	1,50	0,35

Range IPA totali 0,46-14,68 ng/m³
Range IPA cancerogeni 0,23-7,69 ng/m³

Concentrazioni paragonabili a quelle riportate in letteratura su PM0.5 in siti urbani

Risultati dell'analisi chimica (N-IPA) PM0.5



TORINO	TO 1	TO 2	TO 3
9-nitroantracene (ng/m3)	0,07	0,16	0,12
1-nitropirene (ng/m3)	0,05	0,04	0,03
Σ N-IPA (ng/m3)	0,12	0,20	0,15

BRESCIA	BS 1	BS 2	BS 3	BS 4
9-nitroantracene (ng/m3)	0,03	0,03	0,09	0,10
1-nitropirene (ng/m3)	0,01	0,01	0,01	0,02
Σ N-IPA (ng/m3)	0,04	0,04	0,10	0,12

PISA	PI 1	PI 2	PI 3	PI 4
9-nitroantracene (ng/m3)	\	0,07	0,42	0,14
1-nitropirene (ng/m3)	\	\	0,01	0,01
Σ N-IPA (ng/m3)	\	0,07	0,44	0,15

PERUGIA	PG 1	PG 2	PG 3	PG 4
9-nitroantracene (ng/m3)	0,02	0,13	0,02	0,05
1-nitropirene (ng/m3)	0,01	0,01	\	\
Σ N-IPA (ng/m3)	0,03	0,14	0,02	0,05

LECCE	LE 1	LE 2	LE 3
9-nitroantracene (ng/m3)	0,01	0,05	\
1-nitropirene (ng/m3)	\	\	\
Σ N-IPA (ng/m3)	0,01	0,05	\

Non ci sono dati sul PM0.5

N-IPA rilevati e le concentrazioni sono in linea con altri studi su altre frazioni di PM urbano (PM 2.5)

RISULTATI PRELIMINARI DELLE ANALISI BIOLOGICHE E CHIMICHE EFFETTUATE SULLA FRAZIONE PM0.5 INVERNALE

- **FRAZIONE % ATTRIBUIBILE AL PM0.5 MOLTO VARIABILE** in relazione alla città e al sito di campionamento
- **LIVELLO CONTENUTO DI DI M/G DEL PM0.5:**
 - **Mutagenicità con Test di Ames**
 - **Assenza o debole M/G con Comet test e test dei MN**
- **Concentrazioni di IPA e nitro IPA CONFRONTABILI** con i valori di altri siti urbani

CONCLUSIONI

- ✓ Trend storico della concentrazione di PM 10 e di PM 2.5 in diminuzione
- ✓ Non sono disponibili trend storici della concentrazione del PM0.5 e degli effetti M/G
- ✓ Diversa distribuzione percentuale delle frazioni del PM



Per avere un quadro più chiaro sulla **QUALITÀ** del PM in relazione alla composizione e all'effetto sarebbe necessario studiare le altre frazioni di PM ed in particolare la **frazione tra 0.5 - 1 μm**

J. Topinka et al. / Environmental Pollution 202 (2015) 135–145

Day-to-day variability of toxic events induced by organic compounds bound to size segregated atmospheric aerosol

Table 1

Mean levels of PM, c-PAHs, DNA adducts and oxidative DNA damage for various aerosol size fractions for the overall sampling period of 26 consecutive days (January 26-February 20, 2012).

d_{ae} [μm]	PM mass conc. [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	c-PAHs ^a		DNA adducts [adducts/ 10^8 nucleotides]				Oxidative DNA damage			
		ng/ m^3	ng/mg PM	Adducts/ m^3		Adducts/mg PM		8-oxodG/ m^3		8-oxodG/mg PM	
				+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
1–10	27.3	26.3	885	22.5	4.8	905	175	1.19	1.14	60.8	58.7
0.5–1	36.3	45.5	1278	28.7	7.9	993	233	1.16	1.38	61.2	80.8
0.17–0.5	15.6	20.6	1322	17.3	3.7	1218	260	1.22	1.16	182	177
<0.17	12.8	11.9	957	9.7	2.5	798	230	1.13	1.35	161	206

^a Carcinogenic PAHs include benz[a]anthracene, chrysene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene, dibenz[a,h]anthracene, and indeno[1,2,3-cd]pyrene.

Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche

GRUPPO DI LAVORO

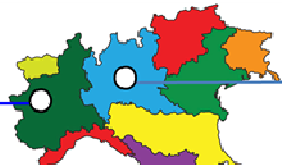
- Elisabetta Carraro (Local Project Leader)
- Giorgio Gilli,
- Sara Bonetta,
- Tiziana Schilirò,
- Silvia Bonetta,
- Valeria Romanazzi,
- Cristina Pignata



GRAZIE
PER L'ATTENZIONE

Mapec-life.eu

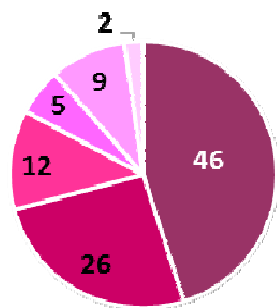




TORINO

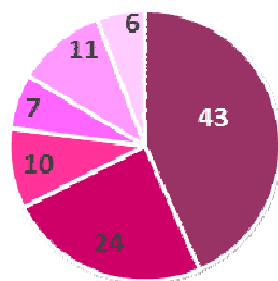
TO 1

Residenziale
Basso traffico
(R LT)



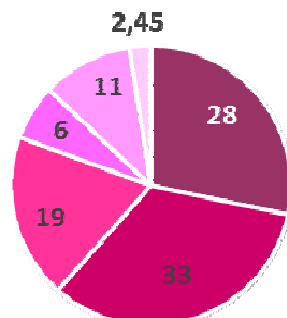
TO 2

Alto traffico
(HT)

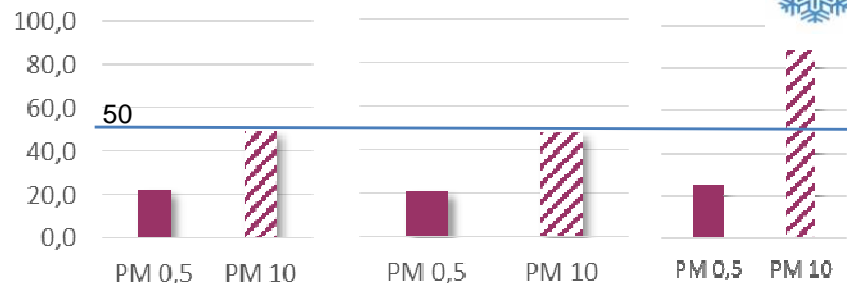


TO 3

Industriale
Alto traffico
(IN HT)



[µg/m3]



PM10 dicembre
54,9 µg/m3

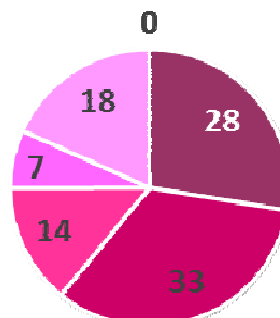
PM10 gennaio
56,0 µg/m3

PM10 febbraio
56,3 µg/m3

BRESCIA

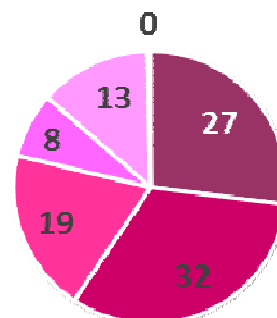
BS 1

Industriale
Alto traffico
(IN HT)



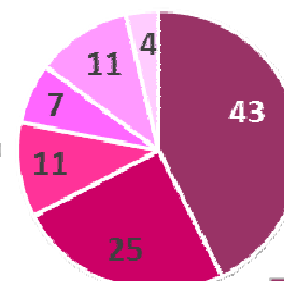
BS 2

Industriale
Alto traffico
(IN HT)



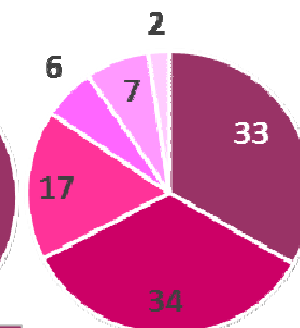
BS 3

Residenziale
Basso traffico
(R LT)

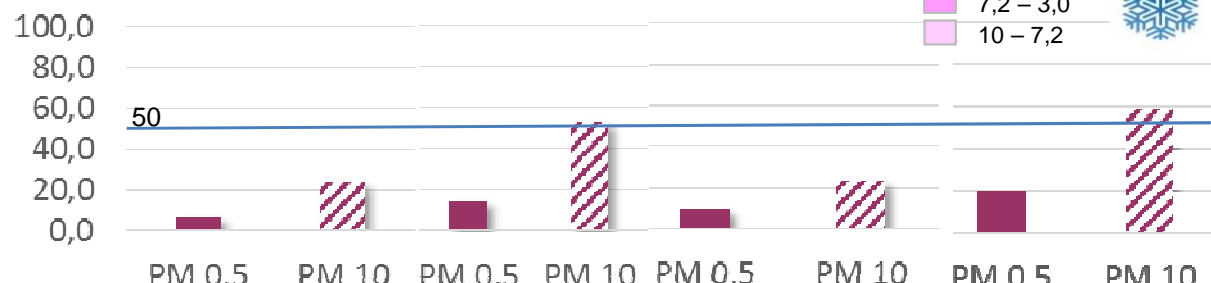


BS 4

Residenziale
Basso traffico
(R LT)



[µg/m3]

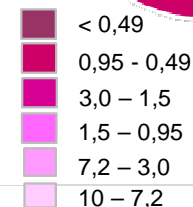


PM10 novembre
34,8 µg/m3

PM10 novembre
34,8 µg/m3

PM10 gennaio
51,6 µg/m3

PM10 febbraio
50,1 µg/m3



PISA

PERUGIA



PISA

PERUGIA

PI 1

PI 2

PI 3

PI 4

PG 1

PG 2

PG 3

PG 4

Residenziale
Basso traffico
(R LT)

Alto traffico
(HT)

Alto traffico
(HT)

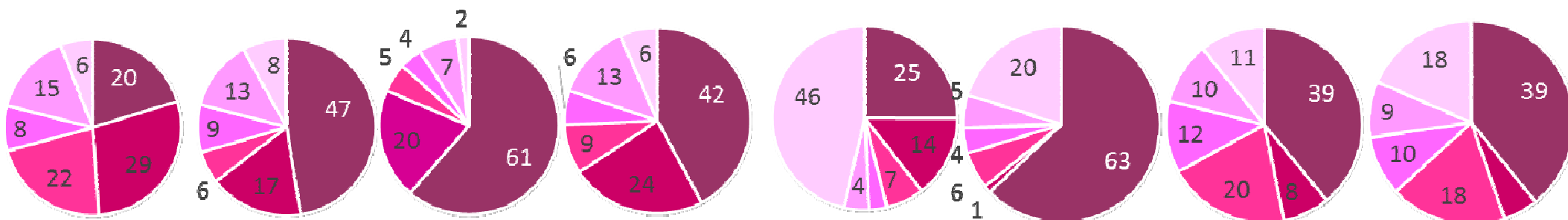
Alto traffico
(HT)

Alto traffico
(HT)

Alto traffico
(HT)

Alto traffico
(HT)

Residenziale
Basso traffico
(R LT)



[µg/m3]

100

50

0

PM 0,5 PM 10 PM 0,5 PM 10 PM 0,5 PM 10 PM 0,5 PM 10

[µg/m3]

100

50

0

PM 0,5 PM 10 PM 0,5 PM 10 PM 0,5 PM 10

PM10 marzo
28,4 µg/m3

PM10 gennaio
39,7 µg/m3

PM10 gennaio
39,7 µg/m3

PM10 marzo
28,4 µg/m3

PM10 dicembre
40,8 µg/m3

PM10 gennaio
39,5 µg/m3

PM10 febbraio
25,6 µg/m3

PM10 febbraio
25,6 µg/m3





LECCE

LECCE

LE 1

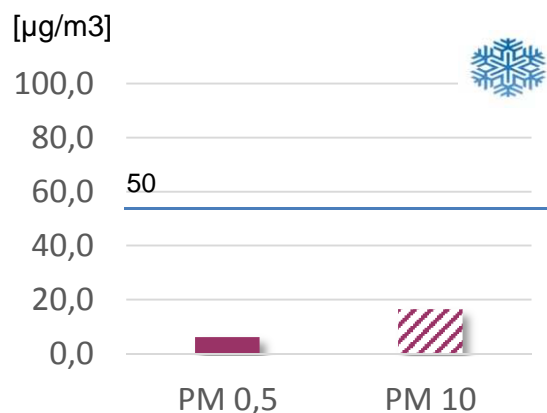
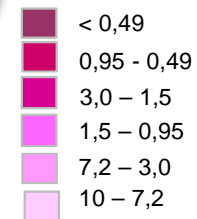
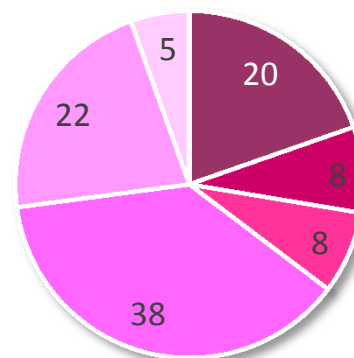
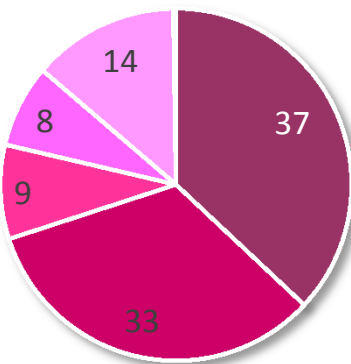
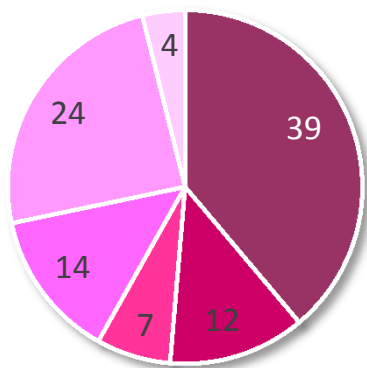
LE 2

LE 3

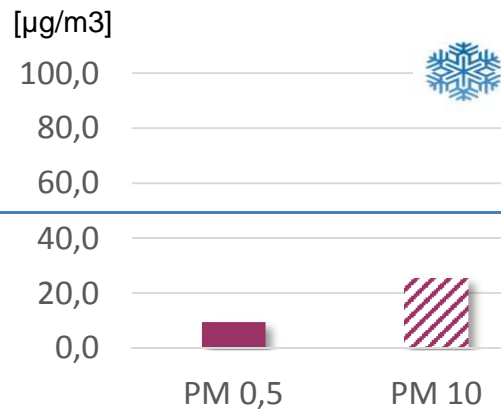
**Basso traffico
(LT)**

**Traffico moderato
(MT)**

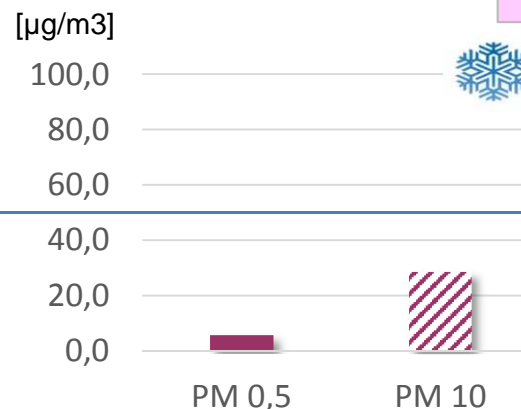
**Alto traffico
(HT)**



**PM10 marzo
24 µg/m³**



**PM10 marzo
24 µg/m³**



**PM10 marzo
24 µg/m³**

Risultati dell'analisi chimica

TORINO	TO 1	TO 2	TO 3
Σ IPA totali (ng/micrg)	0,54	0,37	0,24
Σ IPA cancerogeni (ng/micrg)	0,31	0,21	0,14

Σ N-IPA (ng/100microgr)	0,53	0,94	0,60
-------------------------	------	------	------

BRESCIA	BS 1	BS 2	BS 3	BS 4
Σ IPA totali (ng/micrg)	0,59	1,02	0,41	0,29
Σ IPA cancerogeni (ng/micrg)	0,33	0,53	0,21	0,16

Σ N-IPA (ng/100microgr)	0,63	0,28	0,98	0,59
-------------------------	------	------	------	------

PISA	PI 1	PI 2	PI 3	PI 4
Σ IPA totali (ng/micrg)	0,12	0,29	0,40	0,16
Σ IPA cancerogeni (ng/micrg)	0,06	0,17	0,25	0,09

Σ N-IPA (ng/100microgr)	\	0,53	2,07	0,84
-------------------------	---	------	------	------

PERUGIA	PG 1	PG 2	PG 3	PG 4
Σ IPA totali (ng/micrg)	0,40	0,37	0,33	0,21
Σ IPA cancerogeni (ng/micrg)	0,22	0,21	0,17	0,11

Σ N-IPA (ng/100microgr)	0,27	1,01	0,25	0,62
-------------------------	------	------	------	------

LECCE	LE 1	LE 2	LE 3
Σ IPA totali (ng/micrg)	0,17	0,29	0,12
Σ IPA cancerogeni (ng/micrg)	0,09	0,16	0,06

Σ N-IPA (ng/100microgr)	0,12	0,49	\
-------------------------	------	------	---

BS sommatoria IPA 3.87
BaP 0.22 Monarca 1991