

DIPARTIMENTO DI SCIENZA DEL SUOLO E NUTRIZIONE DELLA PIANTA (DSSNP)

PROGETTO

Identificazione e dosaggio di molecole organiche nell'ambito dei progetti di ricerca del DSSNP

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. Luca Calamai

COLLABORATORI: P. Nannipieri, O.Pantani e G. Pietramellara.

Il Dipartimento di Scienza del Suolo e Nutrizione della pianta (DSSNP) è avvalso delle apparecchiature e dell'expertise messo a disposizione dal CISM per numerose ricerche nel campo della Scienza del suolo e della Chimica Agraria afferenti al settore scientifico-disciplinare AGR 13.

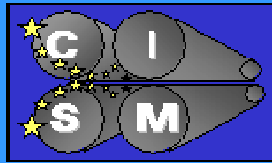
In particolare

- Estrazione e purificazione biomolecole dal suolo (responsabili: Dr. M.T.Ceccherini e Dr J. Asher). In questa ricerca è stato estratto e datato il DNA extracellulare del suolo la cui età è stata così stimata in diverse centinaia di migliaia di anni. Il CISM ha controllato, nel DNA da datare, la assenza di impurezze dei reagenti usati per l'estrazione, i quali, contenendo carbonio fossile (dead carbon) avrebbero portato a conclusioni del tutto inattendibili
- Composizione degli olii essenziali distillati da essenze forestali Responsabile Prof. V.Vidrich). Questa ricerca mira a stabilire le molecole componenti (e la loro concentrazione) di olii essenziali estratti da varie essenze forestali in funzione di vari parametri. Queste determinazioni si avvalgono delle tecniche di GC-MS usate presso il CISM
- Destino pesticidi nel suolo e nell'ambiente (responsabile Prof. Bosetto, Dr Pantani e Dr Lozzi). Il destino dei pesticidi usati in agricoltura, una volta immessi nell'ambiente prevede immobilizzazione nel suolo, degradazione ad opera di microrganismi o meccanismi di idrolisi catalizzata da superfici, fotolisi, aging. Lo studio di questi fenomeni prevede la possibilità di rivelare le molecole di partenza in tracce e a tali concentrazioni identificare e determinare i loro metabolici. Ciò è reso possibile dalle tecniche di spettrometria di massa disponibili presso il CISM

- Stress biotici e abiotici delle piante (Responsabile Prof. Calamai). Questa ricerca condotta in collaborazione con il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie (DIBA) e con l'Istituto Tecnico Agrario di S. Michele all'Adige (IASMA) ha lo scopo di determinare i metaboliti che vengono prodotti dalle piante (rispettivamente vite e cipresso) e/ o si accumulano per effetto degli stress biotici e/ o abiotici (mal dell'esca nel caso della vite e freddo nel caso del cipresso in Trentino Alto Adige). Alcuni di questi metaboliti (amminoacidi liberi, acido abscissico) sono determinati mediante tecniche di LC-MS e GC-MS presso la facility di spettrometria di massa del CISM

- Processi tecnologici relativi industrie agrarie (Responsabile Prof. Calamai). Questa ricerca condotta in collaborazione con il Dipartimento di Biotecnologie Agrarie (DIBA) e con il Dipartimento di Ingegneria Agraria e Forestale (DIAF) ha lo scopo di individuare l'incremento qualitativo a livello di sostanze componenti l'odore e il gusto offerti da miglioramenti tecnologici ai processi di produzione di vino e olio di oliva. La determinazione e quantificazione delle molecole responsabili delle sensazioni olfattive e gustative, oltre che per analisi sensoriale, sono effettuate presso il CISM mediante tecniche di GC-MS e LC-MS.

Il contributo del CISM è risultato pertanto indispensabile per il successo di queste ricerche



Rivelazione e dosaggio di molecole organiche nell'ambito dei progetti di ricerca in atto presso il D.S.S.N.P.

Dipartimento di Scienza del Suolo e Nutrizione della Pianta

Luca Calamai

D.S.S.N.P.



AGR13

**Chimica agraria
Biochimica agraria
Uso e riciclo biomasse**

AGR14

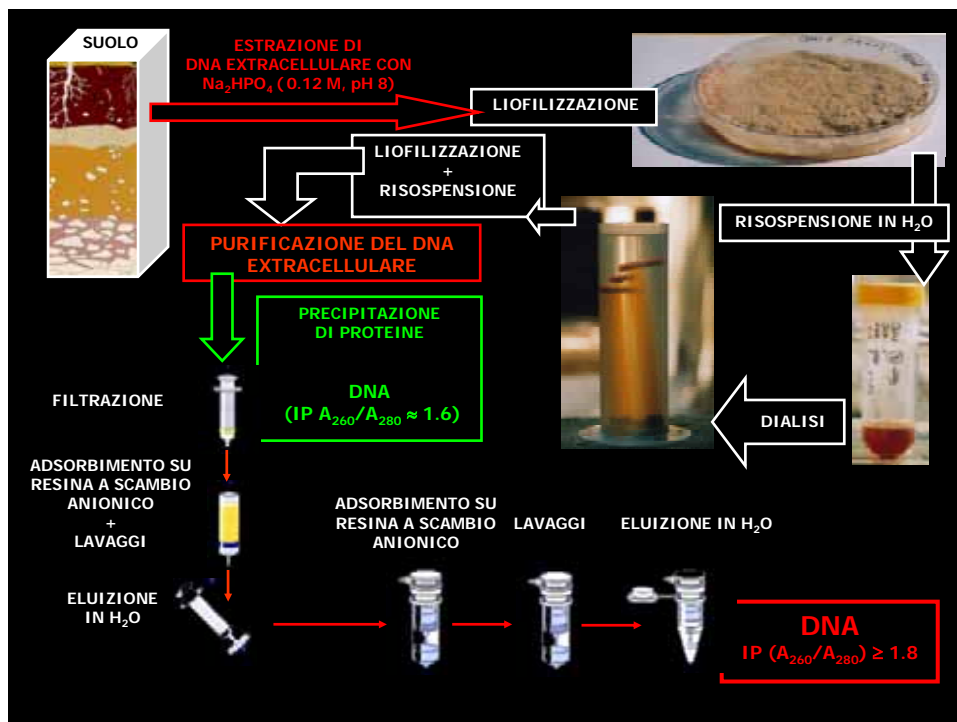
**Pedologia
Cartografia suolo**

Filoni di ricerca che si attualmente avvalgono del C.I.S.M.

- Estrazione e purificazione biomolecole dal suolo
- Composizione degli olii essenziali distillati da essenze forestali
- Destino pesticidi nel suolo e nell'ambiente
- Stress biotici e abiotici delle piante
- Processi tecnologici relativi prodotti agrari

DNA EXTRACELLULARE ESTRATTO DAL SUOLO: PURIFICAZIONE E DATAZIONE MEDIANTE ANALISI ISOTOPICHE

Dr. M.T. Ceccherini e Dr. J. Ascher



Soil horizons	$\Delta^{14}\text{C}$	^{14}C age	MRT
	‰	years BP	years
Soil organic matter			
A1	171.6 (2.8)	Modern	13
A2	30.7 (2.3)	Modern	207
Bw1	-135.8 (1.7)	1120 (20)	1360
Bw2	-282.5 (1.7)	2615 (20)	3230
Extracellular dirty-DNA			
A1	150.7 (3.5)	Modern	10.5
A2	4.2 (3.3)	Modern	299.5
Bw1	-161.0 (2.2)	1360 (25)	1633
Bw2	-257.6 (2.1)	2340 (25)	2854
Extracellular clean-DNA			
A1	-983.2 (0.6)	32790 (270)	470000
A2	-985.4 (0.8)	32862 (180)	545000
Bw1	-987.4 (2.6)	35090 (1650)	630000
Bw2	-991.0 (0.5)	37760 (490)	900000

$\Delta^{14}\text{C}$, ^{14}C -based age and mean residence time (MRT) of soil organic matter, extracellular dirty-DNA and extracellular clean-DNA extracted from the horizons of the soil of Vallombrosa forest (Florence, Italy). Standard errors in parentheses.

Agnelli et al. (2005) Soil Biology and Biochemistry, *submitted*.

□ **DIETHYLAMINOETHANOL** (DEAE, Anion exchange resin, Qiagen)

- Alcalinizzazione a pH 11
- Estrazione liquido-liquido (diclorometano)
- Derivatizzazione e Analisi mediante GC-MS

□ **GUANIDINA ISOTHIOCYANATE** (chaotropic salt, Anion exchange resin, BIO101)

- Derivaizzazione con acetilacetone
- Analisi mediante GC-MS

□ **CH₃COONa** (SEWS, Salt Ethanol Wash Solution, BIO101)

- Acidificazione a pH 2
- SPME con Derivatizzazione diretta in fibra
- Analisi mediante fast-GC-MS

Stress biotici e abiotici nelle piante

**Meccanismi Resistenza
al freddo Cipresso**

I.A.S.M.A - Dr.Nicola
La Porta

**Meccanismi sviluppo mal
dell'esca vite**

D.I.B.A - Prof. G. Surico e L.
Mugnai

Determinazione di metaboliti da stress

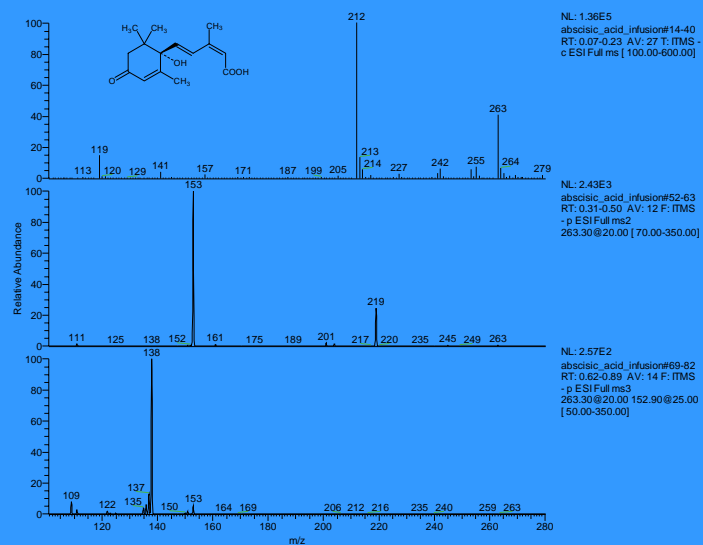
Aminoacidi liberi

Zuccheri liberi

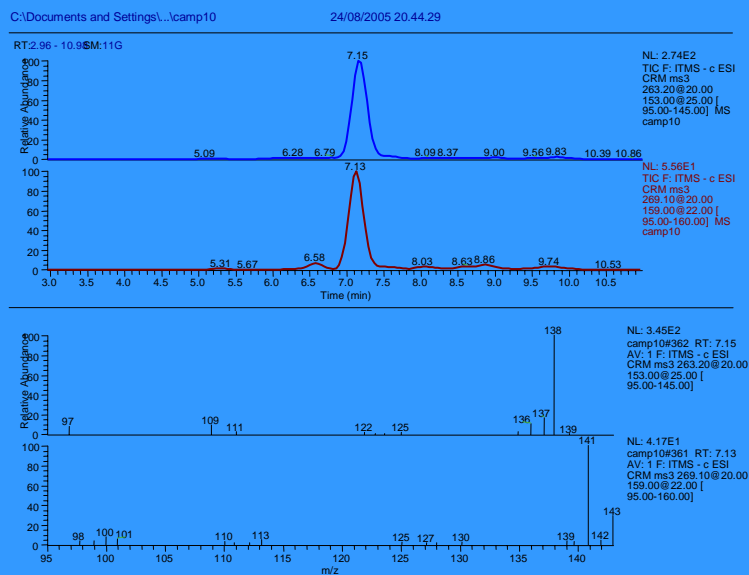
Amido

Ormoni della senescenza (acido abscisico)

Determinazione acido abscisico a livelli di ppb



LC-MS³ estratto vegetale



Composizione degli oli essenziali distillati da essenze forestali

Prof. V. Vidrich e Dr. M. Franci (CNR, ISE)

- Distillazione olii essenziali in corrente di vapore
- Identificazione e dosaggio derivati terpenici



- Analisi GC-MS olii essenziali
- Analisi GC-MS spazio testa diretta sui vegetali

Destino pesticidi nel suolo e nell'ambiente

Dr. O.L. Pantani e Dr. Irene Lozzi

- **Meccanismi di adsorbimento molecole pesticidi nel suolo e sue componenti**
- **Cinetiche di degradazione in acqua e in presenza di componenti del suolo (catalizzatori)**
- **Identificazione e dosaggio di metaboliti di origine abiotica**



-Estrazione e dosaggio LC-MS

Determinazione della componente volatile degli alimenti

su vino e olio in seguito a tecnologie innovative

D.I.A.F.

**Prof. P. Spugnoli
Prof. A. Parenti**

su vino in seguito a uso microorganismi selezionati

D.I.A.F.

**Dr. L. Lencioni
Dr. P. Domizio**



**-Analisi diretta GC-MS spazio di testa
-Analisi SPME-GC-MS spazio di testa**