



Università  
Ca' Foscari  
Venezia

Corso di Laurea Magistrale in Chimica e  
tecnologie sostenibili

LM-54 (Scienze Chimiche)

Tesi di Laurea Magistrale

**Determinazione di pesticidi polari  
anionici nell'aerosol atmosferico del  
Nord-Est Italia**

**Relatore**

Prof. Andrea Gambaro

**Correlatori**

Matteo Feltracco, Elena Barbaro

**Laureanda**

Francesca Maule - 860829

**Anno Accademico**

2020 / 2021



# Indice

Scopo della tesi .....	5
1.1 Cenni generali .....	7
1.2 L'aerosol nella Pianura Padana e nelle alpi.....	12
Capitolo 2 .....	17
Pesticidi .....	17
2.1 Cenni generali .....	17
2.4 Spray drift e volatilizzazione .....	23
2.5 Corpi idrici rurali.....	24
2.6 Suolo .....	27
2.7 Tossicità.....	27
2.7.1 Tossicità ambientale .....	30
2.8 Legislazione.....	32
Capitolo 3 .....	35
I pesticidi polari anionici.....	35
3.1 Glifosato ed AMPA.....	35
3.2 Glufosinato e suoi prodotti di degradazione .....	42
3.3 Etefone .....	42
3.4 Clorato e perclorato .....	43
3.5 Fosetil-Alluminum .....	43
3.6 Acido cianurico .....	43
3.7 Idrazide maleica.....	44
Capitolo 4 .....	47
Lo strumento.....	47
4.1 Cromatografia ionica.....	47
4.2 Spettrometria di massa a triplo quadrupolo.....	49
4.2.1 Sorgente.....	50
4.2.2 Filtro di massa e detector.....	52
Capitolo 5 .....	55
Aspetti teorici del metodo analitico .....	55

5.1 Metodo strumentale .....	55
5.2 Metodo cromatografico.....	56
5.3 Preanalitica.....	56
5.4 Validazione del metodo .....	57
Capitolo 6 .....	61
Campionamento.....	61
6.1 Siti di campionamento e campionatore.....	61
Capitolo 7 .....	65
Messa a punto del metodo .....	65
7.1 Standard e materiali .....	65
7.2 Sviluppo del metodo MRM.....	66
7.3 Sviluppo del metodo cromatografico .....	68
7.4 Flow Injection.....	71
7.5 Linearità e limiti di rilevabilità e quantificazione .....	72
7.8 Trattamento del campione .....	74
7.9 Validazione procedurale .....	75
Capitolo 8 .....	77
Risultati e Discussione .....	77
8.1 Risultati .....	77
8.2 Andamenti .....	80
8.3 Brezza di valle e boundary Layer al Col Margherita .....	87
Conclusioni.....	89
Appendice A .....	105
Ringraziamenti.....	111

## Scopo della tesi

Lo scopo del presente lavoro di tesi consiste nella messa a punto di una metodologia analitica per la determinazione di pesticidi polari anionici e di alcuni dei loro prodotti di degradazione in campioni di aerosol atmosferico. È stato sviluppato un metodo strumentale ad alta sensibilità mediante cromatografia ionica accoppiata ad un analizzatore di massa a triplo quadrupolo e successivamente è stata sviluppata una procedura preanalitica per il trattamento dei campioni di aerosol. La procedura preanalitica è stata validata mediante la stima dei valori di bianco procedurale, limiti di rilevabilità strumentali e procedurali, ripetibilità e accuratezza per ogni analita. Il campionamento di aerosol è stato condotto in un sito rurale nei pressi di Roncade (TV) e presso l'Osservatorio del Col Margherita (Falcade, BL) da luglio a dicembre 2021. Ad oggi, solo alcuni dei pesticidi anionici polari in esame sono stati studiati nell'aerosol atmosferico, ma non esistono dati per quanto riguarda la loro presenza nell'aerosol atmosferico della Pianura Padana e in siti d'alta quota alpini. Il presente lavoro di tesi pone le basi per successive valutazioni dei rischi per l'ambiente e per l'uomo, considerando che non vi sono ancora chiare disposizioni sulle quantità limite di assunzione per inalazione da parte delle autorità competenti.



# Capitolo 1

## L'aerosol atmosferico

### 1.1 Cenni generali

L'aerosol atmosferico, noto anche come particolato atmosferico (PM, *particulate matter*), viene definito come l'insieme di particelle<sup>1</sup> organiche ed inorganiche, solide o liquide presenti in sospensione in un mezzo gassoso (Prospero et al., 1983, McMurry, 2002). Il materiale particellare consiste in una miscela estremamente variegata e complessa di sostanze aventi dimensioni, forma, origine, densità e composizione chimica molto variabili. In particolare, tra queste proprietà, la dimensione risulta essere di fondamentale importanza per la determinazione del loro comportamento, per descriverne le diverse tipologie di sorgenti e determinare la loro permanenza in atmosfera.

I processi fisici e chimici che si verificano continuamente in atmosfera portano ad un cambiamento della composizione chimica e della distribuzione delle dimensioni delle particelle. I vari processi che l'aerosol atmosferico subisce, quali condensazione ed evaporazione di specie gassose, reazioni di foto-ossidazione, ecc., portano ad un'ampia gamma di prodotti secondari (Prospero et al., 1983). Questi diversi meccanismi di formazione, inoltre, comportano una variazione sia nella dimensione che nella forma, che risulta spesso irregolare. Sulla base di queste irregolarità, un parametro fondamentale utilizzato per la caratterizzazione della distribuzione granulometrica delle particelle è il

---

<sup>1</sup> Sovente le diciture materiale particellato, particolato e particellato vengono usate come sinonimi di "aerosol". Questa terminologia non è propriamente corretta poiché ne esclude la componente liquida.

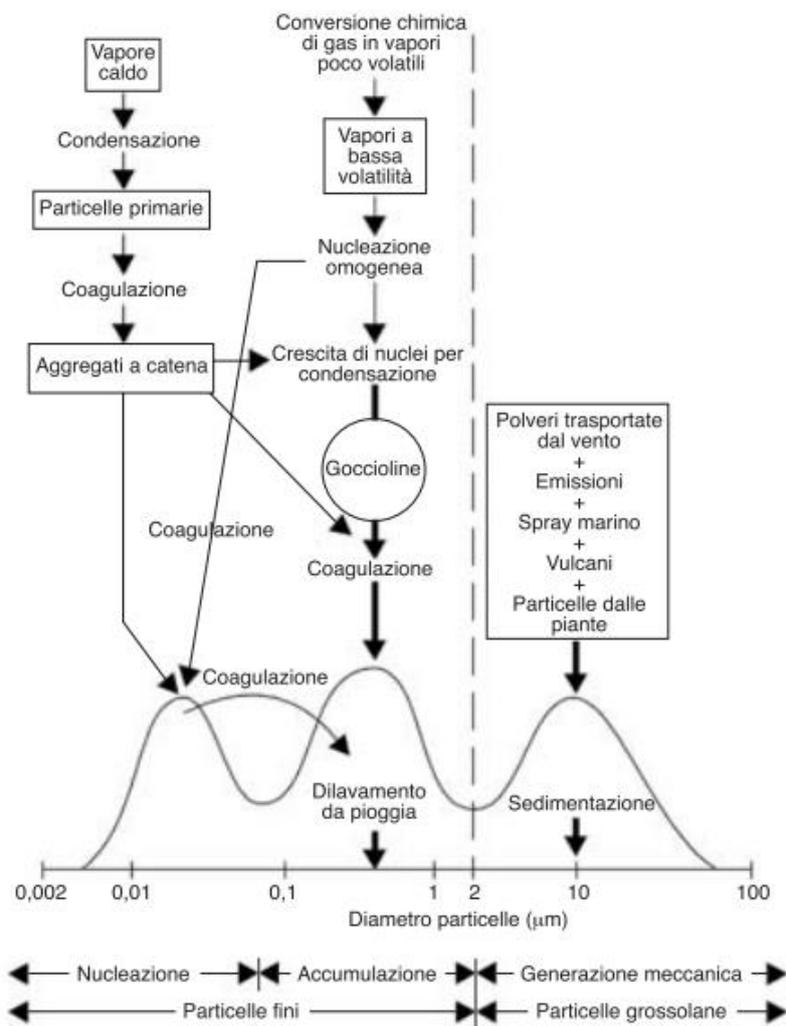
diametro aerodinamico  $D_a$ , definito come il diametro di una particella di forma e densità qualunque che assume la velocità terminale (di sedimentazione) uguale a quella di una sferetta di dimensioni e densità unitarie ( $1 \text{ g cm}^{-3}$ ) con medesime proprietà aerodinamiche (Heyder & Porstendorfer, 1974, Whitey, 2007).

Generalmente le particelle hanno un diametro che varia da alcuni nanometri (nm) a decine o centinaia di micrometri ( $\mu\text{m}$ ) e possono essere raggruppate in un'ulteriore classificazione:

- particelle grossolane, comprese tra  $2.5\text{-}100 \mu\text{m}$  e destinate ad un processo rapido di sedimentazione ( $D > 1 \mu\text{m}$ );
- particelle fini o note come "moda di accumulazione", comprese tra  $0.1$  e  $2.5 \mu\text{m}$  ( $0.1 \mu\text{m} < D < 1 \mu\text{m}$ );
- particelle ultrafini o note come "moda di nucleazione", comprese in un intervallo di diametro tra  $0.01$  e  $0.1 \mu\text{m}$  ( $D < 0.1 \mu\text{m}$ ).

Nelle particelle fini ed ultrafini si trovano prevalentemente solfati, ioni ammonio, carbonio organico ed elementare ed alcuni metalli di transizione; mentre il particolato grossolano è costituito da particelle primarie inorganiche, quali magnesio, calcio, silicio, alluminio, ferro (che costituiscono il materiale crostale), prodotte da processi meccanici (frantumazione, macinatura, trascinamento di particelle di terreno), da aerosol marini o desertici e da sostanze organiche biogeniche, quali particelle come pollini, spore e frammenti di piante. L'unica eccezione va fatta per i nitrati che si trovano spesso distribuiti in maniera omogenea nelle varie frazioni. In Figura 1.1 vengono schematicamente riassunte le caratteristiche dell'aerosol atmosferico in funzione della distribuzione dimensionale.

Il particolato comunemente viene indicato come  $\text{PM}_x$ , dove  $x$  è il diametro aerodinamico massimo delle particelle. Tra le diciture più utilizzate vi sono  $\text{PM}_{10}$  e  $\text{PM}_{2.5}$  che indicano rispettivamente il materiale particolato con diametro inferiore o uguale a  $10$  e  $2.5 \mu\text{m}$ .

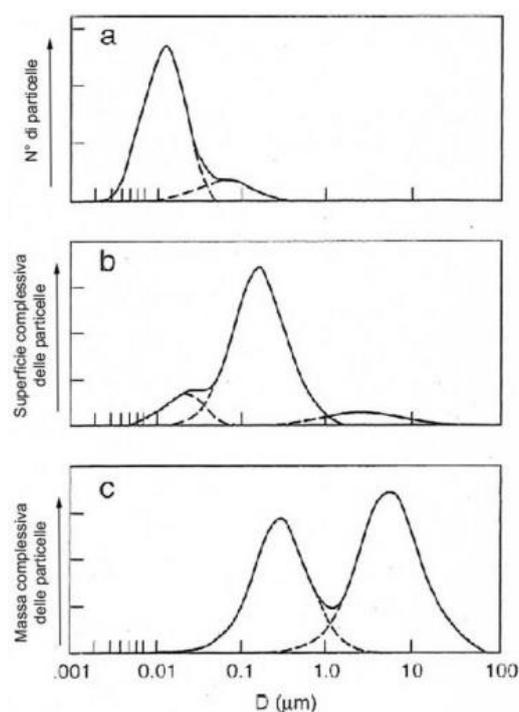


**Figura 1.1** Distribuzione di massa delle particelle aerodisperse relativamente alle dimensioni, origine ed i principali processi che influenzano la loro concentrazione (Marconi, 2003).

Il  $PM_{10}$  è formato principalmente da sostanze cristalline, quali ossidi di silicio, alluminio, ferro e titanio, da sali marini e da agenti biologici, come i pollini e le spore, oltre che a contenere tutti i composti presenti nel  $PM_{2.5}$  (Marcazzan et al., 2001). Il  $PM_{2.5}$  comprende generalmente sostanze derivanti da processi di combustione (carbone, legna, gasolio, benzina, olio), idrocarburi (IPA e loro derivati), metalli (piombo, ferro, zinco, cadmio, nichel, rame, manganese, vanadio), materiale carbonioso (carbone organico e carbone elementare) ed infine particelle secondarie che nascono dalle reazioni chimiche che coinvolgono le sostanze gassose presenti nell'atmosfera (ARPAE, 2019).

È possibile effettuare un'ulteriore suddivisione dell'aerosol atmosferico prendendo

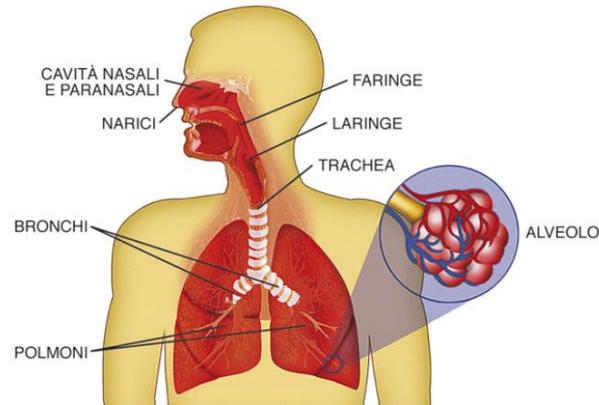
in considerazione i parametri mostrati in Figura 1.2. Se si considera la massa complessiva del particolato, prevalgono le frazioni con particelle di maggiori dimensioni, mentre le particelle più piccole risultano avere massa trascurabile. Se si tiene in considerazione invece la superficie totale delle particelle, la frazione predominante è quella costituita da particelle di dimensioni intermedie. Tuttavia, l'esito risulta diverso se si valuta il quantitativo in termini di numero di particelle. In questo caso infatti, la frazione formata dalle particelle più piccole è decisamente quella prevalente ed al contrario quelle più grosse si rivelano trascurabili (ARPA V.d'Aosta, 2020, Jean P. Putaud et al., 2004).



**Figura 1.2** Numero, superficie e massa complessiva delle particelle per classe dimensionale.

A seconda della dimensione delle particelle, esse possono insinuarsi nell'apparato respiratorio umano. Le particelle possono essere suddivise in:

- inalabili, con  $D_a$  maggiore di  $10 \mu\text{m}$  e riescono ad entrare nelle vie aeree superiori (bocca, narici, faringe e laringe);
- toraciche, se il  $D_a$  è compreso tra  $2.5 \mu\text{m}$  e  $10 \mu\text{m}$  e sono in grado di arrivare alle vie aeree inferiori (trachea e bronchi);
- respirabili, con  $D_a$  minore di  $2.5 \mu\text{m}$  e possono penetrare fino agli alveoli polmonari.



**Figura 1.3** Parti principali dell'apparato respiratorio (tratto da <https://geobiolab.jimdo.com/2-media/lapparato-respiratorio>).

Un'altra importante classificazione, anch'essa direttamente collegata alle dimensioni delle particelle, va a distinguere due tipi di particelle: primarie e secondarie. L'aerosol primario viene emesso direttamente dalla sorgente in atmosfera da processi che possono essere sia naturali che antropici. Le sorgenti di tipo naturale che generano il particolato di tipo primario principalmente sono dovute a processi di erosione, frantumazione di particelle di maggiori dimensioni ed immissione di spray marino. Le sorgenti antropiche possono essere identificate, ad esempio, da attività industriali o l'uso dei pesticidi. L'aerosol secondario viene formato da processi di condensazione di gas presenti in atmosfera (il processo avviene quando i gas sono in condizioni di sovrasaturazione) o a causa di reazioni chimiche tra particelle primarie. Come già detto, la genesi di aerosol secondario avviene grazie alla presenza di gas precursori, quali  $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ , agenti ossidanti come  $\text{O}_3$ ,  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{NH}_3$ , composti organici volatili (VOCs) e idrocarburi (Turpin & Huntzicker, 1991). Alcuni prodotti metaboliti dei pesticidi, ad esempio, sono componenti dell'aerosol secondario, perché frutto di processi di degradazione da parte di comunità microbiche (Bollag et al., 1992).

## 1.2 L'aerosol nella Pianura Padana e nelle alpi

La Pianura Padana risulta essere una delle aree con i più gravi problemi di inquinamento atmosferico in Europa, a causa delle elevate emissioni dovute alla presenza di centri altamente urbanizzati ed industriali (Mazzola et al., 2010).

La maggior parte delle emissioni di aerosol atmosferico sono determinate dalla combustione di legna, carbone ed altre materie prime. Tale combustione ha comportato un aumento significativo dei problemi di salute legati all'inquinamento urbano (Arvani et al., 2016). A titolo di esempio, nelle figure 1.4 e 1.5 vengono illustrate, per la Pianura Padana, le immissioni delle particelle primarie e dei precursori del PM. Questi precursori includono ossidi di azoto, anidride solforosa, ammoniaca ed altri gas (ad esempio composti organici volatili, VOCs).

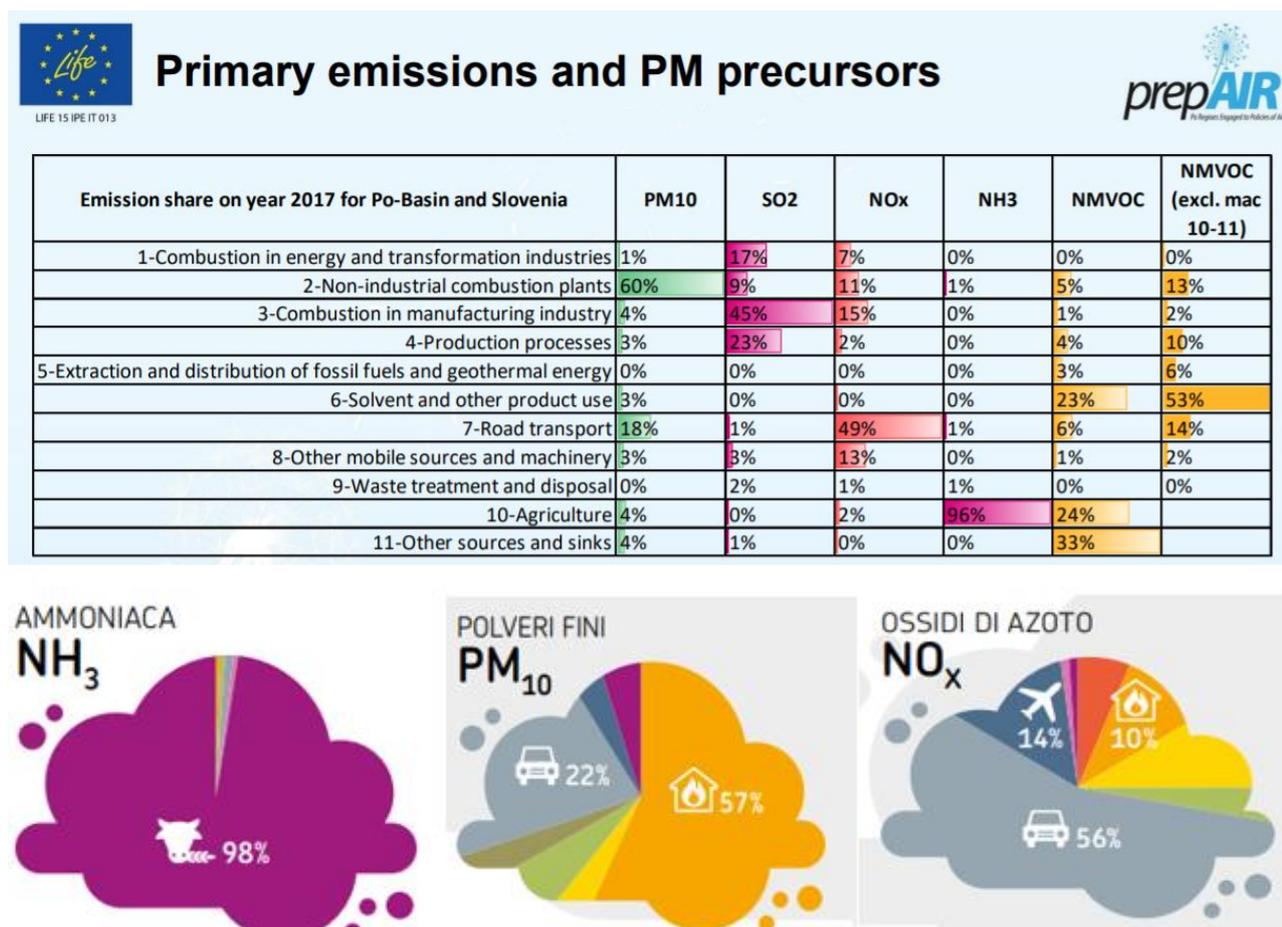
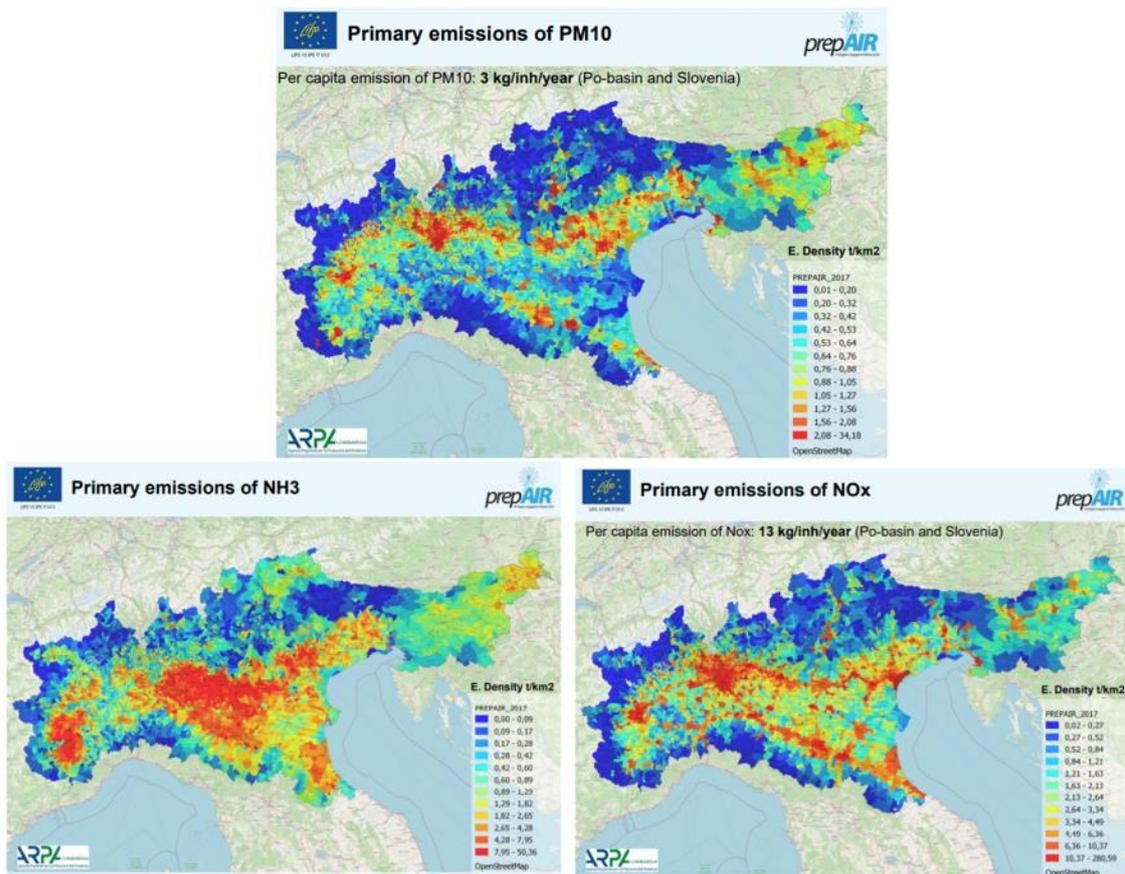


Figura 1.4 Emissioni primarie dei principali precursori di PM<sub>10</sub>.

Alle emissioni di ossidi di azoto (NO<sub>x</sub>) contribuiscono il trasporto su strada ed altri sistemi di trasporto (aerei, navi, ecc.). Il principale contributo alle emissioni di ammoniaca NH<sub>3</sub> deriva dalle pratiche agricole (96%), mentre la maggiore sorgente di PM nella Pianura Padana è la combustione non industriale (riscaldamento).



**Figura 1.5** Andamento delle concentrazioni di emissioni primarie di PM<sub>10</sub>, NH<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub> e la loro distribuzione nella Pianura Padana.

La Pianura Padana è l'area in cui il maggior numero di città registrano il maggior numero di giornate con livelli di inquinamento superiore ai limiti di legge (50 µg m<sup>-3</sup> come limite giornaliero) per il PM<sub>10</sub> (Alessandro Bigi et al., 2012, J. P. Putaud et al., 2014). La situazione è aggravata dalle particolari condizioni meteorologiche e orografiche che spesso favoriscono l'intrappolamento di inquinanti all'interno dello strato limite dell'atmosfera (Finardi & Pellegrini, 2004). Infatti, la catena alpina sul versante occidentale e settentrionale della Pianura Padana e l'Appennino sul versante meridionale, fungono da barriera ai venti che soffiano dall'Europa centrale, dall'Oceano Atlantico e dal Mediterraneo (Figura 1.6) (Mazzola et al., 2010).



**Figura 1.6** Alpi e Appennino chiudono il bacino su tre lati (nord, ovest e sud) e lo proteggono dai venti provenienti dal continente e dal Mediterraneo. L'aria si distribuisce e si disperde nella Pianura Padana (linea tratteggiata).

Le regioni d'alta montagna invece sono considerate generalmente aree incontaminate, essendo lontane dagli insediamenti urbani e fonti di emissioni antropiche. Tuttavia, il trasporto atmosferico di inquinanti da ambienti limitrofi risulta spesso non essere trascurabile, a causa delle circolazioni sia sinottiche che locali.

I flussi termici rappresentano una caratteristica del clima montano, favorendo un regolare scambio di masse d'aria tra i siti di pianura e quelli di montagna. In particolare, nelle regioni di montagna, possono verificarsi venti di salita e di discesa, o una combinazione di entrambi. I venti di salita (o brezza di valle) sono generati dall'azione della radiazione solare durante il giorno che genera un più o meno marcato salto termico tra le cime delle montagne e le valli circostanti. Le masse d'aria dei pendii montuosi esposti alla luce solare si riscaldano, risalendoli. Questi venti di salita creano il flusso ascendente (Figura 1.7). Di notte, i pendii si raffreddano più velocemente, mentre il fondovalle cede il calore assorbito durante il giorno, creando una zona di bassa pressione. Quindi si crea un flusso d'aria che discende i pendii e si sposta dalle cime dei monti verso la valle in basso (Baumbach & Vogt, 1999).



Figura 1.7 Brezza di valle e brezza di monte.

Un altro fattore che influenza l'impatto delle attività antropiche sull'atmosfera è il *boundary layer*, che si definisce come quella parte di troposfera direttamente influenzata dalla presenza della superficie terrestre. Nella troposfera la temperatura diminuisce all'aumentare della quota (gradiente termico verticale negativo) ed in essa si manifestano la maggior parte dei fenomeni meteorologici. Lo spessore del *boundary layer* può variare da una decina di metri a qualche chilometro. Quest'ultimo riveste una importanza fondamentale in quanto l'immissione della maggior parte delle sostanze inquinanti nell'aria avviene in prossimità del terreno, dove risiedono le attività umane. Il limite superiore del *boundary layer* funge da barriera agli aerosol, polveri, gas ed altri inquinanti provenienti da sorgenti antropogeniche che vengono bloccati all'interno dello strato limite. In condizioni di raffreddamento della superficie terrestre (per esempio in inverno in Pianura Padana) il *boundary layer* si stabilizza a causa di una inversione superficiale di temperatura (ovvero la superficie terrestre è più fredda dell'aria che sta appena al di sopra di essa). Durante la presenza di inversioni termiche sono quindi inibiti i moti verticali dell'atmosfera e tutti gli inquinanti emessi al suolo sono contenuti sotto una sorta di cappa che ne impedisce la dispersione.



## Capitolo 2

# Pesticidi

### 2.1 Cenni generali

Con il termine “pesticida” si intende una sostanza o miscela di sostanze, di origine naturale o sintetica, volte a distruggere, respingere, limitare e ridurre il danno provocato da qualsiasi specie di parassita. I parassiti possono recare danno all’uomo, mediante attacco diretto, ad esempio come vettore di malattie, oppure indiretto, nel caso possa compromettere l’integrità e qualità di fonti alimentari, raccolti e di altre materie prime indispensabili durante la fase di produzione, lavorazione, trasporto e stoccaggio (Fallis, 2013). Nel termine pesticida<sup>2</sup> (dal latino “*pestis*”, ossia flagello, e “*caedere*”, ovvero uccidere) rientrano sia i prodotti fitosanitari che i biocidi. I prodotti fitosanitari vengono principalmente utilizzati per la protezione e conservazione di piante ed organismi vegetali in generale, defoglianti, diradanti e diseccanti. I biocidi comprendono un’ampia gamma di prodotti utilizzati per la conservazione di beni materiali, quali ad esempio legno, tessuti, fibre, plastica, carta. Essi sono intesi come prodotti antiparassitari non agricoli usati per eliminare, rendere innocui o impedire l’azione di qualsiasi organismo nocivo. Rientrano tra i biocidi disinfettanti, disincrostanti, preservanti (Della et al., 2002).

La necessità di salvaguardare le coltivazioni, cibo e la salute umana dall’azione

---

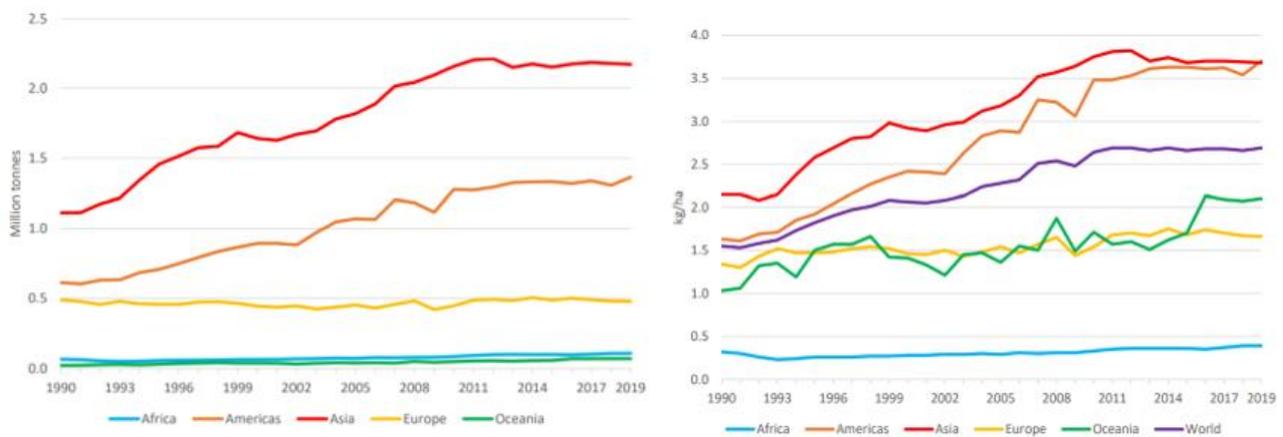
<sup>2</sup> Sovente “pesticida” e “prodotto fitosanitario” vengono usati in modo analogo. Per semplificazione, anche nel presente lavoro di tesi verranno usati come sinonimi.

deleteria di parassiti, ha rappresentato un punto cruciale per l'uomo sin dai tempi antichi. Sin dalla fine del 1800, la produzione di gas e fumo mediante combustione di legna, tabacco e zolfo rappresentava uno dei primi metodi e più rudimentali per allontanare insetti ed organismi patogeni. La sempre più crescente attenzione verso l'utilizzo di composti con proprietà insetticide portò allo sviluppo e produzione di composti sintetici e con una prima produzione su scala industriale di una sostanza pesticida di origine sintetica nel 1874, nota come DDT (dicloro-difenil-tricloroetano). Quest'ultima realizzata dal chimico austriaco Othmar Zeidler. Si riconosce però la scoperta delle sue proprietà insetticide allo svizzero Paul Hermann Müller, che ricevette il premio Nobel per la medicina nel 1948, precisamente contro la zanzara anofele per debellare la malaria, in quanto si credeva che, sebbene altamente tossico per gli insetti, fosse innocuo per l'uomo (Beard, 2006).

A causa della situazione di scarsità di cibo dovuta alla crisi che susseguì la Seconda Guerra Mondiale, ci fu la necessità di sopperire alla grande scarsità di cibo e si cominciarono ad impiegare grandi quantità di pesticidi, senza una chiara regolamentazione. Da quel momento in poi, a causa del crescente interesse nel creare nuove formulazioni sempre più efficaci, il settore volto alla produzione di pesticidi intraprese una costante crescita (Ballantyne & Marrs, 2004). Infatti, la quantità e diversità di tali composti utilizzati in agricoltura e orticoltura aumentarono in modo preponderante sin dalla Rivoluzione Verde, avvenuta tra il 1950 e la fine degli anni '60, questo al fine di migliorare l'efficienza di lavorazione da parte dell'industria alimentare. A livello globale nel 2019, l'uso totale di pesticidi in agricoltura ammonta a 4.2 milioni di tonnellate (Mt). A titolo di esempio, nel grafico in Figura 2.1 viene riportato l'andamento sul quantitativo di pesticidi volti al commercio a livello internazionale ed al loro utilizzo per area di terreno coltivata nel periodo 1990-2019.

Nel 2019 si osserva come l'Asia abbia registrato livelli più alti (2.5 Mt), di cui la maggior parte utilizzati in ambito agricolo. I paesi europei hanno esportato quasi 1.4 Mt all'anno nel periodo 1990-2019, che rappresentano più di un terzo del totale mondiale. L'utilizzo di pesticidi in agricoltura in Europa ammonta a circa 1.7 Kg/ha per superficie coltivata nel 2019, al di sotto della media mondiale, molto probabilmente a causa anche della rigorosa

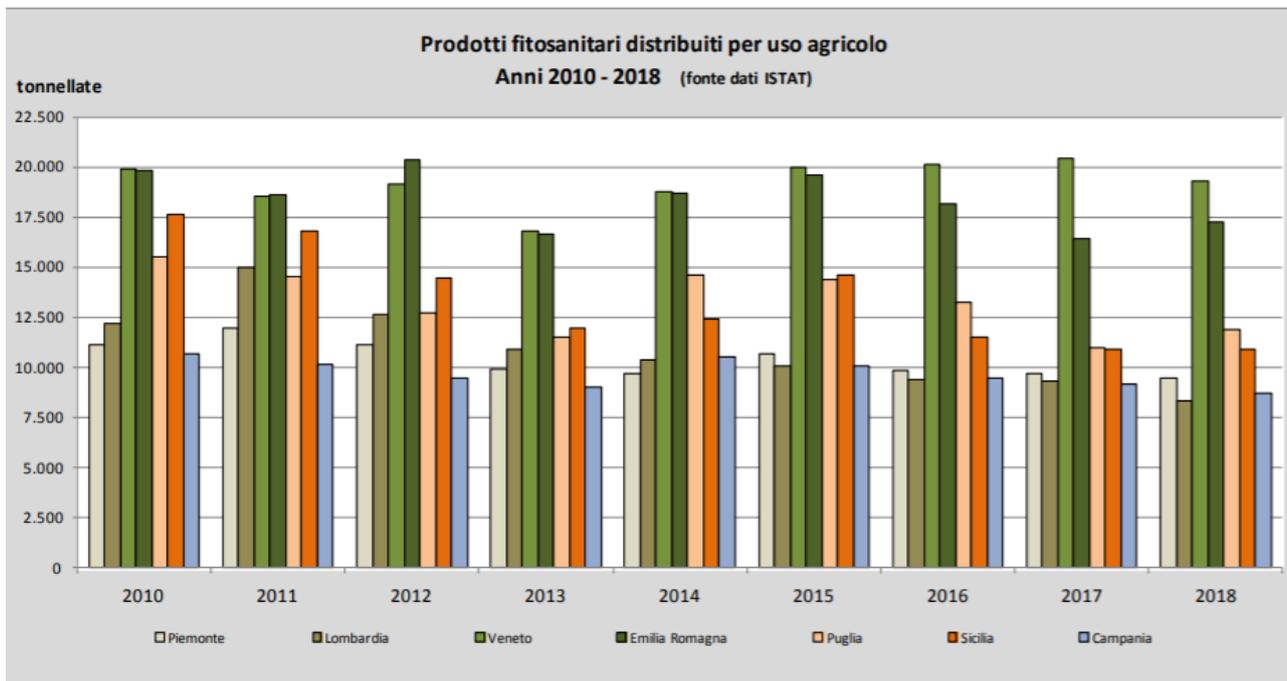
politica agricola europea recente, volta al monitoraggio e al controllo sull'utilizzo dei pesticidi (Brief, 2019).



**Figura 2.1** Utilizzo totale dei pesticidi a livello globale (grafico a sinistra) ed utilizzo di fitofarmaci per area di terreno coltivata (grafico destra).

L'Italia utilizza per l'agricoltura 0.13 Mt annue di prodotti fitosanitari (fonte: report ISTAT 2015), con una prevalenza nell'uso di glifosato, metam-sodium e 1,3-dicloropropene e risulta essere in terza posizione in termini di consumo dopo Spagna e Francia (Paris et al., 2017). In Figura 2.2 viene riportato l'andamento della distribuzione quantitativa dei prodotti fitosanitari per uso agricolo in Italia, dal 2010 al 2018, nelle regioni maggiormente interessate. L'uso agricolo di pesticidi risulta quasi sempre il più importante, con conseguenze dirette sull'ambiente e sull'uomo. Inoltre, la Regione Veneto risulta una delle regioni con il maggior impiego di pesticidi.

L'importante uso di pesticidi è dovuto principalmente alla loro versatilità, immediatezza nell'effetto ed economicità. L'impiego di questi composti può dunque permettere di trarre benefici nella resa dei raccolti e nell'approvvigionamento di cibo, riducendo le aree necessarie alle coltivazioni. L'utilizzo di queste sostanze ha inoltre apportato numerosi vantaggi da un punto di vista igienico-sanitario con la sconfitta di malattie trasmesse ad opera di microorganismi parassitari (Cooper & Dobson, 2007).



**Figura 2.2** Tonnellate di prodotti fitosanitari usati annualmente in Italia (dal 2010 al 2018) riferita alle regioni maggiormente interessate (ARPAV, 2017).

Un ulteriore problema legato all'impiego di queste sostanze riguarda la loro tendenza ad accumularsi e permanere nei suoli, contaminando così le acque superficiali, sotterranee e di falda (Madhun & Freed, 2018). Ciò comporta la probabilità di trovare residui negli alimenti destinati alla catena alimentare umana ed animale e che può portare a possibili effetti dannosi sulla salute umana (Gilden et al., 2010). Tali effetti variano considerevolmente a seconda della tipologia di pesticida. Ad esempio, l'uso del para-diclorodifeniltricloroetano (DDT) ha comportato degli effetti negativi sulla salute umana, a causa delle sue caratteristiche tossiche, e ambientale, perché rientra tra gli inquinanti organici persistenti. Per questi motivi in Italia fu messo al bando già nel 1969. Un altro esempio di fitofarmaco messo al bando nel 2000 è il 4,6-dinitro-orto-cresolo (FNOC), perché risultò avere un'acuta tossicità per l'uomo sia per via orale che per via dermale (Gupta, 2018). La continua ricerca da parte delle aziende produttrici ha fatto sì che venissero continuamente immesse nel mercato nuove formulazioni. La costante scoperta di nuovi pesticidi però necessita di un continuo monitoraggio per quanto riguarda l'impatto sull'uomo e sull'ambiente.

Attualmente la Commissione Europea elenca circa 500 principi attivi approvati che variano da paese a paese e che ha comportato lo sviluppo di più criteri di classificazione in

grado di comprendere tutte le loro proprietà (Maggi et al., 2019). Vi sono tre metodi diffusi di classificazione dei pesticidi e che comprendono (Hassaan & El Nemr, 2020):

- il modo in cui il pesticida entra in contatto con l'organismo bersaglio tramite ingestione, inalazione, contatto. Questa modalità include pesticidi sistemici, non sistemici (contatto), veleni allo stomaco, fumiganti e repellenti. I pesticidi sistemici sono quelli che vengono adsorbiti da piante o animali e trasmessi ai tessuti non trattati. Ad esempio, l'erbicida sistemico si muove attraverso la pianta e può raggiungere aree non trattate come foglie, steli o radici. Esempi di pesticidi sistemici includono l'acido 2,4-diclorofenossiacetico e il glifosato. I pesticidi non sistemici agiscono entrando nel corpo dei parassiti attraverso la loro epidermide e ne provoca la morte per avvelenamento. Questi pesticidi non penetrano necessariamente nei tessuti vegetali e di conseguenza non vengono trasportati attraverso il sistema vascolare della pianta. Esempi di pesticidi da contatto sono il paraquat ed il diquat dibromuro. I veleni dello stomaco agiscono attraverso la bocca e l'apparato digerente. I fumiganti sono quei pesticidi che agiscono uccidendo i parassiti bersaglio producendo vapori e gas velenosi quando vengono applicati entrando nel corpo del parassita attraverso il sistema respiratorio. Questi ultimi sono molto usati nel controllo dei parassiti in frutta, verdura, cereali e nel terreno. Infine, i repellenti non uccidono, ma allontanano i parassiti dalle aree trattate;
- la classificazione basata sull'organismo target ed in base a quest'ultimo i pesticidi acquistano il nome specifico relativo alla loro attività, quali insetticidi, fungicidi, erbicidi, battericidi. Alcuni pesticidi sono classificati in base alla loro funzione, quali ad esempio regolatori della crescita, che stimolano o ritardano la crescita di parassiti; defolianti, che causano la caduta delle foglie; essiccanti, che accelerano l'essiccazione delle piante per il raccolto meccanico o causano essiccamento e morte degli insetti; chemosterilizzanti, che paralizzano i parassiti (Fishel & Ferrell, 2010);
- la classificazione basata sulle proprietà chimico-fisiche dei composti chimici e della natura dei principi attivi. La composizione chimica dei pesticidi risulta essere molto importante per le modalità di applicazione e per le precauzioni da seguire durante il

loro impiego. In base a questa classificazione, i pesticidi si suddividono in quattro sottogruppi: organoclorurati; organofosfati; carbammati; piretrina e piretroidi (Eddleston et al., 2002, Hassaan & El Nemr, 2020);

- il comportamento tossico dei pesticidi: l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) ha classificato i pesticidi in quattro sottocategorie sulla base della stima della dose letale mediana ( $LD_{50}$ ), che produce la morte nel 50% di animali esposti. La classificazione viene riportata rispettivamente nella Tabella 2.1 (Ballantyne & Marrs, 2004).

La classificazione dei pesticidi risulta dunque particolarmente ampia e complessa con possibilità di adottare diversi criteri per classificare una specifica sostanza, che può far parte di più categorie contemporaneamente.

**Tabella 2.1:** Classificazione pesticidi della WHO

<i>WHO</i> classe	Livello tossicità	$LD_{50}$ per ratti (mg/Kg) per via orale e dermica	Esempi
Classe 1A	Estremamente rischioso	<5; <50	Parathion, Dieldrin
Classe 1B	Altamente rischioso	5-50; 50-200	Eldrin, Dischlorvos
Classe 2	Moderatamente rischioso	50-2000; 200-2000	Lindane, Chlordane
Classe 3	Leggermente rischioso	>2000; >2000	Malathion
Classe 4	Non rischioso	>5000; >5000	Cycloprothrin

A causa del crescente uso di pesticidi e dell'immissione nel mercato di nuove formulazioni il monitoraggio ambientale è fondamentale per una corretta salvaguardia dell'ambiente circostante al loro impiego.

La contaminazione di acque sotterranee o superficiali è governata da diversi fattori che includono sia le proprietà chimiche dei pesticidi sia quelle del suolo. Un altro fattore fondamentale riguarda la loro degradazione, che può essere destinata alla trasformazione in sostanze innocue per l'organismo bersaglio oppure in altri pesticidi o sostanze ancor più

tossiche dell'originale composto di partenza.

La distribuzione dei pesticidi nell'ambiente richiede la conoscenza delle fonti di origine del pesticida, dei processi di trasporto e meccanismi di trasformazione. In Figura 2.3 viene riportata una rappresentazione di come i pesticidi possano essere trasportati nell'ecosistema dopo la loro applicazione.

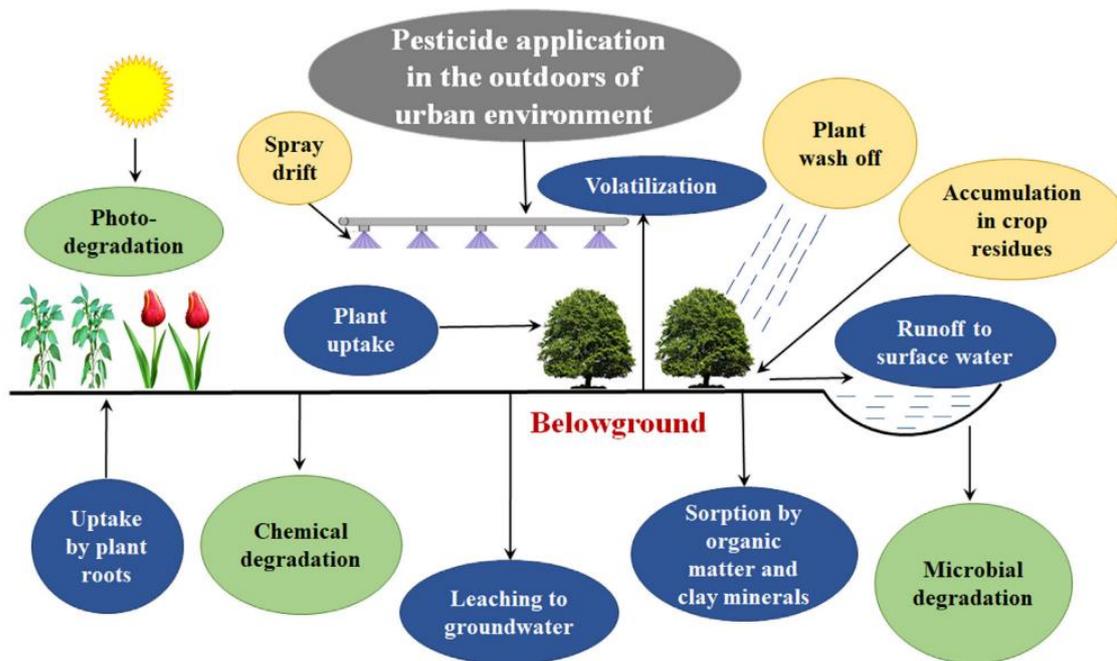


Figura 2.3 Rappresentazione schematica del comportamento dei pesticidi nell'ambiente.

## 2.4 Spray drift e volatilizzazione

Lo *spray drift* è il movimento aereo dello spruzzo oltre l'area di applicazione prevista, è molto variabile e può arrivare fino al 30% rispetto al totale applicato (Van Den Berg et al., 1999). Il *drift* è correlato alle caratteristiche dello spray, alla volatilità e viscosità del composto, alle tecniche di applicazione e dalle condizioni metereologiche (Gil & Sinfort, 2005). Inoltre, il quantitativo dei pesticidi nell'atmosfera è legata anche al fenomeno della volatilizzazione dal suolo e dalle piante e all'erosione eolica delle particelle del suolo (Voutsas et al., 2005). Con volatilizzazione viene indicato quel processo mediante il quale un composto evapora nell'atmosfera. I fattori dominanti che influiscono questo

procedimento dal suolo e dalle coltivazioni sono:

- proprietà chimico-fisiche dei composti (pressione di vapore, solubilità, coefficiente di adsorbimento, reattività);
- le caratteristiche del suolo (contenuto d'acqua, temperatura del suolo, contenuto di materia organica, densità del suolo, pH);
- condizioni metereologiche (temperatura, vento, aria, umidità);
- tipo di applicazione.

Generalmente, i processi di trasporto che riguardano le aree locali a corta distanza avvengono in una scala temporale piuttosto veloce (da pochi minuti ad un'ora), mentre il trasporto a lungo raggio (o scala regionale) è governato da processi di rimozione, scambio, trasformazione e deposizione umida o secca, che generalmente richiedono tempi più lunghi (da ore a giorni) (W.Addo J.Van Pul et al., 1994). I principali percorsi di trasformazione dei pesticidi nell'atmosfera includono anche processi foto-ossidativi (fotolisi indiretta) e reazioni indotte dalla luce solare (fotolisi diretta). Vengono considerati quattro processi distinti (Klöpffer et al., 1985):

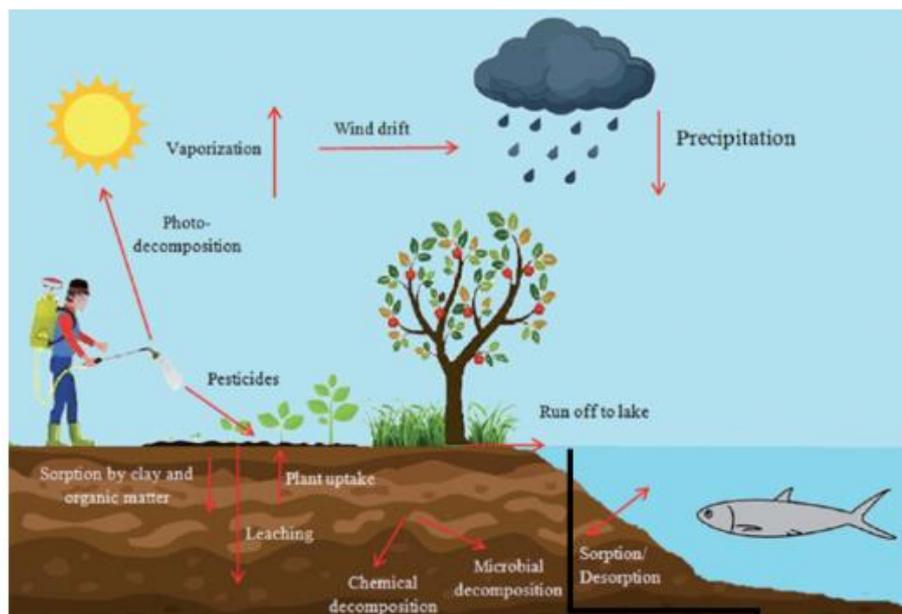
- Reazioni con radicali OH•;
- Reazioni con O<sub>3</sub>;
- Reazioni con radicali NO<sub>3</sub>•;
- Reazioni di fotolisi che agisce solo con molecole assorbenti a  $\lambda > \text{ca } 290 \text{ nm}$ .

## 2.5 Corpi idrici rurali

L'attività antropogenica risulta essere un'importante fonte di contaminazione dei corpi idrici rurali, che a sua volta rappresenta un rischio per la salute umana. La contaminazione dell'acqua a causa di inquinanti antropici colpisce piante, animali ed è dannosa non solo per le singole specie, ma anche per la funzione dell'ecosistema stesso. I pesticidi sono sostanze chimiche che vengono applicate principalmente nei giardini, terreni agricoli ed aree pubbliche e possono raggiungere così anche i corpi idrici attraverso il deflusso, lisciviazione e lo *spray drift* (Gavrilescu, 2005). La migrazione dei pesticidi nei corsi d'acqua è funzione

della loro mobilità nel suolo, nell'aria ed inoltre anche della loro tendenza a degradarsi. Nei sistemi acquatici i pesticidi possono essere anche adsorbiti sul particolato presente. Pesticidi idrosolubili sono più mobili; mentre quelli liposolubili possono essere bioaccumulati negli organismi acquatici, per poi entrare direttamente nelle catene alimentari (Mojiri et al., 2020). Il trasporto dei pesticidi nei corpi idrici è influenzato anche da numerosi altri fattori, quali ad esempio andamento delle precipitazioni dopo l'applicazione, caratteristiche chimico fisiche del corpo d'acqua, densità della vegetazione limitrofa (Figura 2.3).

Una volta che i pesticidi vengono depositati sulle superfici delle piante e del suolo, la loro concentrazione vede una rapida diminuzione in seguito al deflusso ed alla lisciviazione (Figura 2.4). Il deflusso viene definito come porzione di acqua e di qualsiasi materia disciolta o sospesa che lascia un appezzamento, un campo o un piccolo spartiacque.



**Figura 2.4** Schema illustrativo delle diverse fasi coinvolte nel ciclo dei pesticidi.

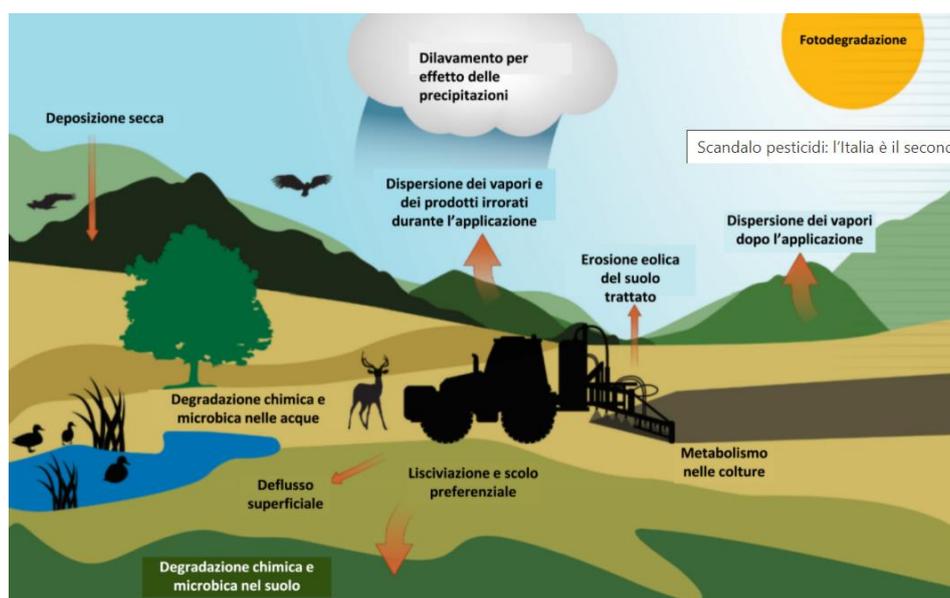
I processi di trasporto e trascinamento dei pesticidi idrosolubili durante il fenomeno di deflusso possono essere così riassunti (Bailey et al., 1974):

- diffusione e trasporto del pesticida disciolto dai pori del suolo alla corrente di deflusso in seguito all'impatto turbolento di forti precipitazioni;
- desorbimento dalle particelle del suolo nel fluido in movimento;

- dissoluzione di particolato stazionario;
- dilavamento di pesticidi e loro successiva dissoluzione nel corso d'acqua in movimento.

Tra i diversi fattori che influenzano la quantità dei pesticidi durante il deflusso sono l'intensità e durata delle precipitazioni. Inoltre, l'impatto violento delle gocce di pioggia può comportare dei gradienti di pressione istantanei che influenzano l'interscambio tra la soluzione dei pori del suolo ed il flusso (Ahuja & Lehman, 1983). Anche l'intervallo di tempo che decorre tra l'applicazione dei pesticidi e le precipitazioni risulta essere un fattore da tenere in considerazione: il deflusso, infatti, aumenta proporzionalmente all'aumento di pioggia che cade a seguito dell'applicazione. Le caratteristiche granulometriche del suolo stesso influiscono sul decorso dei composti in questione, in quanto terreni con particelle grossolane tendono ad avere una maggiore infiltrazione e volume di deflusso maggiore (Willis & McDowell, 1982).

La lisciviazione avviene in seguito a fenomeni di precipitazione in cui la sostanza attiva che ha raggiunto il terreno, può penetrare attraverso il suolo, essere disciolta nell'acqua di percolazione e raggiungere le acque di falda (Carter, 2000). La lisciviazione e la determinazione della contaminazione delle acque sotterranee dai pesticidi è influenzata prevalentemente dalla chimica dei soluti e dalle proprietà del suolo.



**Figura 2.5** Schema illustrativo delle diverse vie di trasporto dei prodotti fitosanitari.

## 2.6 Suolo

Il suolo funge da recipiente per tutti i pesticidi che entrano nell'ambiente attraverso applicazione diretta, per fuoriuscita accidentale dallo stoccaggio, applicazione dei fanghi di depurazione ai terreni agricoli e deposizione atmosferica (Pokhrel et al., 2018). Il suolo risulta avere influenze dirette sulla circolazione dei pesticidi che possono essere trasportati attraverso il terreno mediante i flussi. La presenza nel suolo di comunità batteriche o enzimi può inoltre favorire la metabolizzazione dei pesticidi.

Anche la struttura e composizione del suolo (percentuale di sabbia, limo o argilla), svolge un ruolo fondamentale nei processi di trasporto dei pesticidi. Principalmente suoli ricchi di argilla e componente organica rallentano il decorso d'acqua e sono caratterizzati da una maggiore diversità di organismi in grado di metabolizzare i parassiti. Il suolo argilloso favorisce inoltre l'adesione dei pesticidi sulle particelle di suolo. I terreni sabbiosi consentono un passaggio d'acqua rapido e non contengono una grande varietà di organismi (Meftaul et al., 2020).

## 2.7 Tossicità

I primi pesticidi sintetici sono stati disponibili dagli anni 40', generando numerosi benefici per quanto riguarda i terreni coltivati, raccolti, con un conseguente aumento della disponibilità di nutrimento (Fishel & Ferrell, 2010). L'impatto di un pesticida nell'ambiente dipende dal grado di esposizione, legato alla sua concentrazione e dispersione, e dalle sue intrinseche proprietà tossicologiche. In base quindi alle direttive del Consiglio Europeo relative all'immissione e commercio dei prodotti fitosanitari, vi è una attenta valutazione della dispersione di una sostanza chimica nell'ambiente, al fine di garantire la protezione precauzionale della salute umana ed ambientale (Klein et al., 1993).

Numerosi organi deputati alla salvaguardia dell'ambiente e alla tutela dei lavoratori e dei consumatori si sono dedicati, soprattutto negli ultimi anni, alla realizzazione di studi inerenti all'azione tossica che i pesticidi possono esplicare nei confronti di organismi diversi dal solo bersaglio al quale dovrebbero rivolgersi. Il principale obiettivo è quello di

comprendere, sempre più a fondo, le caratteristiche di ogni singola sostanza ed il suo meccanismo di azione, così da renderne via via più sicuro e sostenibile l'impiego (Gangemi et al., 2016).

I soggetti più esposti alla possibile azione nociva dei pesticidi sono coloro che lavorano nel settore agricolo (Weichenthal et al., 2010). Generalmente, la fase ritenuta più critica riguarda la produzione, preparazione e diluizione del composto a partire dalla formulazione concentrata, con successiva fase di applicazione. Anche il trasporto e lo stoccaggio possono essere considerati dannosi e fonte di contaminazione a seguito di dispersioni accidentali (Gangemi et al., 2016).

Vari studi (Weichenthal et al., 2010, Gangemi et al., 2016, Mesnage & Séralini, 2018) sono stati condotti al fine di determinare e correlare possibili insorgenze di disturbi più o meno gravi come conseguenza di una esposizione continua o saltuaria di uno specifico prodotto. Le patologie più comunemente riscontrate, che sono state studiate ed osservate in seguito all'esposizione per una vasta gamma di pesticidi, quali erbicidi dell'acido fenossiacetico, triazine, tiocarbammati, glifosato, neonicotinoidi, piretroidi, organoclorurati, organofosfati, risultano essere le seguenti: reazioni ed irritazioni cutanee, disturbi dell'apparato neurologico, alterazioni dell'apparato endocrino e riproduttivo. Tuttavia, risulta molto complicato stimare con chiarezza e certezza le dosi di pesticida più pericolose per i lavoratori che possono portare all'insorgenza di queste disfunzioni, tenendo presente che molto dipende dallo stato di salute del singolo e dalle condizioni operative dell'ambiente di lavoro stesso (Gangemi et al., 2016).

Vi sono altre possibilità di entrare in contatto con queste sostanze, come ad esempio per l'utilizzo domestico, sia tramite respirazione delle particelle nebulizzate o ingestione di acqua ed alimenti contaminati. I cibi di origine animale o vegetale possono contenere residui di principi attivi (compresi delle loro impurezze o prodotti di degradazione e metabolizzazione) e sono caratterizzati dall'indicatore LMR (Limite Massimo di Residuo), che esprime la soglia massima di sostanza che può entrare in contatto con l'uomo senza arrecargli danni (Cotroneo, 2015).

In Figura 2.6 vengono riportate le principali vie di esposizione per l'uomo. I pesticidi

possono provocare un'intossicazione acuta, nel caso di primo contatto con il soggetto, o cronica, nel caso in cui il danno recato alla persona si manifesti in un arco di tempo prolungato ai quali si è stati esposti in modo ripetuto e regolare alla sostanza nociva. Per quantificare il rischio a cui gli organismi animali sono esposti, sono stati introdotti degli indici appositi tra cui la Dose Letale 50 (DL50) e la Concentrazione Letale 50 (CL50).



Figura 2.6 Le vie di esposizione attraverso le quali l'uomo può venire a contatto con i pesticidi.

Il DL50 è espresso in mg di principio attivo per kg di peso corporeo, indica la dose di sostanza attiva che provoca la morte del 50% delle cavie, qualora venga loro somministrata per via orale o cutanea. Il CL50 è espresso in mg kg<sup>-1</sup> per solidi o liquidi e in mg m<sup>-3</sup> per aerosol e vapori, indica la concentrazione di principio attivo che, somministrata per un determinato tempo tramite via inalatoria, provoca la morte del 50% della popolazione campione. Un altro indice di riferimento importante è la DGA (Dose Giornaliera Ammessa), la quale esprime la massima quantità di composto, in mg, che può essere quotidianamente ingerita tramite alimenti senza apportare danni evidenti al consumatore. Essa viene calcolata nel seguente modo:

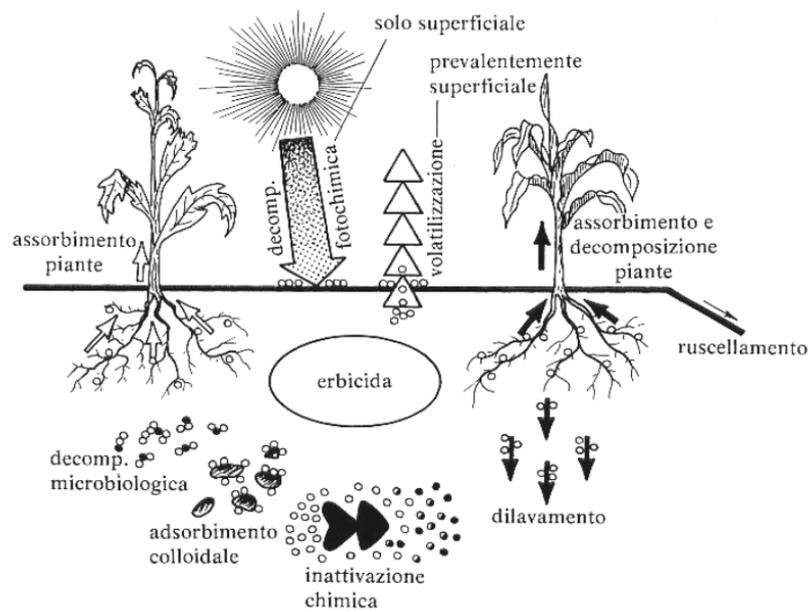
$$\frac{NOAEL \times 70}{FS}$$

Il NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) indica la massima dose di sostanza che non causa effetti indesiderati; il termine FS (Fattore di Sicurezza) tiene conto delle differenze intrinseche esistenti tra un individuo e l'altro; il numero 70 si riferisce al peso medio di una persona (Alba Cotroneo, 2015). In particolar modo, il glifosato può provocare irritazione oculare e cutanea, disfagia, nausea (Damrosch, 2004), mentre il glufosinato può comportare atrofia retinica nei roditori di laboratorio con dosi giornaliere superiori a 0.2 mg per Kg. Nell'uomo, ad alto dosaggio, provoca sintomi gastrointestinali.

### **2.7.1 Tossicità ambientale**

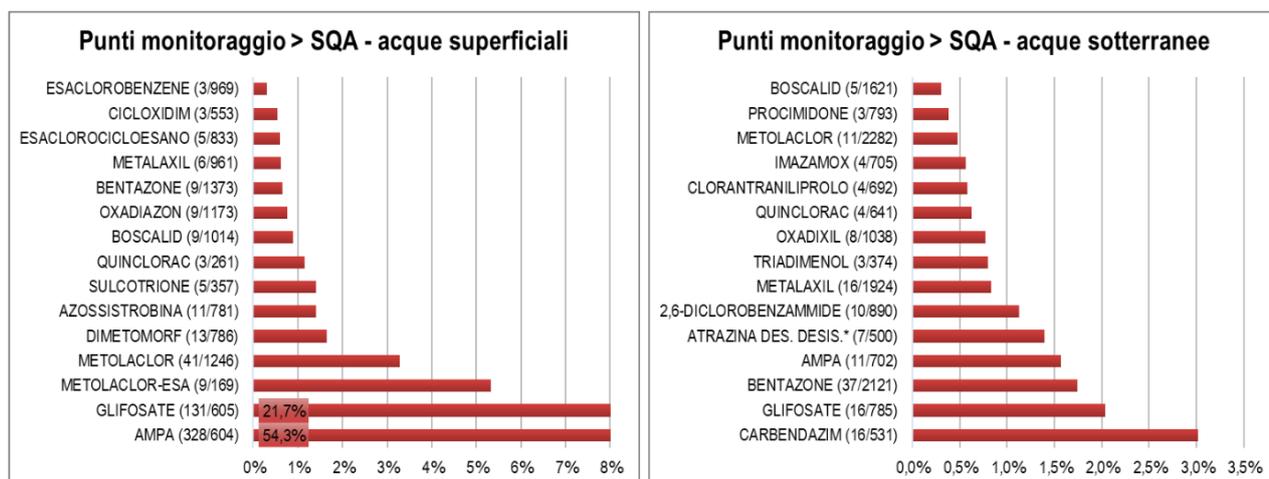
La tossicità ambientale è l'effetto negativo di una sostanza su una popolazione di animali, piante o microbi nell'ambiente (per esempio acqua o suolo). Il meccanismo tramite il quale i pesticidi esplicano la loro azione, come già citato precedentemente, fa sì che vengano colpiti e danneggiati anche organismi non target e ciò può comportare una perdita di biodiversità ed un impoverimento dei suoli nella loro parte biotica. Inoltre, un composto altamente tossico per un gruppo di organismi, può rivelarsi invece un'importante fonte di nutrimento ed energia per altre popolazioni, che di conseguenza si svilupperanno ed accresceranno a scapito di altri organismi, andando così a marcare uno squilibrio (Mfarrej & Rara, 2019). Un esempio riguarda la riduzione di popolazioni batteriche e microbiche ad opera del diserbante glifosato, presente nei terreni in cui esse si sviluppano e crescono. Tale erbicida provoca danni non solo agli organismi unicellulari, ma anche a quelli multicellulari, vertebrati o invertebrati, dalle alghe ai molluschi, rettili o anfibi fino ai mammiferi. I disturbi che tale sostanza comporta sono vari, ma principalmente si concentrano sul sistema nervoso o riproduttivo e sull'inibizione della corretta sintesi proteica (Gill et al., 2018).

Ulteriori effetti indesiderati provocati dai pesticidi possono manifestarsi a seguito dello *spray drift* del pesticida verso altri raccolti limitrofi, dal deflusso in superficie dovuto all'azione di trasporto esercitata dall'acqua proveniente da irrigazioni o precipitazioni e la sua lisciviazione o infiltrazione nelle profondità del terreno e con successiva contaminazione delle falde acquifere.



**Figura 2.7** Schema dei principali processi di dispersione di un pesticida nel suolo (Chiodini, 2014).

Le aree più soggette all'azione dannosa dei pesticidi sono quelle dedicate alla monocoltura di una determinata coltivazione. L'utilizzo ripetuto dello stesso formulato spesso opera una vera e propria selezione naturale sugli organismi bersaglio stessi che, col passare del tempo, possono sviluppare tolleranze nei confronti del prodotto usato diventandone via via più resistenti. Una prova dell'inquinamento provocato dal vasto utilizzo dei pesticidi è rappresentata dai dati pubblicati dall'ente italiano ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale) inerenti all'indagine effettuata nel biennio 2015-2016 volta a rintracciare e quantificare sostanze nocive all'interno delle acque del territorio nazionale. Sono stati analizzati 17275 campioni di acqua superficiale e sotterranea, provenienti da 4683 punti di raccolta distribuiti in tutta l'Italia, con i seguenti risultati: il 67% delle acque superficiali ed il 33.5% di quelle sotterranee hanno mostrato tracce di pesticidi, dell'ordine di  $\mu\text{g L}^{-1}$ . I limiti massimi imposti dalla normativa sono stati superati in 631 punti di monitoraggio, equivalenti al 32.2% del totale. In complesso sono state rintracciate ben 259 sostanze attive diverse, con una forte preponderanza nell'utilizzo di sostanze erbicide in quanto, essendo direttamente distribuiti sul suolo, essi tendono ad essere trasportati più rapidamente all'interno dei corpi idrici dislocati in superficie o in profondità.



**Figura 2.8** Sostanze che con maggiore frequenza presentano concentrazioni superiori agli Standard di Qualità Ambientale (SQA) (ISPRA, 2020)

In Figura 2.8 vengono riportate le sostanze più frequentemente rinvenute sopra agli Standard di Qualità Ambientale (SQA), riscontrate in almeno tre stazioni di monitoraggio. Nelle parentesi è indicato il rapporto fra i superamenti e i punti monitorati. Nelle acque superficiali il maggior numero di superamenti è dato dal glifosato e dal metabolita AMPA, superiori agli SQA rispettivamente nel 21.7% e nel 54.3% dei siti monitorati. La frequenza di non conformità di queste sostanze è considerevolmente superiore a quella delle altre. Da segnalare per frequenza l'erbicida metolaclor e il suo metabolita metolaclor-esa sopra i limiti nel 3.3% e nel 5.3% dei siti. Nelle acque sotterranee il numero più elevato di casi di non conformità, pari al 3%, è dato dal fungicida carbendazim. Si è riscontrato, anche nelle acque sotterranee, la presenza di glifosato e AMPA superiori ai limiti nel 2% e nel 1.6% dei casi.

## 2.8 Legislazione

La legislazione relativa al controllo dei pesticidi risulta essere disomogenea a livello mondiale, questo per il fatto che le sostanze vengono valutate dalle autorità di regolamentazione dei diversi paesi, sia europei che extraeuropei, in maniera differente. Questo può comportare che i livelli di residuo massimo dei pesticidi presenti negli alimenti possono essere inferiori o superiori da un paese all'altro. L'Unione Europea si basa al

momento su quanto specificato principalmente da (EU Pesticides database. Disponibile su: [certifico.com/ambiente/legislazione-ambiente/286-legislazione-pesticidi](http://certifico.com/ambiente/legislazione-ambiente/286-legislazione-pesticidi)):

- il Regolamento (CE) N.396/2005, che fissa i limiti massimi di residui di antiparassitari rintracciabili all'interno di prodotti di origine vegetale o animale destinati a diventare alimenti o mangimi;
- il Regolamento (CE) N.1272/2008, relativo all'armonizzazione dei criteri di classificazione, etichettatura ed imballaggio (regolamento CLP) di qualsiasi sostanza, con particolare attenzione rivolta a quelle persistenti, bioaccumulanti e tossiche;
- il Regolamento (CE) N.1107/2009, che stabilisce le norme inerenti all'autorizzazione, l'immissione sul mercato, l'impiego e il controllo dei formulati commerciali tal quali, dei principi attivi, degli antidoti agronomici, dei coadiuvanti e coformulanti; lascia ogni Stato membro libero di applicare il Principio di Precauzione su composti autorizzati;
- la Direttiva 1998/93/CE, che impone i requisiti minimi necessari per poter definire un'acqua "potabile"; i livelli massimi consentiti nell'acqua sono pari a 100 ng L<sup>-1</sup> per un singolo pesticida e a 500 ng L<sup>-1</sup> nel caso della presenza di più pesticidi (Pietrzak et al., 2019);
- la Direttiva 2008/105/CE, che istituisce gli standard di qualità ambientale (SQA) relativi ai corpi idrici superficiali ed al loro ecosistema;
- la Direttiva 2009/128/CE, che promuove l'uso sostenibile dei pesticidi tramite il ricorso alla difesa integrata o al Piano di Azione Nazionale (recepito in Italia nel 2014).

Le prescrizioni elencate rappresentano una piccola parte del grande corpo di norme costituenti la legislazione relativa ai pesticidi; esse hanno subito nel tempo revisioni e rettifiche, mantenendo, comunque, una linea di principio costante. Le principali autorità che si occupano di stabilire le diverse legislazioni relative ai diversi aspetti presi in questione, quali registrazione ed autorizzazione delle sostanze specifiche prese in esame, sono elencati di seguito:

- *l'EFSA (European Food Safety Authority)*, che salvaguarda la salute dei consumatori dell'Unione Europea occupandosi di stabilire quali analisi effettuare su una specifica sostanza per determinarne le proprietà e i valori massimi consentiti (LMR);
- *IARC (International Agency for Research on Cancer)*, una sotto-agenzia del *WHO (World Health Organization)* che realizza studi volti a classificare vari agenti chimici, fisici e biologici in base alla loro tendenza a causare l'insorgere di patologie cancerogene;
- *l'EPA (Environmental Protection Agency)*, agenzia federale del governo americano che si occupa di finanziare ed effettuare le ricerche inerenti alla tutela dell'uomo e dell'ambiente, nonché di definire le classi tossicologiche a cui i pesticidi appartengono e le norme a cui sottostare per impiegarli responsabilmente;
- *l'ECHA (European Chemical Agency)*, che offre alle aziende consulenza e informazioni circa le proprietà dei vari composti chimici, il loro utilizzo sicuro e la legislazione ad essi relativa (Karabelas et al., 2009).

Gli enti sopra citati, insieme ad altri, collaborano tra loro con il fine di realizzare un corpo di normative il più possibile omogeneo valido negli Stati membri dell'UE. Attualmente rispetto ai livelli massimi stabiliti e consentiti nei corpi idrici, manca una legislazione che stabilisca i limiti ed il carico di pesticidi in atmosfera (Alba Cotroneo, 2015).

## Capitolo 3

# I pesticidi polari anionici

Nel presente lavoro di tesi sono stati presi in considerazione quattordici pesticidi polari anionici: glifosato, AMPA, glufosinato, N-acetyl glufosinato, N-acetyl AMPA, fosetyl-Al, acido fosfonico, acido cianurico, etefone, etefone idrossido, MPPA, idrazide maleica, clorato e perclorato.

### 3.1 Glifosato ed AMPA

Il glifosato (N-(fosfometil)glicina) è un noto erbicida fogliare più venduto al mondo, di natura sistemica e non selettiva: “fogliare”, in quanto viene assorbito in via preliminare dalle piante; “sistemico”, poiché si diffonde dall’esterno verso l’interno della pianta in modo da poter attaccare con precisione i punti responsabili della crescita o della sintesi di amminoacidi essenziali; “non selettivo”, perché esplica la propria azione contro qualsiasi pianta ed in alcuni casi contro funghi e batteri (O Duke & B Powles, 2008).

La prima sintesi del glifosato venne effettuata nel 1950 dallo svizzero Henri Martin, ricercatore farmaceutico, nel tentativo di poter trovare un’applicazione del composto in ambito medicale, ma senza alcun risultato effettivo. La molecola venne in seguito sottoposta a numerosi studi e test, per poi essere scoperta per le sue proprietà erbicide nei confronti di piante infestanti nel 1970 dalla Monsanto (Giesy et al., 2000).

Nel 1974 fu messo in commercio “Roundup®”, il primo diserbante a base di glifosato e da allora la Monsanto, detentrica del monopolio di produzione fino agli inizi degli anni 2000, si è adoperata per sviluppare formulazioni sempre più efficaci con l’aggiunta di opportuni coformulanti, rendendo più rapido l’assorbimento del pesticida attraverso la superficie fogliare e facilitando il trasporto all’interno del vegetale (Benbrook, 2016).



Figura 3.1 Alcune formulazioni Roundup® disponibili sul mercato.

L’efficacia della molecola, ha fatto che si che il suo impiego non si limitasse solo al settore agricolo, ma anche in ambito civile e domestico. In Figura 3.2 è riportato l’utilizzo globale di glifosato per utilizzo agricolo e non agricolo. Dal 1995 al 2014 l’utilizzo a livello mondiale di questo pesticida è incrementato notevolmente, passando da 67 a 826 milioni di kg annui richiesti. Allo stato attuale, essendo ormai scaduto il brevetto detenuto dalla compagnia Monsanto, la forte richiesta e domanda di prodotto viene soddisfatta da numerose aziende, ognuna con la propria formulazione e sotto vari nomi quali, ad esempio, “Touchdown® ” della svizzera Syngenta oppure “GlyphoMAX® ” della Dow AgroSciences LLC di Indianapolis (Benbrook, 2016). Tuttavia, al giorno d’oggi ben il 40% della produzione mondiale di glifosato sia stabilito in Cina.

L’utilizzo dell’erbicida glifosato ha lo scopo principale di eliminare le piante infestanti, che interferiscono con la crescita dei vegetali coltivati, sottraendo ad essi sostanze nutritive indispensabili.

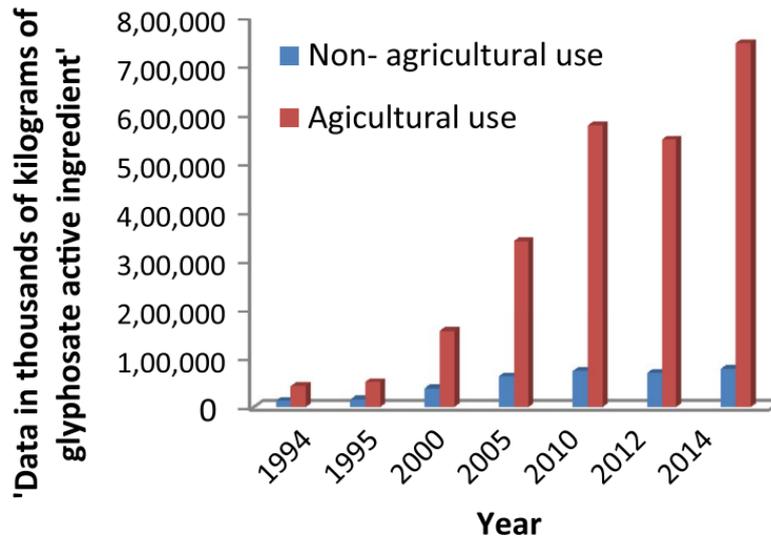


Figura 3.2 Utilizzo globale del glifosato per uso agricolo e non dal 1994 al 2014 (Gill et al., 2018).

L'ampio ricorso al glifosato comporta il vantaggio di ridurre anche la necessità di operare meccanicamente sul terreno e garantendone la protezione (Padilla, 2020). D'altro canto, il suo uso intensivo ha portato alla naturale crescita di piante resistenti a tale principio attivo, per cui l'aumento della sua applicazione è dovuto anche al tentativo di debellare queste nuove specie resistenti (Figura 3.3).

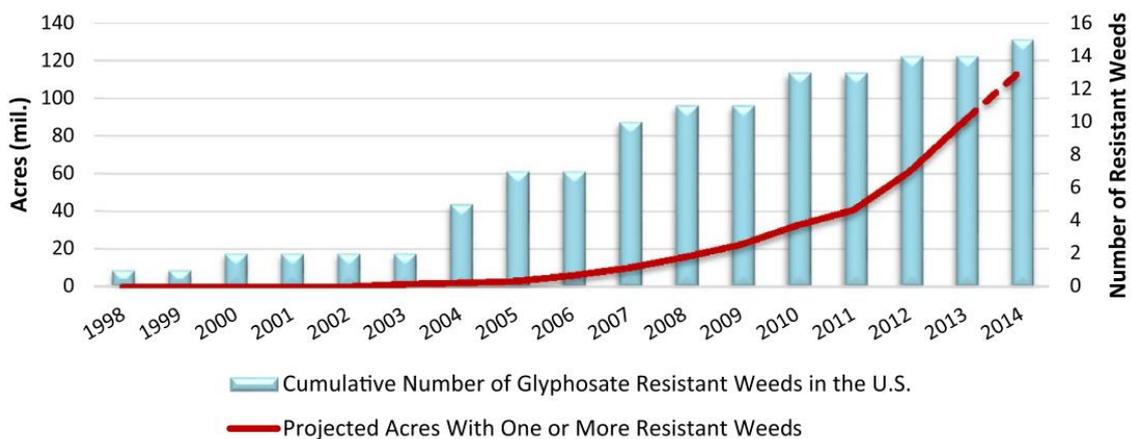


Figura 3.3 Andamento della crescita del numero di specie vegetali RR e degli appezzamenti di terreno dedicati alla loro coltivazione (negli USA) (Benbrook, 2016).

Al di fuori dell'Unione Europea sono stati prodotti dei vegetali geneticamente modificati (OGM), in grado di opporre resistenza all'azione del glifosato, di modo da poter applicare il diserbante su tutta l'area di interesse indiscriminatamente, con il risultato di eliminare tutte le piante infestanti senza il rischio di compromettere le coltivazioni. Tali piante

prendono il nome di "Roundup Ready"; tra queste compaiono colture di soia, mais e cotone, le quali si sono molto diffuse soprattutto in Nord e Sud America, dopo che ne è stata legalizzata la semina nel 1996 (Bianco, 2016).

Un primo processo di sintesi prevede l'utilizzo di HCN, che reagisce con formaldeide per dare cianoidrina; quest'ultima reagisce ulteriormente con ammoniaca per formare l'imminodiacetonitrile (IDAN). L'IDAN viene idrolizzato in una soluzione acquosa di idrossido di sodio per dare l'acido disodio-imminodiacetico (DSIDA), che insieme al cloruro di fosforo e metanale, consente di ottenere l'acido N-fosfonometil imminodiacetico. Quest'ultimo subisce infine un'ossidazione che lo trasforma in glifosato.

Il secondo metodo di produzione parte invece dalla reazione dell'ossido di etilene con ammoniaca liquida per dare come risultato una miscela di mono/di/tri-etanoloamina (MEA, DEA e TEA); tramite un catalizzatore a base di rame, la DEA viene ossidata ad acido disodio-imminodiacetico. Anche in questo caso analogamente, il DSIDA insieme al cloruro di fosforo e metanale, consente di ottenere l'acido N-fosfonometil imminodiacetico. Quest'ultimo subisce infine un'ossidazione che lo trasforma in glifosato.

La terza via di sintesi vede una prima fase di depolimerizzazione della paraformaldeide in metanolo anidro, seguita da una reazione del prodotto con dimetilfosfonato e glicina; l'idrossimetilglicina così ottenuta è addizionata di acido cloridrico, che con un opportuno riscaldamento, rimuove il gruppo idrossimetilico ed idrolizza l'estere fosfonico: come risultato si ottiene il glifosato.

Il glifosato si presenta come una fine polvere bianca ed è una molecola fosfororganica polare caratterizzata dal gruppo carbossilico, amminico e fosfonico. Il glifosato si presenta come un acido debole di natura poliprotica e che può comparire in forma sia dissociata o zwitterionica, a causa della presenza dell'ammina secondaria e dei vari siti acidi. In Figura 3.5 sono riportati gli equilibri acido-base del glifosato in funzione della variazione del pH.

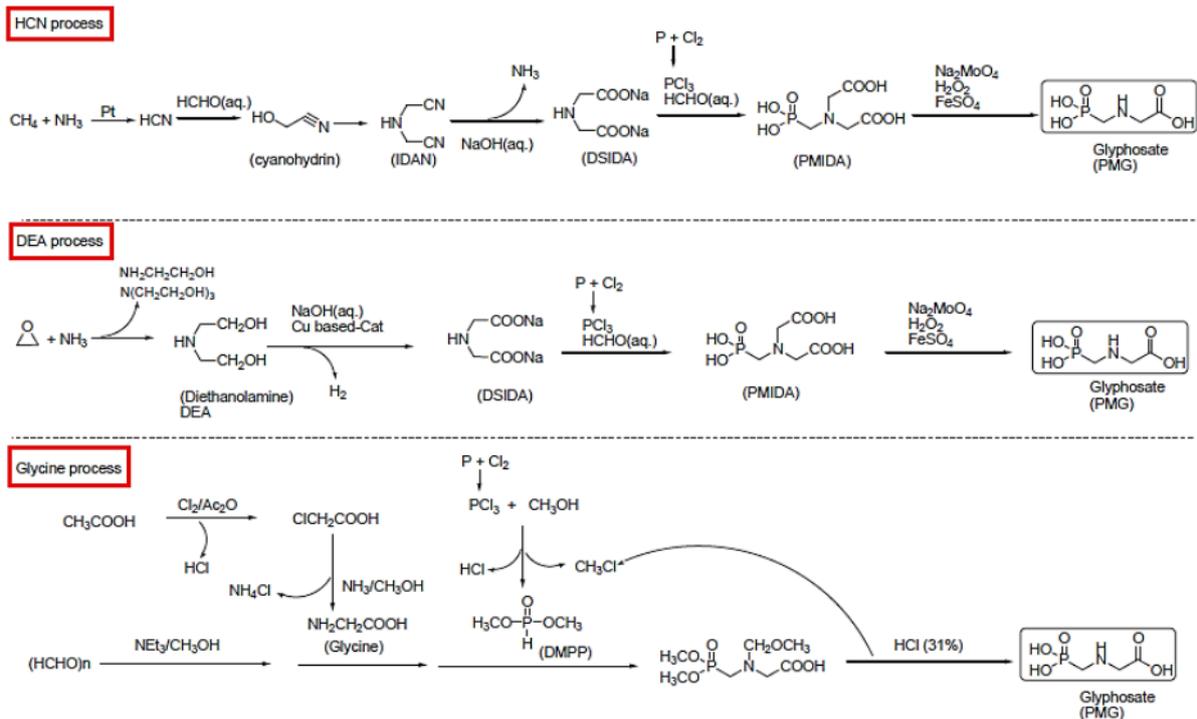


Figura 3.4 Possibili metodi di sintesi del glifosato.

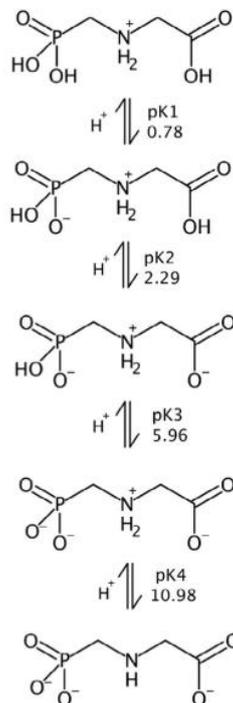


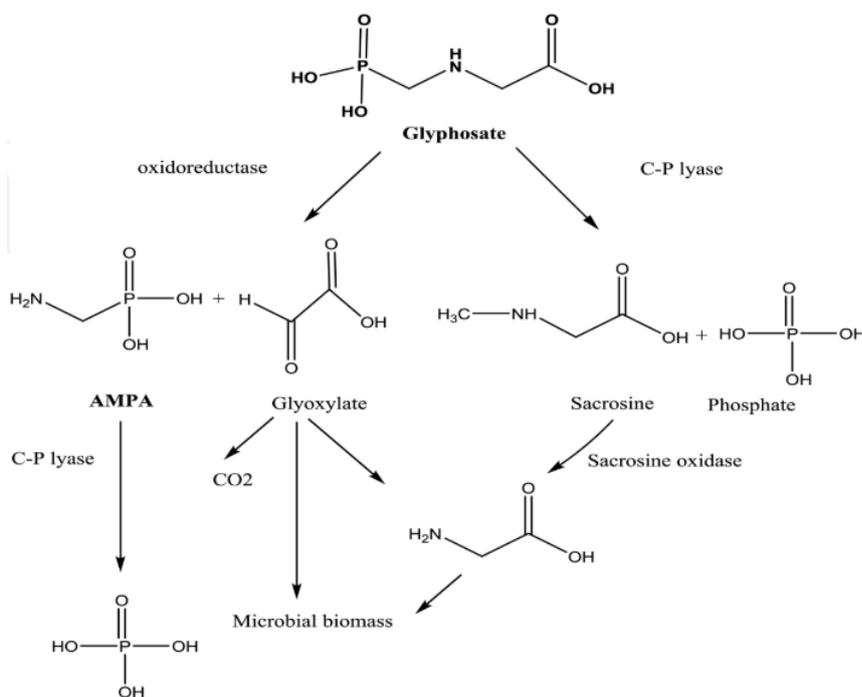
Figura 3.5 Equilibri acido-base del glifosato (Ueda Yamaguchi et al., 2016).

Il glifosato presenta una moderata solubilità in ambiente acquoso (circa  $1.16 \text{ g L}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ), per cui viene reso disponibile commercialmente sotto forma di sale monobasico ed abbinato a composti come isopropilammina, sodio, potassio, trimetilsolfonio o ammonio, per

garantire una maggiore solubilità in acqua.

Il glifosato può essere degradato attraverso diversi meccanismi per via biotica o abiotica. Sono state individuate due principali vie di degradazione, principalmente nel suolo (Padilla, 2020):

- una via che prevede la formazione di sarcosina e fosfato inorganico tramite una liasi C-P ad opera di enzimi della microflora del suolo; la rottura di tale legame può avvenire anche in modo non enzimatico tramite la presenza di ossido di manganese, seppur in maniera non frequente;
- una via che avviene in presenza dell'enzima glifosato ossidoreduttasi, che scinde il legame C-N del glifosato per produrre l'acido aminometilfosfonico (AMPA) e gliossilato. L'AMPA è il principale prodotto metabolico del glifosato trovato nel suolo (Duke, 2011).



**Figura 3.6** Principali vie di biodegradazione del glifosato nell'ambiente.

Rispetto alla maggior parte degli altri erbicidi, il glifosato ha un'emivita nel suolo e nell'acqua relativamente breve (Tabella 3.1), principalmente a causa della variabilità dell'attività microbica. Applicazioni ripetute di glifosato possono però comportare un aumento della sua emivita. Diversamente l'AMPA risulta essere leggermente più

persistente del glifosato (con un range circa dai 76 ai 240 giorni) ma con una solubilità in acqua più bassa (5.8 g L<sup>-1</sup> a 25 °C). Glifosato ed AMPA possono finire nella fase disciolta in acque sotterranee dopo il verificarsi di piogge subito dopo la loro applicazione (Grandcoin et al., 2017). Una volta disciolti nelle acque superficiali, possono essere desorbiti o degradati (Van Bruggen et al., 2018). La maggior parte degli studi prende in considerazione glifosato ed AMPA principalmente in matrici di suolo e acqua dolce, mentre gli andamenti di glifosato e AMPA in atmosfera sono scarsamente monitorati (Chang et al., 2011). Tra gli altri metaboliti del glifosato, si trovano anche l'N-acetyl glifosato e l'N-acetyl AMPA, noti principalmente per formarsi in colture tolleranti al glifosato, ovvero colture geneticamente modificate (GM) contenenti la glicina N-fenilacetyltransferasi. Quest'ultima inattiva il glifosato convertendolo in N-acetyl glifosato (Mathieu & Ossendorp, 2005, (Nørskov et al., 2019).

Secondo l'ECHA, l'EFSA e l'EPA, il glifosato non ha dimostrato di essere cancerogeno, mutageno o di influenzare negativamente l'apparato riproduttivo, ma è stato classificato come sostanza irritante e pericolosa per l'ambiente, con le seguenti fasi di rischio:

- R41: rischio di gravi lesioni oculari;
- R51/53: tossico per gli organismi acquatici, può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico; ed i formulati sono classificati pericolosi per l'uomo e/o per l'ambiente acquatico (Bianco, 2016).

Diversamente viene riportato dalla IARCH (*International Agency for Research on Cancer*), che ha invece classificato il glifosato come "sostanza potenzialmente cancerogena per l'uomo". I vari approfondimenti presenti in letteratura fanno giungere alla conclusione che vi sono pareri contrastanti relativi alla tossicità del glifosato. Va evidenziato come le diverse conclusioni a cui i diversi enti giungono derivano anche dalle differenti modalità di valutazione. Alcuni studi sono concentrati sull'attività del solo principio attivo puro, mentre altri si estendono anche a tutte le sue formulazioni disponibili sul mercato. Il forte dibattito relativo alla tossicità del glifosato è attualmente ancora in corso di studi e approfondimenti.

### 3.2 Glufosinato e suoi prodotti di degradazione

Il glufosinato (D, L-2-ammino-4-idrossimetil-fosfinoile) è un pesticida ad ampio spettro, introdotto negli Stati Uniti nel 1997 e che rientra nella categoria di erbicidi non selettivi, usato per controllare un'ampia gamma di erbe infestanti (Panseri et al., 2020). Viene usato anche come dissecante, al fine di favorire la raccolta delle colture. I suoi principali prodotti di degradazione nel suolo sono: l'acido-3-metilfosfinicopropionico (MPPA), caratterizzato da effetti tossicologici e biologici simili, ma che risulta essere più mobile e persistente nel suolo del glufosinato stesso (Aris & Leblanc, 2011); l'N-acetil-glufosinato, principale metabolita nelle cellule transgeniche della barbabietola da zucchero (B. P. Müller et al., 2001). Il glufosinato ed i suoi metaboliti sono composti altamente polari, con bassa volatilità e solubili in soluzione acquosa, ed in particolare, numerosi studi evidenziano l'emivita del glufosinato, che va dai 12 ai 70 giorni, con una media di 40 giorni circa (Ocean, 2007); (Jia et al., 2019). Le informazioni disponibili per i composti riportati nella Tabella 3.1 riassuntiva sono limitate, soprattutto per quanto riguarda la loro presenza in aerosol, suolo e corpi idrici e loro accumulo nell'ambiente.

### 3.3 Etefone

L'Etefone (acido-2-cloroetil-fosfonico) è un composto organofosforico, che rientra nella categoria dei fitoregolatori, al fine di favorire la maturazione e crescita di prodotti vegetali (El-Okazy, 2008). L'Etefone è un composto con polarità elevata, solubilità in soluzione acquosa e bassa volatilità. Il composto si decompone facilmente in condizioni di pH superiore a 4, con alte temperature o con radiazioni UV (Marín et al., 2006). Il metabolismo dell'etefone è stato studiato nei cereali e nelle colture frutticole. Il principale metabolita risulta essere l'etefon-idrossi (acido 2- idrossietil)fosfonico, denominato HEPA). Entrambi i composti risultano avere bassa tossicità e di conseguenza i valori tossicologici di riferimento fissati per l'etefone sono applicabili anche all'HEPA (EFSA, 2014).

### 3.4 Clorato e perclorato

I clorati sono sali dell'acido clorico. Principalmente derivano dall'impiego di acque di processo trattate con cloro per la disinfezione e dall'uso di sanificanti contenenti cloro (Kettlitz et al., 2016). Nonostante le acque di irrigazione e l'impiego di fertilizzanti sono considerati come fonti principali di contaminazione da clorati (Constantinou et al., 2019), essi possono essere naturalmente presenti nell'ambiente. Sia  $\text{ClO}_3^-$  e  $\text{ClO}_4^-$  infatti possono derivare dall'ossidazione non antropogenica di  $\text{O}_3$  del sodio cloruro ( $\text{NaCl}$ ) e del gas di acido cloridrico (Jackson et al., 2018). Il  $\text{ClO}_4^-$  naturale distribuito globalmente risulta essere generalmente correlabile con le concentrazioni di cloruro e nitrato in varie matrici (Jiang et al., 2020).

### 3.5 Fosetil-Alluminum

Il Fosetil-Alluminum è un composto organofosforico, che viene utilizzato principalmente nelle colture vitivinicole come fungicida. È caratterizzato da una notevole mobilità e solubilità in acqua, ed in grado di penetrare rapidamente nei tessuti vegetali in seguito all'applicazione (Chamkasem, 2017). Si trova in commercio sotto forma di granuli bagnabili o polvere bagnabile e in miscele coformulate con altri pesticidi. È un composto classificato come sostanza irritante per le vie respiratorie e degli occhi, risulta essere un composto persistente in acqua e non persistente nel terreno. Il Fosetil-Al, una volta disciolto in acqua, si degrada velocemente in acido fosfonico e fosforoso e nei sali corrispondenti, detti fosfiti o fosfonati (Buiarelli et al., 2018). L'acido fosfonico risulta essere un liquido molto stabile e viene anch'esso usato come fungicida o fertilizzante nella produzione di colture alimentari. Le diverse formulazioni fungicide presenti in commercio sono neutralizzate con sali metallici (ad esempio  $\text{KOH}$ ) per ridurre gli effetti fitotossici (Dann & McLeod, 2021). Le caratteristiche generali del Fosetil-Al e dell'acido fosfonico vengono riassunte nella Tabella 3.1.

### 3.6 Acido cianurico

L'acido cianurico ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$ ) è un composto utilizzato per la sintesi di una varietà di "fine

*chemicals*” tra cui polimeri, antiossidanti, decoloranti, vernici, adesivi e tra questi rientrano anche gli erbicidi. In particolare, l’acido cianurico è un importante metabolita degli erbicidi triazinici (ad esempio atrazina, simazina e prometrina, erbicidi selettivi per il controllo delle erbe infestanti specialmente nelle colture di mais), che sono sostanze di origine antropogeniche che si trovano frequentemente nei corpi idrici, specialmente in seguito a forti periodi di piogge e deflusso da terreni agricoli. L’acido cianurico è noto anche come prodotto di degradazione della melamina, composto utilizzato nelle resine epossidiche, in particolare come ritardante di fiamma azotato (P. Müller et al., 2016). L’acido cianurico risulta essere anche un prodotto di degradazione termica dell’urea, quest’ultima usata come fertilizzante, a seguito dei processi di produzione, ma probabilmente anche a causa di degradazioni dopo l’uso agricolo (She et al., 2010). Infine, sistemi idrici ricreativi, quali le piscine, vengono comunemente trattate con acido cianurico per stabilizzare il cloro (Long et al., 2019). L’acido cianurico è incluso nell’elenco degli inquinanti prioritari per l’ambiente da parte della Commissione Europea ed ha mostrato tossicità per organismi animali acquatici (An et al., 2018).

### **3.7 Idrazide maleica**

L’idrazide maleica è una piridazina ed utilizzata come agente clastogenico, cioè inibisce la sintesi di acidi nucleici e proteine nelle piante. È tra i più efficaci fitoregolatori e agisce come regolatore della crescita nelle piante (Wang et al., 2015). L’idrazide maleica è principalmente applicata nelle colture vitivinicole per limitare la crescita vegetativa eccessiva, migliorando di conseguenza la qualità dell’uva nelle colture intensive. La sostanza in esame viene utilizzata principalmente sotto forma di esa-sodio o sale di potassio. Degli studi condotti sulla tossicità dell’idrazide maleica (Ponnampalam et al., 1983, Ribas et al., 1996) hanno valutato come questa sia una sostanza non acutamente tossica ed irritante per gli occhi e la pelle. Inoltre, viene riportato come questa sostanza non sia attualmente monitorata nel suolo agricolo o urbano, nell’aria oppure in corpi idrici (Ponnampalam et al., 1983). Nella Tabella 3.1 vengono riassunte le caratteristiche chimico-fisiche dei pesticidi oggetto di studio.

**Tabella 3.1** Principali caratteristiche chimico-fisiche riscontrate per i pesticidi studiati.

Composto	Tipo	Nome IUPAC	CAS	Formula bruta	Peso molecolare	Tempo di vita nel suolo (giorni)	Frase rischio
Glifosato	Erbicida	N-fosfonometil-glicina	1071-83-6	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P	169.08	7-60	H318 H411
AMPA	Metabolita del glifosato	Acido aminometilfosfonico	1066-51-9	CH <sub>6</sub> NO <sub>3</sub> P	111.04	76-240	/
N-acetil glifosato	Metabolita del glifosato	Acido 2- [acetil(fosfonometil)ammino] acetico	129660-96-4	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>6</sub> P	211.11	/	H315 H319 H317 R36/38 R43
N-acetil AMPA	Metabolita del glifosato	Acido aminometilfosfonico N- acetil	57637-97-5	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>4</sub> P	157.07	/	H315 H319 H317 R36/38 R43
Glufosinato	Erbicida	Acido 2-ammino-4- (idrossi(metil)fosfinoil) butirrico	51276-47-2	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> P	181.13	12-70	H302 H332 H360FD H373
N-acetil glufosinato	Erbicida e metabolita del glufosinato	Acido 2- acetamido-4- (idrossi(metil)fosforil) butanoico	73634-73-8	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>5</sub> P	223.16	/	H315 H317 H319 R36/38R43
3-MPPA	Metabolita del glufosinato	Acido 3-(idrossimetilfosfinil) propionico	57637-97-5	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> P	152.09	/	H315 H302 H319
Etefone	Fitoregolatore per le piante	acido 2-cloroetilfosfonico	16672-87-0	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> ClO <sub>3</sub> P	144.49	/	H302 H311 H314H332 H411
HEPA	Metabolita dell'etefone	Ethephon idrossido	22987-21-9	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> P	126.05	/	
Fosetil-Al	Fungicida, battericida	Alluminio tris(etilfosfonato)	39148-24-8	C <sub>6</sub> H <sub>18</sub> AlO <sub>9</sub> P <sub>3</sub>	354.10	/	H318; R41
Acido fosfonico	Metabolita del Fosetil- Al	Acido fosfonico	13598-36-2	H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> P	81.99	/	H314 R34
Acido cianurico	Erbicida, disinfettante, sbiancante	1,3,5-triazin-2,4,6-triolo	108-80-5	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	129.07	/	/
Idrazide maleica	Regolatore della crescita delle piante	6-idrossi-2H-piridazin-3-one o 1,2-diidropiridazina-3,6-dione	123-33-1	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	96.06	/	H302 H314 H334 H317
Clorato	Disinfettante	Triossicloro	14866-68-3	ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	83.447	/	R 36/37/38
Perclorato	Disinfettante	Tetraossicloro	14797-73-0	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	99.451	/	R 36/37/38



## Capitolo 4

# Lo strumento

### 4.1 Cromatografia ionica

Le analisi cromatografiche eseguite nel corso di questo studio sono state realizzate con un cromatografo ionico Dionex™ ICS-5000 (Thermo Scientific™, Waltham, USA). Un tipico cromatografo a scambio ionico è costituito dai seguenti compartimenti (Muñoz Guerra et al., 2002):

- recipienti per la fase mobile;
- pompa/e ad elevata prestazione;
- sistema di iniezione;
- pre-colonna e colonna;
- soppressore;
- rivelatore;
- vano termico;
- software per l'integrazione dei dati.

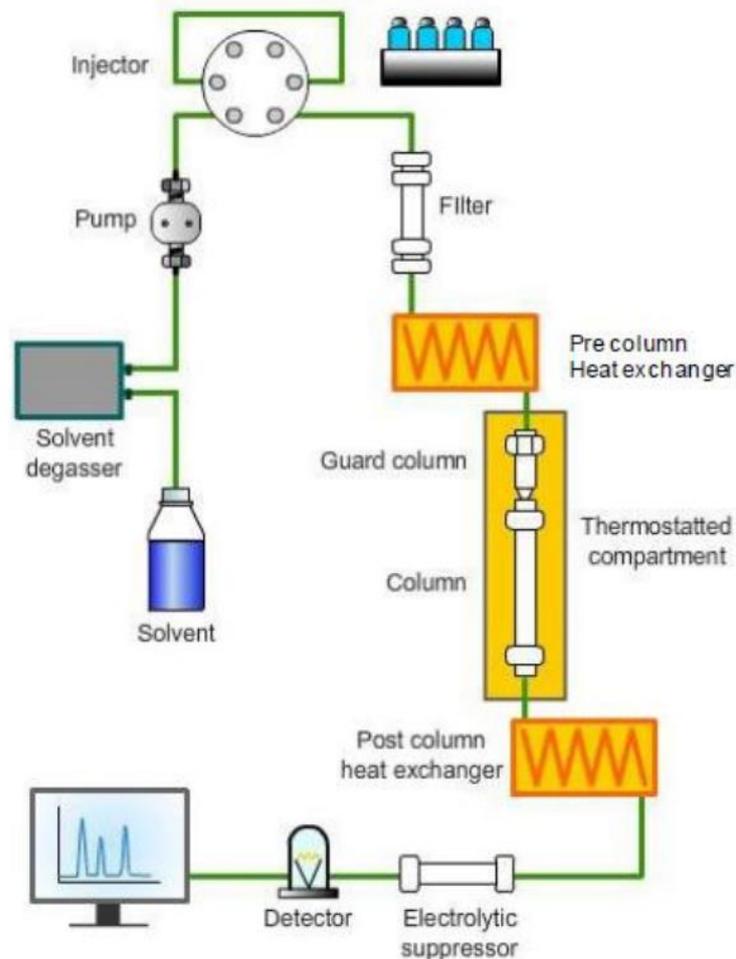


Figura 4.2 Schema di un cromatografo a scambio ionico IC.

In cromatografia ionica la fase mobile può essere composta da uno o più eluenti, generalmente soluzioni acquose saline, con il compito sia di trasportare il campione lungo la colonna, sia di favorire un buon processo di separazione. Al fine di ottenere un'elevata selettività, l'eluente deve possedere proprietà chimico-fisiche opportune per la specifica applicazione: alcuni dei più importanti parametri sui quali è possibile agire sono il pH, la forza ionica, la temperatura ed il flusso. Spesso i recipienti destinati a contenere i liquidi per la fase mobile sono collegati ad un sistema di degassaggio necessario all'eliminazione di aria o altri gas, eventualmente disciolti in soluzione, che potrebbero danneggiare la pompa o la colonna. Nel presente lavoro di tesi è stato utilizzato come eluente una soluzione NaOH a gradiente, con un flusso pari a  $0.25 \text{ mL min}^{-1}$ .

Il sistema di iniezione del campione è costituito da una valvola a sei vie: mentre la fase mobile continua a fluire in colonna, il campione viene convogliato all'interno del loop;

in seguito, ruotando la valvola, l'eluente viene fatto fluire attraverso il loop, così che il campione possa essere trasportato alla colonna. Tale metodo garantisce un flusso continuo di eluente ed evita la depressurizzazione del sistema. Compito della pre-colonna è quello di evitare che impurità o ioni multivalenti presenti nel campione possano saturare, o comunque danneggiare la colonna. Di norma i materiali di impaccamento contenuti all'interno di colonna e pre-colonna sono gli stessi.

Per le analisi effettuate, sono state utilizzate una pre-colonna Dionex IonPac™ AG19 RFIC™ 2 × 50 mm (Thermo Scientific™) e una colonna Dionex IonPac™ AS19 RFIC™ 2 × 250 mm (Thermo Scientific™). Il loop ha un volume di 50 µL.

In IC viene generalmente utilizzato un rivelatore conduttimetrico, in grado di misurare la conduttanza delle soluzioni eluite dalla colonna analitica. Tali sistemi sono sostanzialmente costituiti da due elettrodi, tra i quali viene applicata una determinata differenza di potenziale; se nella fase mobile sono presenti degli ioni, il loro passaggio all'interno del rivelatore porta ad un aumento della conducibilità ed al conseguente aumento di passaggio di corrente tra i due elettrodi: ciò si traduce nella registrazione, sul cromatogramma, di un picco, il quale è direttamente correlabile alla concentrazione dell'analita. Qualora si utilizzi un rivelatore di tipo conduttimetrico, il soppressore diventa uno strumento essenziale per ridurre il contributo al segnale dato dalla conducibilità dell'eluente. Al fine di sopprimere il segnale associato all'idrossido di sodio utilizzato in qualità di eluente, nel presente lavoro di tesi è stato utilizzato un soppressore Dionex™ DRS 600 (Thermo Scientific™).

## **4.2 Spettrometria di massa a triplo quadrupolo**

La spettrometria di massa a triplo quadrupolo è una tecnica analitica basata su un sistema di ionizzazione e desolvatazione con un filtro di massa costituito da tre quadrupoli in linea. Questa tecnica consente di misurare le masse molecolari e di ottenere dei profili di frammentazione, specifici per ciascun composto, di cui costituiscono quindi un'impronta digitale. Lo spettrometro di massa si schematizza nel modo seguente:

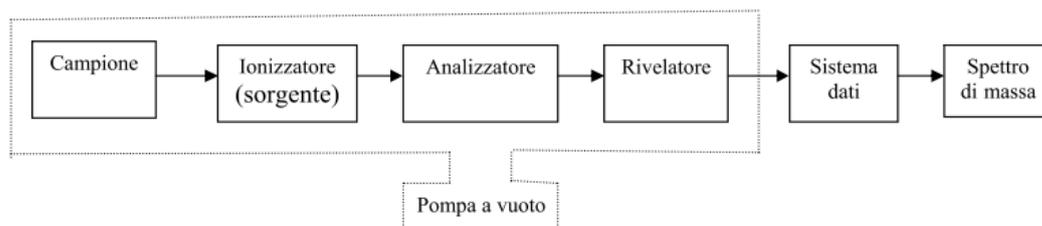


Figura 4.3 Schema a blocchi dello spettrometro di massa.

### 4.2.1 Sorgente

L'accoppiamento tra il cromatografo ionico e l'analizzatore necessita di una sorgente in grado di ionizzare gli analiti e di diminuire la pressione ad un valore intermedio permettendo la desolvatazione del campione. Per il seguente lavoro di tesi è stato utilizzato lo spettrometro di massa Quadrupolo-Esapolo-Quadrupolo (QH/Q) Quattro Ultima (Waters Corporation™, Milford, MA, USA) equipaggiato con una sorgente elettrospray z-spray (ESI) utilizzata in modalità negativa (figura della sorgente riportata in Appendice A.3). La geometria del design della sorgente ionica z-spray è caratterizzata da un doppio percorso ortogonale, di modo che il fascio ionico segua un percorso, a forma appunto di Z, dall'uscita del capillare fino all'ingresso dell'analizzatore (Figura 4.5). La soluzione dell'analita, passando attraverso il capillare a cui viene applicato una corrente, viene nebulizzata e convertita in uno spray di aerosol caricato elettrostaticamente (Figura 4.4). Dato che l'estremità del capillare si trova ad un potenziale elevato (circa 2-6 kV), la nebulizzazione porta alla formazione di goccioline cariche che contengono l'analita ionizzato. Se il potenziale del capillare applicato è positivo, gli ioni positivi della soluzione elettrolitica si allontanano dal capillare e si accumulano sulla superficie del liquido, che si trova sulla punta del capillare; mentre gli ioni negativi saranno invece trattenuti all'interno del capillare. Se l'ago ha potenziale negativo, si formano in maniera analoga ioni negativi. Quando la repulsione degli ioni presenti sulla superficie, assieme alla forza esercitata su di essi dal campo elettrico, vincono la tensione superficiale del liquido, si ha l'espansione del liquido stesso, che si muove seguendo il campo, in un cono (cono di Taylor). La punta del cono di Taylor, essendo la parte meno stabile, si allunga scindendosi in singole goccioline cariche.

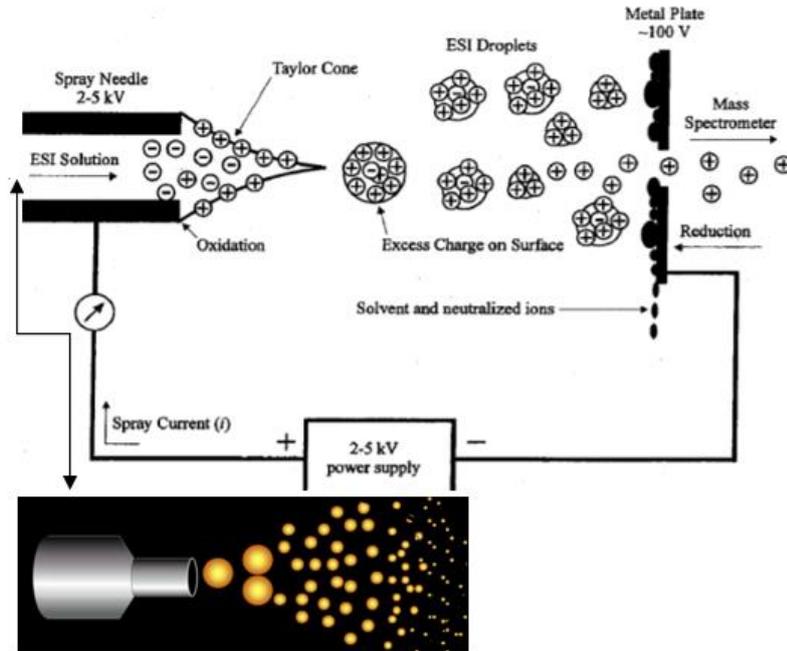


Figura 4.4 Rappresentazione del processo di ionizzazione in sorgente ESI.

Man mano che il solvente contenuto nelle goccioline evapora grazie alla presenza di due flussi di azoto coassiali e alle alte temperature, queste si rimpiccioliscono, mentre aumenta la densità di carica. Per un certo valore del raggio della gocciolina, quando la repulsione supera l'effetto di coesione esercitato dalla tensione superficiale della goccia (limite di Rayleigh), si osserva l'esplosione delle goccioline (esplosione di Coulomb). Gli ioni generati vengono poi indirizzati verso l'analizzatore grazie a due coni, anch'essi caricati elettrostaticamente.

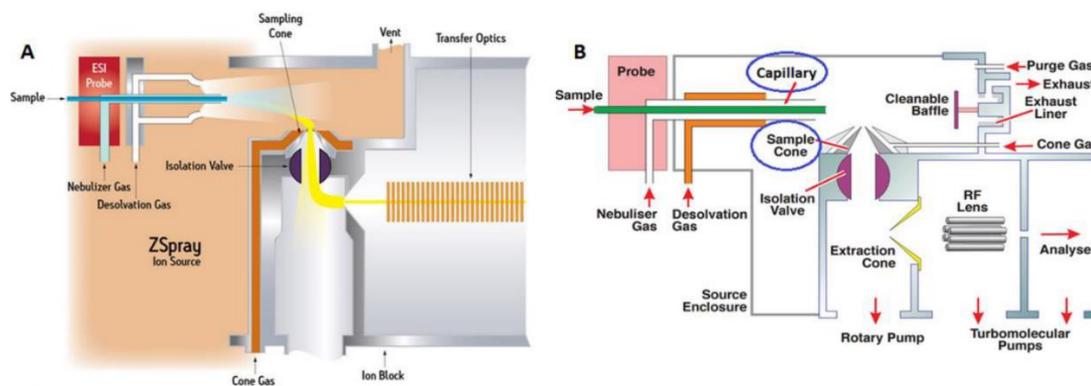
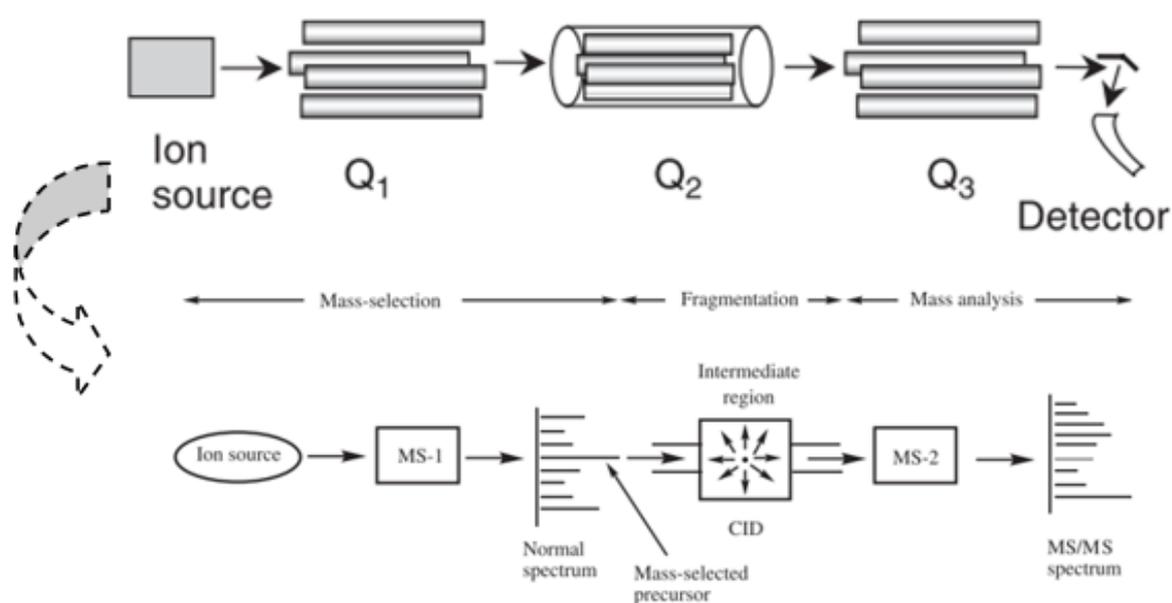


Figura 4.5 (A) Schema generale del design della sorgente ionica, che illustra il percorso ionico a forma di Z dal capillare all'ingresso dell'analizzatore. (B) Sezione trasversale della sorgente ESI, che mostra i diversi compartimenti: capillare, cono del campione, cono di estrazione, lente RF, diversi percorsi di nebulizzatore, desolvatazione e gas del cono.

## 4.2.2 Filtro di massa e detector

Nell'analizzatore di massa a triplo quadrupolo i tre quadrupoli sono disposti in sequenza. Vi sono i due filtri di massa (Q1 e Q3), ognuno contenente quattro aste metalliche cilindriche parallele alle quali viene applicata una tensione continua (potenziale in corrente continua) ed una tensione alternata (radiofrequenza). Il campo elettrico risultante costringe gli ioni a percorrere una traiettoria oscillante diversa a seconda del loro rapporto massa/carica ( $m/z$ ). Regolando questo campo si può selezionare il valore di  $m/z$  degli ioni che attraversano il quadrupolo, mentre gli ioni con  $m/z$  superiore o inferiore al valore prescelto saranno costretti a percorrere traiettorie che portano fuori dal campo elettrico e quindi non raggiungeranno il rivelatore. Ciò consente la selezione di un particolare ione, oppure la scansione delle  $m/z$  variando con continuità il campo elettrico. Il quadrupolo centrale è la cella di collisione (Q2) ed è soggetta solo al potenziale di radiofrequenza. La cella viene riempita con un gas inerte (Argon) modulabile a seconda della natura dello ione genitore in arrivo dal Q1, con lo scopo di frammentarlo.



**Figura 4.6** Diagramma schematico dello spettrometro di massa a triplo quadrupolo con sorgente di ioni, filtro di massa (Q1 e Q3), cella di collisione (Q2) e detector.

Il sistema massa tandem, attraverso l'uso della cella di collisione, frammenta lo ione selezionato dal Q1, per poi andare ad analizzare i frammenti generati con il Q3. In questo lavoro di tesi è stata utilizzata la modalità di monitoraggio di reazioni multiple (MRM), dove entrambi Q1 e Q3 sono impostati su una massa specifica (modalità SIM), consentendo di rilevare solo uno ione frammento distinto da un certo ione precursore. Questo metodo si traduce in una maggiore sensibilità.

Il rivelatore più comune abbinato al triplo quadrupolo è il moltiplicatore di elettroni. Il sistema di rilevamento è caratterizzato da un fotomoltiplicatore incapsulato in un apposito involucro sottovuoto, di modo da essere al riparo da possibili contaminazioni e da picchi di pressione.



## Capitolo 5

# Aspetti teorici del metodo analitico

La procedura analitica prevede quell'insieme di operazioni preanalitiche e strumentali volte allo studio di composti di interesse. La scelta del metodo opportuno consiste dapprima nella messa a punto della tecnica analitica strumentale idonea. Successivamente, viene individuata la procedura più adatta alla preparazione del campione (preanalitica) e le migliori condizioni operative dello strumento di analisi.

### 5.1 Metodo strumentale

L'obiettivo del presente lavoro di tesi è quello di sviluppare un metodo strumentale che permetta allo spettrometro di massa di identificare gli analiti in uscita dal cromatografo ionico. La procedura iniziale prevede l'individuazione dello ione precursore tramite modalità *full scan* in Q1. Per ciascun ione precursore, quindi, viene ottimizzato il potenziale del cono, al fine di ottenere un'intensità del segnale maggiore. Successivamente, si procede in modalità *daughter ion scan*, in cui viene selezionato lo ione precursore in Q1 (che lavora in modalità SIM) e frammentato nella cella di collisione Q2. Il quadrupolo Q3 lavora in *full scan*, visualizzando i frammenti prodotti. In questo caso, si procede con l'ottimizzazione della *collision energy* (CE), che regola l'energia di collisione in Q2 fornita agli ioni selezionati in Q1.

## 5.2 Metodo cromatografico

Per il metodo cromatografico IC, si procede con la scelta della composizione della fase mobile, lavorando in modalità gradiente e con il fine di ottenere una separazione dei picchi soddisfacente, in tempi solitamente non superiori a 40 minuti. Il gradiente di NaOH scelto prevede una fase di step isocratico a 100 mM per 3 minuti, che consiste appunto nella fase di pulizia ed una fase di equilibratura a 12 mM per 20 minuti. Il gradiente viene riportato in tabella 6.0:

**Tabella 5.1** Gradiente di NaOH.

Tempo (min)	Gradiente (mM)
0-5	12
5-22	12-75
22-25	100
25-45	12

Per cercare di aumentare il segnale, vengono ottimizzati i parametri relativi alla sorgente, mediante il settaggio delle seguenti misure: l'IS (*ion spray voltage*, ovvero il potenziale imposto all'ago della sorgente ESI), il potenziale RF Lens1 e RF Lens2, la temperatura e i flussi dei gas in sorgente.

## 5.3 Preanalitica

Dopo aver definito la tecnica strumentale da utilizzare, si procede alla trasformazione del campione, di modo da renderlo idoneo e poterlo, quindi, utilizzare con la strumentazione scelta. La fase che include tutte le operazioni di preanalitica, molto spesso, prevede la preconcentrazione del campione e, solo se necessaria, la purificazione. I metodi più frequenti di estrazione sono le estrazioni liquido/liquido o liquido/solido (Sohxlet,

ultrasuoni, microonde, ecc) e prevedono il trasferimento dell'analita ad una matrice ambientale più adatta alla determinazione strumentale. Nel seguente lavoro di tesi, la procedura preanalitica adottata consiste nell'estrazione solido/liquido in acqua ultrapura, tramite ultrasuoni, di campioni di aerosol raccolti su filtri in quarzo QFF.

## 5.4 Validazione del metodo

I parametri tecnici di validazione che occorre valutare, in relazione al metodo preso in esame, sono i seguenti (Jenke, 1996):

- Selettività: si riferisce alla capacità di un metodo analitico di determinare univocamente l'analita di interesse
- Limite di rilevabilità (MDL): consiste nella più bassa concentrazione dell'analita in esame che può essere rilevata sperimentalmente. L'MDL viene definito come il triplo dello scarto quadratico medio determinato sul segnale del bianco  $S_B$  ( $\sigma_B$  si riferisce alla deviazione standard del bianco):

$$MDL = 3\sigma_B$$

- Limite di quantificazione del metodo (MQL): consiste nella più bassa concentrazione dell'analita in esame che può essere quantificata sperimentalmente. L'MQL è definito come 10 volte la deviazione standard del segnale del bianco medio  $S_B$ :

$$MQL = 10\sigma_B$$

- Limiti di rilevabilità e quantificazione strumentale (LOD e LOQ): minima concentrazione di analita che lo strumento è in grado rispettivamente di rilevare o di quantificare. Viene generalmente calcolato sulla base del segnale prodotto da soluzioni standard degli analiti. Si differenziano nettamente da MDL ed MQL, in quanto LOD e LOQ si riferiscono esclusivamente all'ultima fase analitica, quella appunto strumentale. Sono calcolati come 3 volte (per il LOD) e 10 volte (per il LOQ) il rapporto tra l'area del rumore di fondo nel cromatogramma e l'area del picco dell'analita moltiplicati per la concentrazione dell'analita:

$$LOD = 3 \frac{A_R C_N}{A_N} \quad LOQ = 10 \frac{A_R C_N}{A_N}$$

- Intervallo di linearità: è la proprietà di uno strumento di misura di dare in uscita valori che possano mettersi in relazione lineare con il segnale d'ingresso, all'interno di un determinato campo di validità. La proporzionalità è verificata attraverso il calcolo del coefficiente di correlazione  $R^2$  della curva di calibrazione. In questo lavoro di tesi è stata eseguita per mezzo di soluzioni standard. Generalmente sono accettati coefficienti di correlazione pari ad almeno 0.99
- Precisione della misura: nella teoria degli errori, la precisione è il grado di "convergenza" (o "dispersione") di dati rilevati individualmente (campione) rispetto al valore medio della serie cui appartengono ovvero, in altri termini, la loro varianza (o deviazione standard) rispetto alla media campionaria. Viene suddivisa tra ripetibilità (concordanza tra risultati di prova indipendenti ottenute con identiche condizioni) e riproducibilità (concordanza tra risultati di prova, ottenuti con lo stesso metodo su materiali identici ma da laboratori ed operatori diversi).
- Accuratezza: è il grado di corrispondenza del dato teorico, desumibile da una serie di valori misurati (campione di dati), con il dato reale o di riferimento, ovvero la differenza tra valore medio campionario e valore vero o di riferimento. Indica la vicinanza del valore trovato a quello reale. È un concetto qualitativo che dipende sia dagli errori casuali che da quelli sistematici
- Sensibilità: è definita come la pendenza della curva di calibrazione in corrispondenza della concentrazione a cui si sta lavorando
- Robustezza: indica la capacità di un metodo analitico di non risentire degli effetti delle variazioni operative deliberatamente introdotte. Quindi può considerarsi come la capacità del metodo di non essere significativamente influenzato da variazioni delle condizioni analitiche
- Incertezza: i relativi parametri non negativi che caratterizzano un intervallo di valori attribuiti alla grandezza che si vuole misurare (Araujo, 2009).

Non essendo disponibili in commercio dei supporti certificati di aerosol atmosferico, per il seguente lavoro di tesi vengono usati gli stessi substrati utilizzati nel campionamento, pretrattati nello stesso modo, ai quali sono aggiunte quantità note di soluzioni standard.



## Capitolo 6

# Campionamento

### 6.1 Siti di campionamento e campionatore

Per questo lavoro di tesi sono stati scelti due diversi siti di campionamento, destinati entrambi alla caratterizzazione chimica del PM<sub>10</sub>. Il sito di campionamento rurale si trova presso Roncade (TV) (45°34'03.7"N 12°25'52.2"E, 0 m a.s.l.) e si trova nell'estremo versante orientale della Pianura Padana, delimitato principalmente da zone con attività agricole intensive. L'agricoltura, infatti, ricopre in larga misura il territorio della regione Veneto, mentre la restante parte è dominata da zone boschive, aree urbane e zone umide. La pianura veneta è rappresentativa di colture di cereali (mais, frumento, riso, soia), colture legnose agrarie (colture arboree da frutto e da legno, oliveti), vigneti e di coltivazioni orticole ([istat.it/en/agriculture](http://istat.it/en/agriculture)). La Pianura Padana è circondata da montagne a nord, ovest e sud e presenta spesso condizioni meteorologiche stabili con bassa ventilazione, che consentono l'accumulo di elevate concentrazioni di inquinanti (Brege et al., 2018). Elevate concentrazioni di composti azotati sono stati registrati dalla Regione Veneto, in particolare si registrano elevate emissioni di NH<sub>3</sub> derivanti in primo luogo da attività agricole (allevamenti zootecnici e fertilizzanti) e in minor misura, dai trasporti stradali, dallo smaltimento dei rifiuti, dalla combustione della legna e dei combustibili fossili. In Figura 6.1 è riportata la mappa della concentrazione di ammoniaca (utilizzata come *proxy* per tracciare



particolare attenzione allo studio della composizione chimica dell'aerosol atmosferico, in assenza di rilevanti fonti di inquinamento. I due siti in esame permettono di comprendere la possibile esposizione in un sito rurale e di comprenderne gli effettivi "livelli di fondo". La campagna di campionamento per il sito presso Roncade (TV) è stata condotta nel periodo che va dal 3/07/2021 fino al 15/12/2021; mentre per il sito presso il Col Margherita dal 14/08/2021 al 3/12/2021. La durata di campionamento è stata fissata rispettivamente a 48 h presso Roncade e 96 h al Col Margherita. L'Osservatorio Atmosferico Col Margherita (figura della Stazione MRG riportata in Appendice A.2), grazie alla sua posizione ed altitudine rappresenta un buon sito per studiare la circolazione atmosferica su scala regionale e come sito di *background* o stazione di fondo per mettere a confronto gli andamenti di concentrazione dei pesticidi nell'atmosfera riscontrati presso la zona rurale di Roncade.



**Figura 6.2** Stazione di campionamento CNR presso Col Margherita, Falcade, durante il campionamento nei periodi estivi (metà agosto) ed invernali (metà ottobre).

Per il presente lavoro di tesi è stato utilizzato un campionatore Tecora Skypost PM<sub>10</sub> (Figura 6.3 e figura del campionatore presso Roncade riportata in Appendice A.1). Lo strumento è caratterizzato da una membrana filtrante di diametro di 47mm, con un sistema di sostituzione sequenziale della membrana filtrante con autonomia di 15 filtri. Inoltre, il controllo elettronico del flusso consente il monitoraggio continuo senza necessità del presidio dell'operatore. Lo strumento consente di sostituire e prelevare i filtri esposti senza dover interrompere il campionamento in corso. Il tubo di aspirazione è caratterizzato da un percorso rettilineo.



**Figura 6.3** Campionatore Tecora Skypost PM<sub>10</sub>.

## Capitolo 7

# Messa a punto del metodo

### 7.1 Standard e materiali

Nel seguente lavoro di tesi sono state utilizzate delle soluzioni standard, ottenute sciogliendo in acqua ultra-pura (prodotta utilizzando il sistema di purificazione Purelab Ultra System (Elga®, High-Wycombe, UK)) una quantità nota di sostanze ad elevato grado di purezza. I rispettivi standard interni utilizzati sono riportati nella Tabella 7.1.

**Tabella 7.1** Analita, n° CAS, casa fornitrice

Standard	N° CAS	Fornitore
Cyanuric acid	11815000	LGC Standards
Phosphonic acid	16144000	LGC Standards
AMPA	10205000	LGC Standards
AMPA <sup>13</sup> C <sup>15</sup> N	1066-51-9	Sigma Aldrich
AMPA N-Acetyl	10205150	LGC Standards
Chlorate	83116698	Aristar <sup>RV</sup> WRChemicals
Ethephon	13230000	LGC Standards
Etephon Hydroxy	13230200	LGC Standards
Glyphosate	800-452-9994	Chem Service
Glyphosate <sup>13</sup> C <sup>15</sup> N	285978-24-7	Sigma Aldrich
Glufosinate	77182-82-2	Sigma Aldrich
Glufosinate N-Acetyl	14031500	LGC Standards
Maleic hydrazide	14730000	LGC Standards
MPPA	15090-23-0	Sigma Aldrich

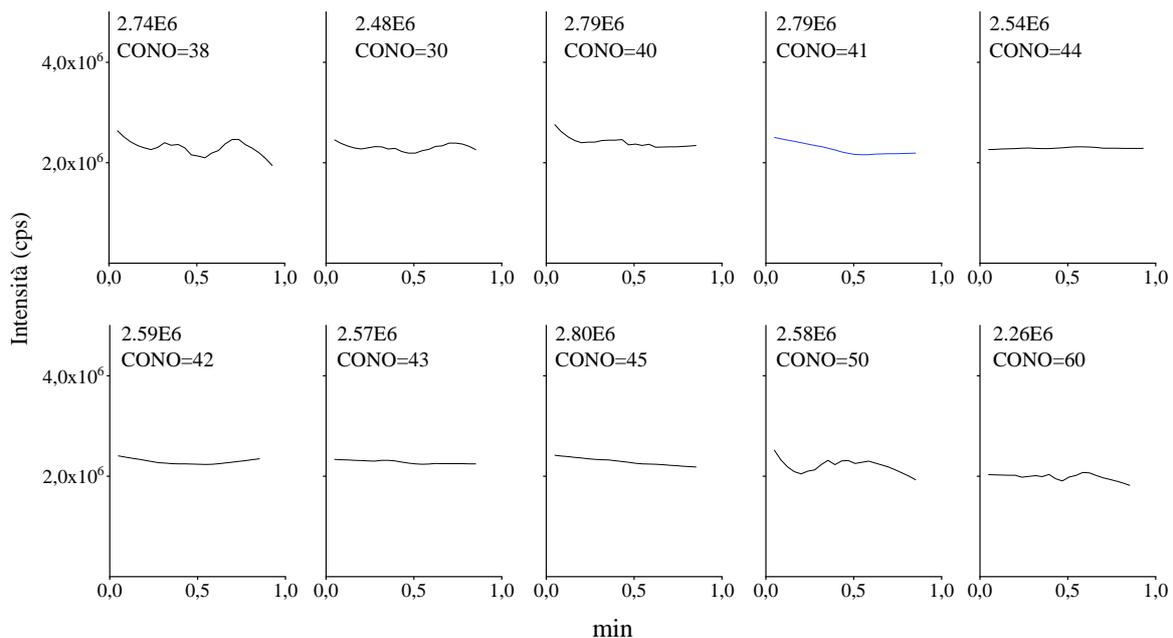
Perchlorate	83121975	Aristar <sup>®</sup> VWRChemicals
Phosetyl-Al	13940000	LGC Standards
Phosetyl-Al D15	13940010	LGC Standards

Le soluzioni preparate per l'identificazione degli analiti in esame sono state conservate in assenza di luce in cella frigorifera, ad una temperatura di -20 °C e depositati in appropriati contenitori inerti.

## 7.2 Sviluppo del metodo MRM

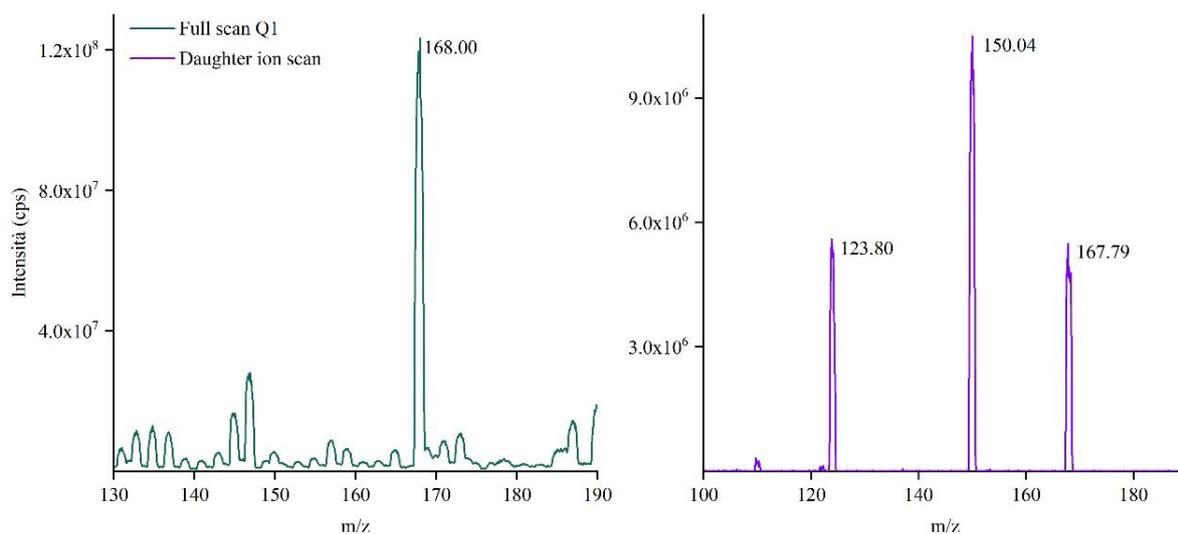
Le soluzioni preparate per questo lavoro di tesi sono state ottenute partendo sia da analiti in fase solida che liquida, disciolti successivamente in acqua ultra-pura. Per ogni analita oggetto di studio sono state preparate le soluzioni madri ad una concentrazione di 0.5 mg L<sup>-1</sup>. Tali soluzioni sono state iniettate in sorgente dello spettrometro di massa per infusione diretta, mediante una pompa a siringa (Harvard Apparatus Inc., Holliston, MA, USA) ad un flusso di 20 µL min<sup>-1</sup>, con il fine di individuare i migliori parametri strumentali necessari all'analisi.

Il primo step dello sviluppo del metodo in spettrometria di massa prevede l'identificazione dello ione precursore mediante analisi *full scan* in Q1. L'acquisizione dei dati è avvenuta con *dwell time* di 200 ms. Una volta identificato lo ione precursore, che equivale allo ione molecolare, viene ottimizzato il valore di potenziale del cono. Questa operazione è fondamentale per l'identificazione del valore di potenziale applicato al cono per raggiungere la massima intensità di segnale. A titolo di esempio, in Figura 7.2 vengono riportati i diversi valori di potenziale per lo ione m/z=168 del glifosato ed il valore scelto, appositamente evidenziato, è di 41 Volt e legato ad una maggiore intensità di segnale.

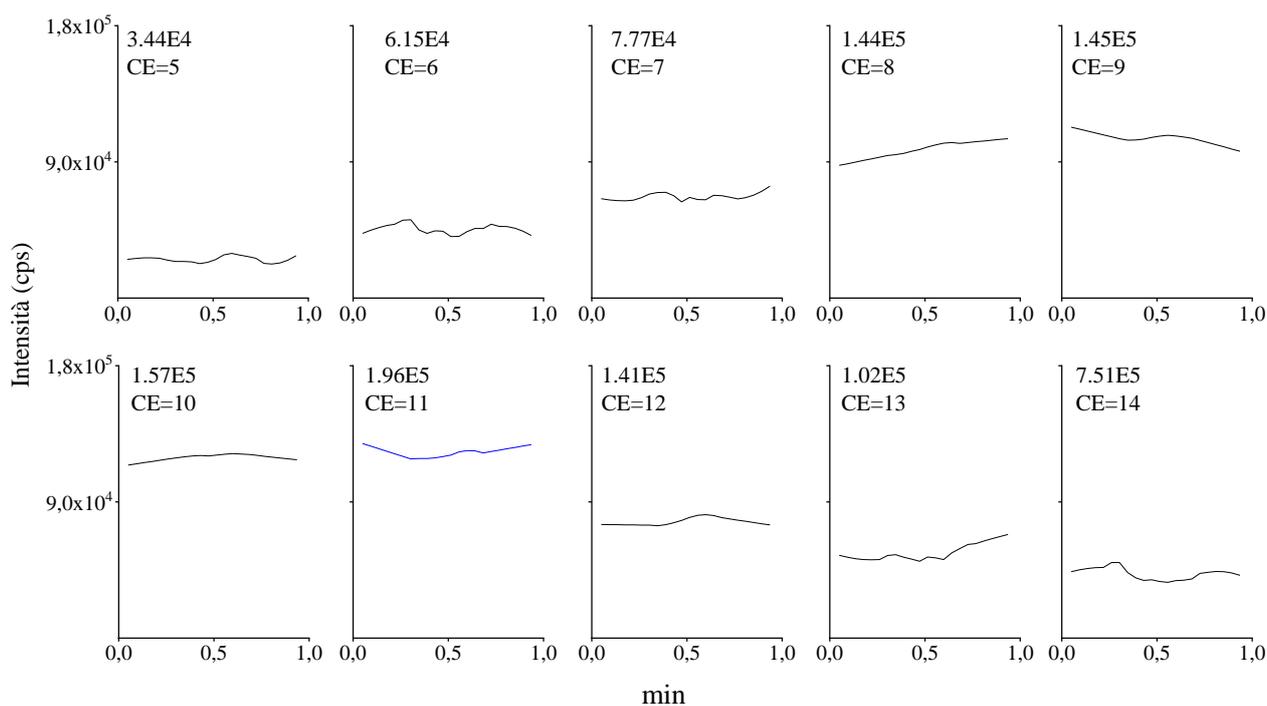


**Figura 7.1** Rampa di potenziale di cono dello ione precursore  $m/z=168$  del glifosato. Il potenziale scelto è riportato in blu.

Una volta ottimizzato il potenziale del cono si opera in modalità *daughter ion scan*, applicando una energia di collisione (CE) iniziale di circa 10V, di modo tale da mantenere una certa abbondanza dello ione precursore. L'ottimizzazione del potenziale della cella di collisione avviene attraverso una rampa di energia, al fine di individuare il valore ottimale che porta ad ottenere la maggiore intensità per ogni specifica transizione. In Figura 7.2 viene riportato, a titolo di esempio, lo spettro di acquisizione *full scan* in Q1 del glifosato da  $m/z$  130 fino a  $m/z$  190. Viene riportato di fianco lo spettro *daughter ion scan*. I frammenti più intensi sono quelli con rapporto  $m/z$  150.04 e 123.80. In seguito, è stata applicata una rampa di energia di collisione (CE) per entrambi i frammenti più intensi individuati tramite la modalità *daughter ion scan*. A titolo di esempio viene riportata la rampa di potenziale della CE solo per lo ione quantificatore, che rappresenta la transizione più intensa, mentre la seconda meno intensa serve per confermare l'identità dell'analita. Dalla Figura 7.3 si riporta il valore scelto di *collision energy* per la transizione più intensa di 11 Volt, che comporta una maggiore intensità di segnale. Queste diverse operazioni vengono eseguite per tutti gli analiti presi in esame ed i valori dei parametri scelti vengono riportati nella Tabella A.1 in Appendice.



**Figura 7.2** Spettro di massa del glifosato acquisito in modalità *full scan* (verde) ed in modalità *daughter ion scan* (viola).

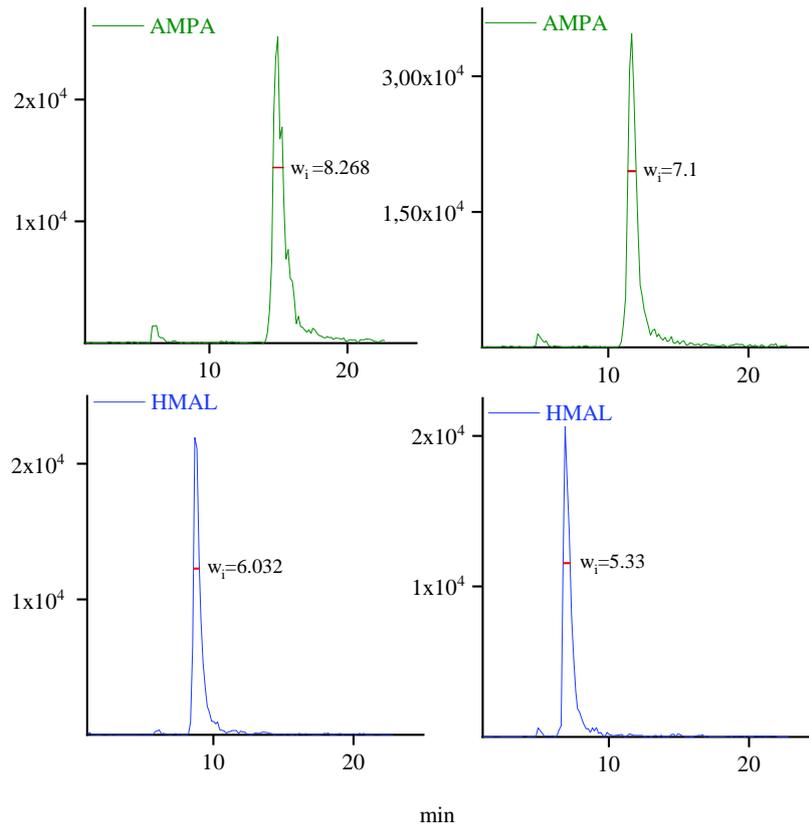


**Figura 7.3** Rampa di potenziale CE per la transizione più intensa dello spettro *daughter ion scan* del glifosato. Il potenziale scelto è riportato in blu.

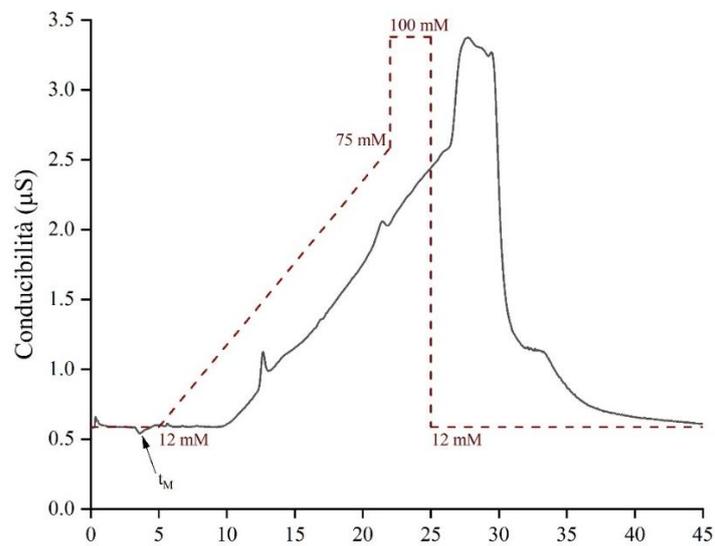
### 7.3 Sviluppo del metodo cromatografico

Per lo sviluppo del metodo cromatografico è stata impiegata una colonna AS19 Ion PAC™ (4x250mm) equipaggiata con una precolonna AG19 Ion PAC™ (4x50mm) (Dionex™,

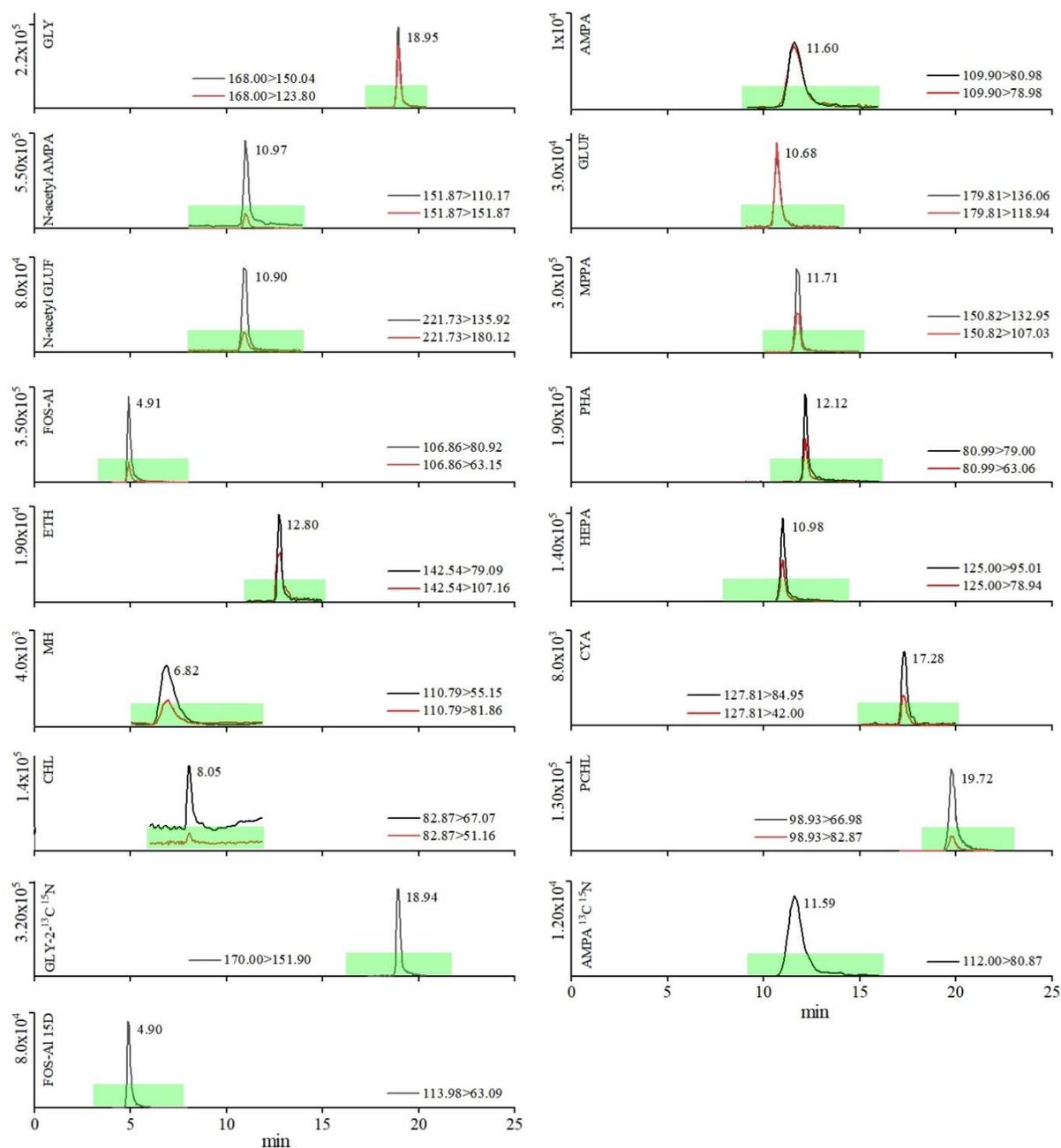
Thermo Scientific). Il metodo si ottiene cambiando diverse composizioni della fase mobile e diversi gradienti, questo al fine di migliorare la separazione dei picchi cromatografici e la loro risoluzione. I parametri inizialmente scelti si basano su un report prodotto dalla Thermo Fisher Scientific (Huang, 2018). In questo studio, è stato utilizzato un gradiente di KOH come eluente da 15 mM a 20 mM da 0-4 min, a 75 mM a 15-18 min, per poi tornare a 15 mM di KOH a 18 min per riequilibrare la colonna prima dell'iniezione successiva. Nel presente lavoro di tesi l'utilizzo di NaOH come fase mobile ha portato all'allargamento dei picchi di AMPA ed idrazide maleica. È stato dunque aumentato in gradiente di partenza ad una concentrazione di 12 mM al fine di ottimizzare la forma del picco. La concentrazione di NaOH iniziale non è stata ulteriormente incrementata per evitare un'eluizione degli analiti troppo veloce, andando a limitare la possibilità di lavorare con le cosiddette "finestre di acquisizione" con il triplo quadrupolo. In Figura 7.4 viene riportata a livello illustrativo l'acquisizione di AMPA e idrazide maleica con un gradiente di NaOH iniziale di 5 mM e 12 mM. Si osserva dal grafico come i valori riportati di  $w_i$  ( $w_i$  è intesa come larghezza del picco misurata ai punti di flesso) ad una concentrazione di gradiente pari a 12 mM siano più bassi rispetto a quelli con una concentrazione di gradiente pari a 5 mM per entrambi gli analiti. Valori inferiori relativi all'ampiezza del picco sono strettamente legati ad una maggiore efficienza di separazione della colonna. La corsa cromatografica è stata condotta utilizzando un flusso a  $250 \mu\text{L min}^{-1}$  con il seguente gradiente: 0-5 min 12 mM, 5-22 min da 12 a 75 mM, step isocratico 22-25 min a 100 mM ed infine 25-45 min per lo step di equilibratura con 12 mM. Il volume di iniezione è di  $50 \mu\text{L}$ . In Figura 7.5 si può osservare l'andamento multi-step del gradiente. All'aumentare del gradiente si ha in corrispondenza un aumento della conducibilità. Al diminuire del gradiente si osserva in concomitanza il decrescere della conducibilità stessa. Il tempo di equilibratura è stato impostato a 25 min, per riportare alle condizioni iniziali i valori della conducibilità e del gradiente. Si può osservare infatti come questi ultimi parametri vengano riallineati alla fine della corsa cromatografica per l'analisi successiva. La separazione cromatografica degli analiti e il settaggio delle finestre di tempo al triplo quadrupolo sono riportate in Figura 7.6.



**Figura 7.4** Grafico con andamenti di AMPA (verde) ed HMAL (blu) operando con un gradiente NaOH a 5mM (sinistra) e 12 mM (destra).



**Figura 7.5** Andamento gradiente dell'eluente a diversa concentrazione (linea tratteggiata) e andamento conducibilità (linea continua).



**Figura 7.6** Figura illustrativa della separazione cromatografica degli analiti e delle finestre di tempo (in verde) riportate per ogni singolo analita.

## 7.4 Flow Injection

Per il *flow injection analysis* (FIA), si procede alla sostituzione della colonna, precedentemente sottoposta ad una procedura di lavaggio con una soluzione di NaOH ad una concentrazione 100 mM, con un tubo (*coil*) per poter raggiungere una pressione di lavoro in condizioni

ottimali. La procedura prevede l'iniezione di una soluzione standard a concentrazione nota utilizzando l'IC in assenza della colonna. Questa procedura viene eseguita al fine di ottimizzare i parametri della sorgente dello spettrometro di massa alle condizioni di esercizio cromatografiche. Per questa procedura si è adottata una composizione di NaOH alla concentrazione di 40 mM, in cui eluiscono la maggior parte degli analiti. I rispettivi valori dei diversi parametri vengono riportati nella Tabella 7.2.

**Tabella 7.2** Parametri valutati nel metodo *flow injection*.

Parametro	Valore
Capillare (kV)	2.7
Cono (V)	50
RF Lens 1 (V)	2.0
Apertura	0.5
RF Lens 2 (V)	0.5
Temperatura sorgente °C	140
Temperatura di desolvatazione °C	490
Cone gas (L/hr)	60
Desolvation gas (L/hr)	550

## 7.5 Linearità e limiti di rilevabilità e quantificazione

Nel seguente lavoro di tesi è stato utilizzato il metodo dello standard interno per la procedura di quantificazione. Viene confrontata l'area di picco del composto nativo con quella del glifosato-2-<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N (Glyphosate\*), AMPA-<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N (AMPA\*) e FOS-Al <sup>15</sup>D (FOS-Al\*).

La linearità della risposta è stata ottenuta mediante retta di calibrazione in acqua ultrapura per tutti gli analiti oggetto di studio, in un range di concentrazione da 0.8 ng L<sup>-1</sup> a 17.5 µg L<sup>-1</sup>, individuando il rapporto della concentrazione analita/concentrazione standard interno contro il rapporto area analita/area standard interno. Il fattore R<sup>2</sup> ha valori compresi tra 0.9992 e 0.9998.

Il limite di rilevabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) strumentali vengono definiti come la concentrazione di una soluzione standard il cui rapporto segnale/rumore è uguale a 3 (LOD) o uguale a 10 (LOQ) (Bliesner, 2006). Nella Tabella 7.3 vengono riportati i valori di coefficiente angolare, intercetta, coefficiente di correlazione  $R^2$  ed i valori di LOD e LOQ per gli analiti oggetto di studio.

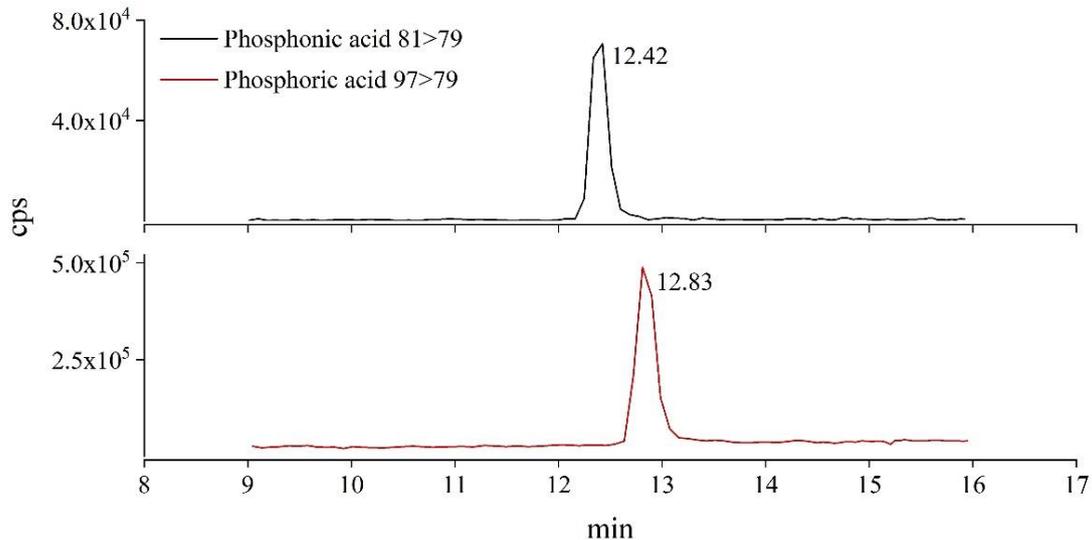
**Tabella 7.3:** Composto e rispettivo marcato, pendenza, intercetta,  $R^2$ , LOD e LOQ per gli analiti oggetto di studio.

Marcato	Composto	Pendenza	Intercetta	$R^2$	LOD (ng L <sup>-1</sup> )	LOQ (ng L <sup>-1</sup> )
FOS-Al*	FOS-Al	0.550	-0.016	0.9992	2	5
	Chlorate	0.627	-0.020	0.9993	242	805
	Phosphonic a.	0.502	-0.003	0.9992	6	21
	Cyanuric a.	0.217	-0.006	0.9991	4	14
AMPA*	Maleic hydrazide	0.447	-0.013	0.9992	50	166
	AMPA	1.238	-0.001	0.9995	13	43
	Ethephon	0.836	0.021	0.9998	0.4	1
Glyphosate*	N-ac AMPA	0.797	-0.009	0.9997	2	6
	HEPA	0.872	0.024	0.9994	5	18
	Glufosinate	0.580	0.009	0.9996	6	20
	N-ac glufosinate	0.353	-0.041	0.9992	14	46
	MPPA	0.119	0.001	0.9998	1	4
	Glyphosate	1.219	-0.115	0.9995	5	17
	Perchlorate	1.053	-0.028	0.9992	0.4	1

I limiti di rilevabilità e di quantificazione definiti in questo lavoro di tesi risultano essere inferiori di circa un ordine di grandezza rispetto agli studi di letteratura che considerano la presenza in atmosfera di glifosato, AMPA e glufosinato (Chang et al., 2011; de F. Sousa et al., 2019; Ravier et al. al., 2019).

Da uno studio riportato in letteratura per l'analisi di numerosi pesticidi altamente polari in alimenti di origine vegetale (Anastassiades et al., 2017), viene identificata una possibile interferenza della transizione di massa degli ioni negativi ( $m/z$  81>63) tra acido fosfonico e fosforico (Bauer et al., 2018). In questo lavoro di tesi, la transizione di massa più abbondante selezionata ( $m/z$  97>79) per il monitoraggio dell'interferenza dell'acido

fosforico, ha rivelato che il rischio di un rilevamento falso positivo dell'acido fosfonico non risulta essere possibile a causa della separazione cromatografica dei due picchi (Figura 7.7) e per l'assenza di picchi o spalle in entrambe le transizioni dell'acido fosfonico.



**Figura 7.7** Cromatografia di separazione dell'acido fosfonico e dell'acido fosforico.

## 7.8 Trattamento del campione

Il metodo preanalitico prevede che i filtri in fibra di quarzo ( $\varnothing$  47 mm) vengano decontaminati in un forno a muffola per una durata di quattro ore a 400 °C. I filtri sono stati appositamente pesati e caricati nel campionatore per l'analisi. Dopo il campionamento, i filtri sono stati pesati e chiusi in un foglio di alluminio, per poi essere riposti e conservati in cella frigorifera a -20°C. I filtri sono stati rimossi dalla confezione, frantumati in piccole porzioni e inseriti in provette di polipropilene da 5 mL, precedentemente lavate e sonicate in bagno ad ultrasuoni a 25°C con acqua ultra-pura per 30 minuti. Sono stati aggiunti al substrato 100  $\mu$ L di soluzione contenente gli standard interni ad una concentrazione di 50  $\mu$ g L<sup>-1</sup> e 4.95 mL di acqua ultra-pura, con una concentrazione media finale di standard interni pari a 1  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. L'estrazione è stata effettuata attraverso bagno ultrasuoni per una durata di 30 minuti raffreddato con ghiaccio (10°C), di modo da evitare l'aumento di temperatura del bagno e di una possibile degradazione dei composti presenti. L'estratto è stato successivamente trasferito in siringhe da 5 mL e filtrato attraverso un filtro PTFE (0.45  $\mu$ m,

attivato con metanolo e poi risciacquato con acqua ultrapura), questo per rimuovere una possibile presenza di particolato e frammenti di quarzo prima dell'analisi strumentale. Dalla soluzione filtrata viene prelevato 1 mL e posto in una vial, destinata poi alla quantificazione dei prodotti fitosanitari oggetto di studio. Tutte le operazioni descritte sono state condotte sotto cappa a flusso laminare all'interno di una camera bianca ISO5 (classe 100), di modo da ridurre al minimo le possibili contaminazioni esterne.

## 7.9 Validazione procedurale

La validazione del metodo è stata eseguita mediante la stima dell'errore del bianco procedurale, dell'accuratezza, ripetibilità, dei limiti di rilevabilità (MDL) e di quantificazione (MQL) per i filtri in quarzo. La quantificazione, condotta utilizzando il metodo dello standard interno, è stata corretta per un fattore di risposta strumentale, che è stato valutato analizzando una soluzione con una concentrazione media di  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , al fine di eliminare le fluttuazioni legate al segnale strumentale. Questo valore si ricava iniettando una soluzione contenente sia gli analiti di interesse che lo standard interno, ad una concentrazione nota.

Il calcolo di MDL e MQL è stato effettuato attraverso l'analisi di bianchi procedurali, ovvero cinque campioni composti dal substrato in quarzo spezzettato in una provetta in plastica da 5 mL precedentemente lavata e sonicata. Successivamente sono stati aggiunti 6.5 ng assoluti di Gly\*, 5 ng di AMPA\* e 5.5 ng di FOS-Al\* in 5 mL con acqua ultrapura (pari ad una concentrazione finale media di  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ). La soluzione è stata estratta con bagno ad ultrasuoni, per poi essere filtrata e trasferita in vial per l'analisi.

A causa della mancanza di materiale di riferimento certificato di aerosol urbano o rurale, l'esattezza e la precisione vengono calcolate analizzando cinque filtri in quarzo addizionati con 100  $\mu\text{L}$  di pesticidi nativi (concentrazione media di  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e con una concentrazione nota di standard interno, portando ad un volume totale di 5 mL con acqua ultrapura. FOS-Al, clorato, acido fosfonico e cianurico sono stati quantificati utilizzando FOS-Al\* come standard interno (5.5 ng aggiunti); idrazide maleica, AMPA ed etefone sono

stati quantificati utilizzando AMPA\* (5 ng aggiunti); N-acetil AMPA, HEPA, glufosinato, N-acetil glufosinato, MPPA, glifosato e perclorato sono stati quantificati utilizzando Gly\* (6.5 ng aggiunti). Come per i bianchi, la soluzione ottenuta è stata estratta con bagno ad ultrasuoni, per poi essere filtrata e trasferita in vial per l'analisi. Con il CV%, noto anche come coefficiente di variazione, si identifica un indice di dispersione adimensionale, definito come il rapporto tra la deviazione standard e la media aritmetica. È un indice della precisione di una misura. Il calcolo del coefficiente di variazione viene fatto solo per dati aventi media aritmetica non nulla. La tabella riporta un riepilogo dei livelli di bianco, esattezza, riproducibilità (espressa come coefficiente di variazione, CV%, MDL e MQL).

**Tabella 7.4** Bianco medio, accuratezza, CV%, MDL e MQL per ogni composto.

Marcato	Composto	Bianco medio (ng ass)	Accuratezza (%)	CV (%)	MDL (ng ass)	MQL (ng ass)
FOS-Al*	FOS-Al	0.228	-5	1	0.05	0.18
	Chlorate	0.198	-4	10	0.02	0.08
	Phosphonic a.	0.289	-9	1	0.03	0.12
	Cyanuric a.	0.214	2	10	0.02	0.07
AMPA*	Maleic hydrazide	0.053	8	8	0.02	0.06
	AMPA	0.039	9	6	0.01	0.03
	Ethephon	0.005	-9	3	1E-3	3E-3
Glyphosate*	N-ac AMPA	0.005	-1	10	1E-3	3E-3
	HEPA	0.014	5	10	1E-3	0.01
	Glufosinate	0.011	-2	8	4E-3	0.01
	N-ac glufosinate	0.036	4	9	0.01	0.03
	MPPA	0.006	-5	5	2E-3	5E-3
	Glyphosate	0.009	-1	4	2E-3	0.01
	Perchlorate	0.001	2	7	2E-4	1E-3

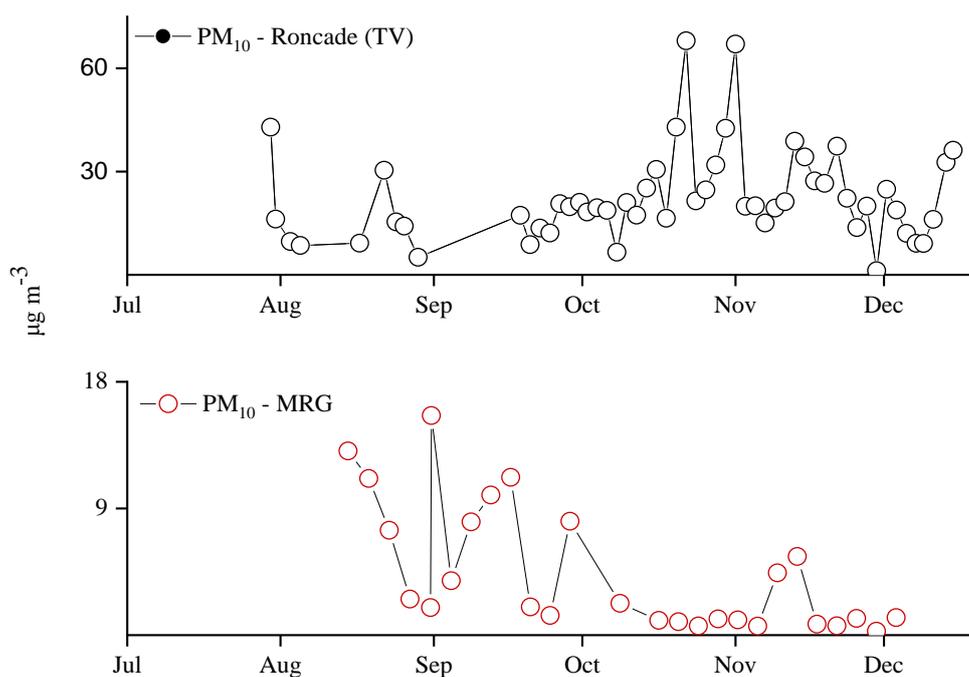
## Capitolo 8

# Risultati e Discussione

### 8.1 Risultati

Per il seguente lavoro di tesi, il campionatore Tecora Skypost PM<sub>10</sub> ha permesso di separare il PM<sub>10</sub> dal particolato totale sospeso in atmosfera. In particolare, si è concentrato lo studio sul particolato PM<sub>10</sub>, in quanto la Pianura Padana risulta essere una delle aree europee caratterizzata da elevate concentrazioni di inquinanti atmosferici. Come citato precedentemente nei capitoli introduttivi vi è una forte prevalenza di emissioni di inquinanti (NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>) e di PM<sub>10</sub>. Inoltre, lo studio del PM<sub>10</sub> risulta essere la frazione di particolato più studiata in letteratura e quindi vi è la possibilità di poter confrontare i dati rilevati con studi pregressi. In secondo luogo, il PM<sub>10</sub> risulta avere la massa maggiore, mentre le particelle più piccole risultano avere massa trascurabile. Di conseguenza, una massa maggiore consente di poter trovare i pesticidi in concentrazione maggiore. Lo studio di diversi range dimensionali attraverso un campionatore ad impatto comporterebbe il rischio di andare al di sotto del limite di rilevabilità dei pesticidi d'interesse. Questo studio pone le basi per ricerche future relative alle varie frazioni di particolato ed alla loro distribuzione a seconda delle dimensioni delle particelle.

La durata di ogni campionamento (48 h a Roncade e 96 h al Col Margherita) è stata pianificata per permettere di ottenere una massa significativa di PM<sub>10</sub> per l'analisi. L'andamento della concentrazione di massa media di PM<sub>10</sub> è riportato in  $\mu\text{g m}^{-3}$  per entrambi i siti in Figura 8.1.



**Figura 8.1** Andamento della concentrazione di massa media di PM<sub>10</sub> espressa in termini di concentrazione ( $\mu\text{g m}^{-3}$ ) presso i siti di Roncade (TV) ed MRG.

Nel sito rurale di Roncade si sono registrati valori di concentrazione medi di PM<sub>10</sub> di  $16 \pm 11$  nel periodo estivo e  $25 \pm 13 \mu\text{g m}^{-3}$  nel periodo invernale. Questi ultimi valori risultano essere leggermente inferiori rispetto a quelli rilevati dall'Agenzia regionale per la protezione ambientale (ARPAV) nello stesso periodo in un sito di monitoraggio rurale limitrofo (Treviso, via Lancieri di Novara). La media di periodo delle concentrazioni giornaliere di PM<sub>10</sub> misurate a Treviso è risultata pari a  $41 \mu\text{g m}^{-3}$  nella campagna invernale e  $16 \mu\text{g m}^{-3}$  nella campagna estiva. Presso il sito d'alta quota del Col Margherita si è riscontrata una concentrazione di PM<sub>10</sub> di  $7 \pm 5$  e  $2 \pm 2 \mu\text{g m}^{-3}$  in estate e in inverno e questi valori risultano essere in linea con quelli riportati in uno studio sulla composizione chimica dell'aerosol nel periodo primaverile ed estivo del 2018 ( $7 \pm 3$  e  $6 \pm 2 \mu\text{g m}^{-3}$ ) (Barbaro et al., 2020b). Valori confrontabili di PM<sub>10</sub> vengono trovati anche da Cozic et al. (Cozic et al., 2008) presso la stazione di Jungfraujoch nelle Alpi svizzere occidentali (3580 m s.l.m.) in aprile di ( $4 \pm 2 \mu\text{g m}^{-3}$ ) e nel periodo luglio-agosto 2000-2005 ( $6 \pm 3 \mu\text{g m}^{-3}$ ).

Per quanto riguarda le concentrazioni di ciascun pesticida rilevate presso i due siti di campionamento sono state verificate notevoli differenze. Il composto più abbondante presso il sito di Roncade risulta essere l'acido cianurico, con una concentrazione media di

$10 \pm 10 \text{ ng m}^{-3}$ , seguito da acido fosfonico  $0.5 \pm 0.5 \text{ ng m}^{-3}$  e Fosetyl-Al, HEPA e glifosato ( $0.1 \pm 0.1 \text{ ng m}^{-3}$ ). Presso la stazione del Col Margherita il composto più abbondante risulta essere ancora l'acido cianurico, con una concentrazione media pari a  $0.4 \pm 0.3 \text{ ng m}^{-3}$ , seguito da acido fosfonico  $0.03 \pm 0.03 \text{ ng m}^{-3}$  ed HEPA  $0.03 \pm 0.05 \text{ ng m}^{-3}$ .

L'AMPA, noto come principale metabolita del glifosato, ed il glufosinato, non sono mai stati rilevati sia presso Roncade ed MRG. Poiché l'AMPA è un prodotto di biodegradazione formatosi solo nei suoli (Jia et al., 2019), le sue concentrazioni in atmosfera sono riconducibili solo alla risospensione di particelle di suolo da parte dell'azione dei venti. Di conseguenza, l'assenza di rilevamento simultaneo di glifosato e AMPA indica lo *spray drift* come fonte principale di glifosato in atmosfera, mentre la risospensione del suolo risulta trascurabile. Risultati simili sono stati riscontrati anche in uno studio dedicato alla quantificazione in atmosfera di glifosato, AMPA e glufosinato in Francia, presso diverse tipologie di aree sia agricole (frutteti e vigneti) e non agricole (città, zone industriali). Lo studio condotto da Ravier et al. (2019) ha dimostrato una mancanza di rilevamento di glufosinato ed AMPA, riscontrando invece la concentrazione di glifosato ad un livello massimo pari a  $1.04 \text{ ng m}^{-3}$  e di  $0.19 \text{ ng m}^{-3}$  in due diversi siti di campionamento.

Nelle aree agricole degli Stati Uniti, le concentrazioni di glifosato hanno raggiunto livelli molto più elevati rispetto al presente studio (di  $9.1 \text{ ng m}^{-3}$  nel Missisipi), a causa della prevalenza di colture geneticamente modificate, che consentono un'applicazione più consistente del glifosato (Chang et al., 2011).

Uno studio condotto da Sousa et al. (2019) nel nord-est del Brasile, ha riscontrato valori di glifosato in un range di concentrazione da  $0.3$  a  $2.9 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ . Questa zona, si distingue come un importante centro di produttività agricola (specialmente ortofrutticola), destinata ad un consumo elevato di pesticidi, in particolar modo di glifosato (F. Sousa et al., 2019).

Ancora più elevati risultano essere i livelli di glifosato rilevati in Malesia ( $42.96 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ ), misurato però durante la sua applicazione spray (Morshed et al., 2011).

In letteratura vi sono pochi studi relativi al monitoraggio atmosferico per questi composti, che il seguente lavoro di tesi si propone di approfondire. Nella Tabella 8.1 vengono riportati i dati messi per glifosato, AMPA e glufosinato tra i siti di campionamento

di Roncade e Col Margherita ed i dati riscontrati in letteratura. Le concentrazioni rilevate sono molto differenti, soprattutto a causa dei diversi siti di campionamento, caratterizzati dalle differenti condizioni meteorologiche e sostanziale differenza nell'uso dei prodotti fitosanitari. La frazione di AMPA riscontrata in Missisipi e Iowa, in un range di concentrazione fino a  $1 \text{ ng m}^{-3}$ , viene ricondotta alla biodegradazione del glifosato ed AMPA nel suolo dopo le applicazioni del glifosato stesso (Chang et al., 2011).

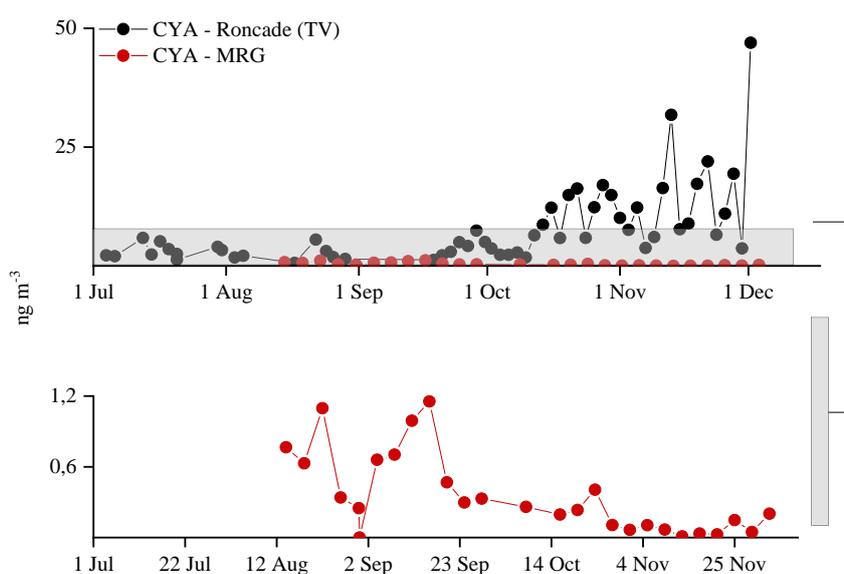
**Tabella 8.1** Livelli di concentrazione del Gly, AMPA, glufosinato tra i siti Roncade, MRG e tra i dati di letteratura. BDL = below detection limit; / = non studiato

Composto	Glifosato	AMPA	Glufosinato
Roncade	$0.1 \text{ ng m}^{-3}$	BDL	BDL
MRG	$0.006 \text{ ng m}^{-3}$	BDL	BDL
Provenza-Alpi-Costa Azzurra (Francia 2015-2016)	$1.04 \text{ ng m}^{-3}$	BDL	/
Pas-de-Calais (Francia 2004)	$0.19 \text{ ng m}^{-3}$	BDL	/
Missisipi (America settentrionale 2007-2008)	$9.1 \text{ ng m}^{-3}$	$0.49 \text{ ng m}^{-3}$	/
Malesia (Asia orientale)	$42.96 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$	/	/
Iowa (America settentrionale 2007-2008)	$5.4 \text{ ng m}^{-3}$	$0.97 \text{ ng m}^{-3}$	/
Brasile (2014)	$0.313 - 2.939 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$	/	/

## 8.2 Andamenti

Per il seguente lavoro di tesi il periodo di campionamento, condotto dal 3/07/2021 al 15/12/2021 presso Roncade e dal 14/08/2021 al 3/12/2021 presso MRG, ha consentito di raccogliere 62 campioni presso Roncade (sito rurale) e 27 campioni a MRG (sito d'alta quota), per una totalità di 89 campioni di  $\text{PM}_{10}$ . Data la mancanza di studi sulla maggior parte dei composti che vengono presentati in questo studio, i dati presentati pongono le basi per future indagini per meglio comprendere il loro impatto sulla salute dell'uomo, soprattutto per inalazione.

L'acido cianurico risulta essere il pesticida più concentrato in entrambi i siti. Questo viene utilizzato in disinfettanti, sanitizzanti, candeggina e principalmente impiegato anche per la disinfezione dell'acqua in sistemi idrici ricreativi (piscine) e si ottiene come sottoprodotto nella sintesi di melamina e urea (WHO, 2009). Come per la maggior parte dei pesticidi studiati in questo lavoro di tesi, un numero esiguo di studi hanno affrontato il monitoraggio di tale composto in atmosfera e le successive implicazioni che questo comporta per la salute umana, se inalato (Zhu & Kannan, 2020). In Figura 8.2 si può osservare come la concentrazione di acido cianurico segua un andamento crescente da ottobre a dicembre a Roncade e di conseguenza questo può essere spiegato da un probabile maggior utilizzo di fertilizzanti azotati contenenti melamina, urea o acido cianurico stesso. Questo andamento crescente rispecchia il crescente impiego di urea e acido cianurico nei vigneti in autunno (disposizioni derivanti dal Crea-Ve), che hanno dimostrato l'utilità di aggiungere fertilizzanti azotati anche in questa stagione. L'impiego, quindi, di queste sostanze nel periodo autunnale permettere di accrescere il contenuto di sostanze di riserva all'interno della pianta, delle quali essa stessa necessita specialmente nei periodi di rigidità invernale. La variabilità mostrata nell'aerosol del Col Margherita suggerisce come l'acido cianurico possa facilmente subire un trasporto atmosferico a lungo raggio data la mancanza di fonti locali note.

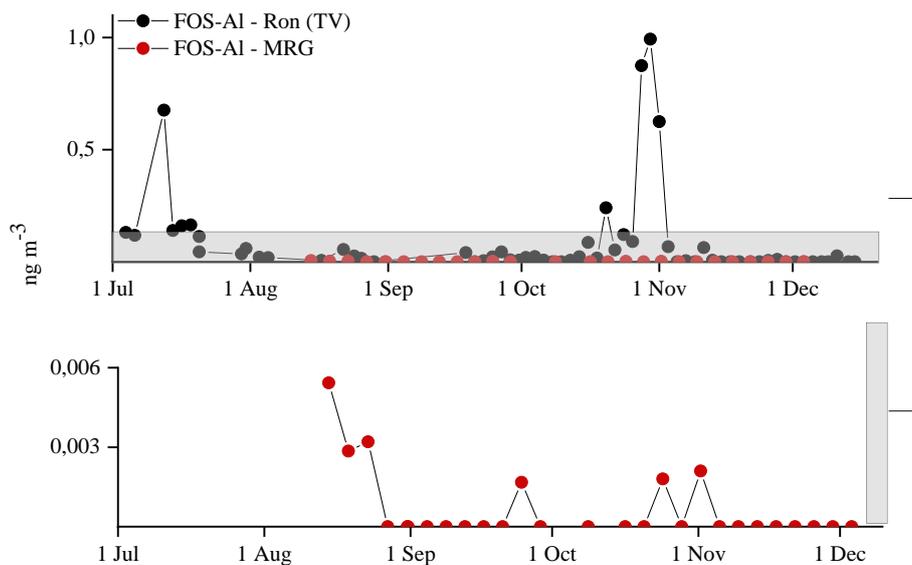


**Figura 8.2** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di acido cianurico per il sito di Roncade (nero) e del Col Margherita (rosso) nel periodo luglio - dicembre.

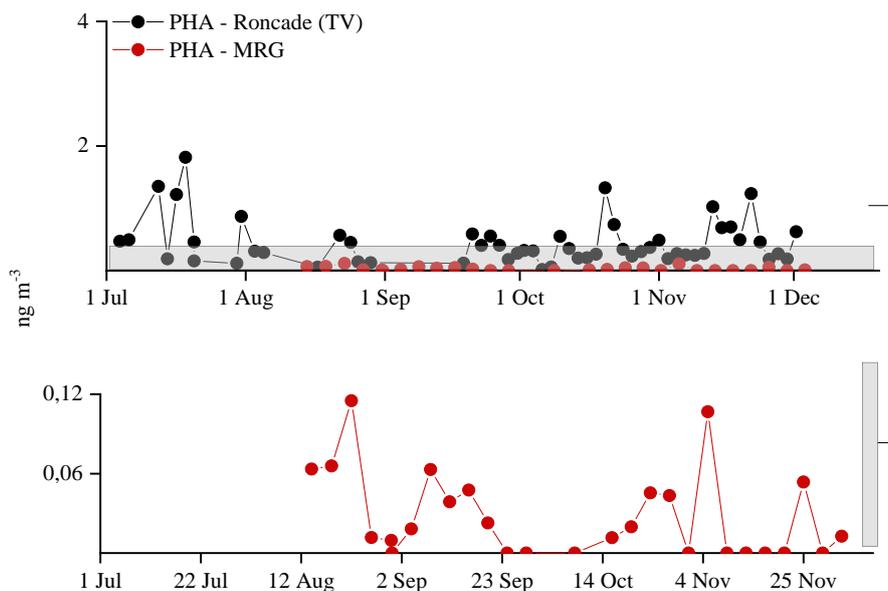
Il Fosetil-Al, un fungicida sistemico usato ampiamente nelle colture ortofrutticole, risulta essere un composto poco stabile, che può degradarsi ulteriormente in acido fosfonico (Buiarelli et al., 2018). Tuttavia, anche i residui di acido fosfonico possono derivare dall'uso di fitoprotettori fungicidi che contengono sali di acido fosfonico stesso (Gormez et al., 2021). Nelle Figure 8.3 e 8.4 si può osservare come l'acido fosfonico sia di un ordine di grandezza più concentrato rispetto al Fosetyl-Al. La fonte di acido fosfonico come metabolita prodotto nel suolo, però, può essere probabilmente esclusa (Fournier et al., 2020), dato che analogamente nel suolo viene prodotto anche il metabolita del glifosato (AMPA), che però non viene osservato nel presente lavoro.

Si può desumere come l'acido fosfonico venga utilizzato come fungicida stesso tramite applicazione fogliare e la cui concentrazione in atmosfera sia legata alla sua applicazione ed al fenomeno di *spray drift*. Un'ulteriore spiegazione riguardo a ciò è legata a possibili reazioni di fotodegradazione del Fosetil-Al, che avvengono in atmosfera a seguito della deriva dello spray.

La stabilità dell'acido fosfonico nell'aria è confermata dalla sua presenza anche al Col Margherita. L'andamento del Fosetil-Al a Roncade ha mostrato due picchi principali con una concentrazione di  $0.67 \text{ ng m}^{-3}$  (12/07/2021) e  $0.99 \text{ ng m}^{-3}$  (13/10/2021) (Figura 8.3). Questi aumenti puntuali di Fosetyl-Al sembrano essere correlati ad una applicazione spray che va alla deriva immediatamente dopo la sua applicazione, specialmente nel caso di frazioni di particelle fini che vengono trasportate dal vento favorevole (Hilz & Vermeer, 2013). Infatti, la quantità di deriva dello spray è solitamente correlata alla percentuale di goccioline fini, dato che le dimensioni inferiori consentono alle gocce di rimanere più a lungo nell'aria con conseguente possibilità di essere trasportate dal vento.



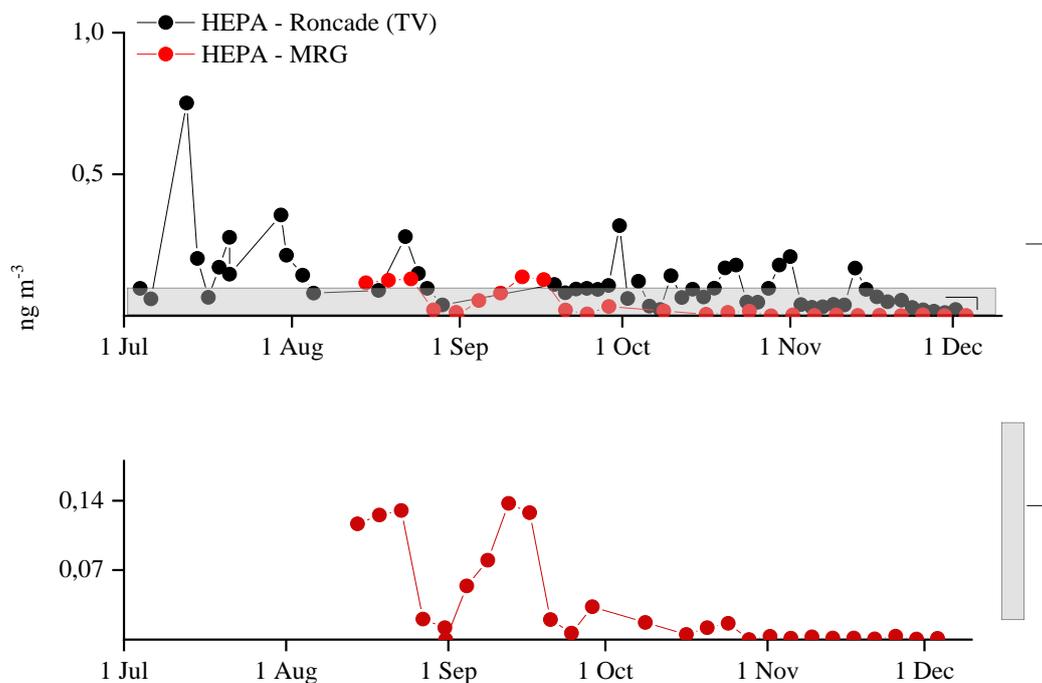
**Figura 8.3** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di Fosetil-Al per il sito di Roncade (nero) e del Col Margherita (rosso) nel periodo luglio - dicembre.



**Figura 8.4** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di acido fosfonico per il sito di Roncade (nero) e del Col Margherita (rosso) nel periodo luglio - dicembre.

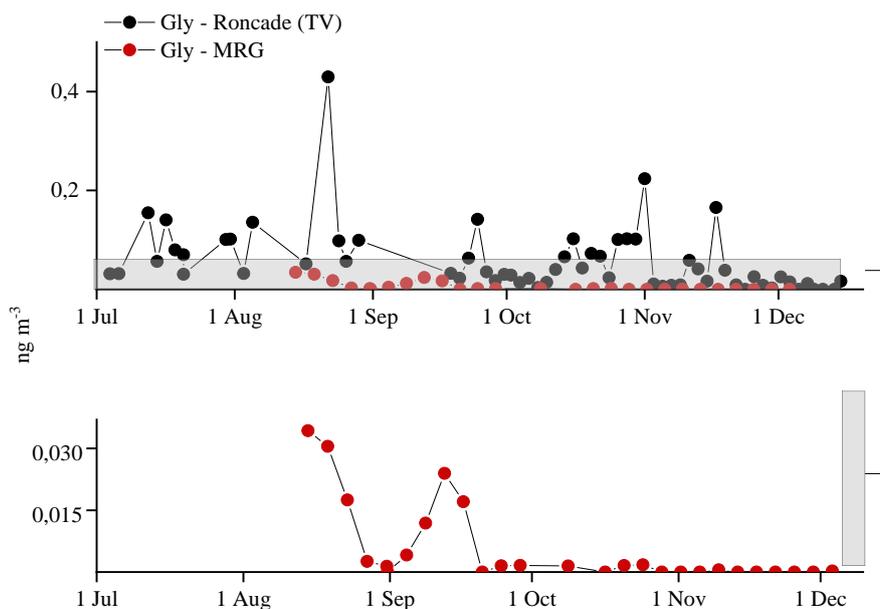
L'Autorità *European Food Safety Authority (EFSA)* ha stabilito il principale metabolita dell'etefone, quale etefone idrossido (HEPA), a seguito degli studi condotti sul metabolismo dell'etefone in colture primarie (cereali, frutta) (EFSA, 2014). Nel presente lavoro di tesi l'etefone non è mai stato rilevato, mentre l'etefone idrossido risulta avere una concentrazione media a Roncade e al Col Margherita di  $0.1 \pm 0.1 \text{ ng m}^{-3}$  e di  $0.03 \pm 0.04 \text{ ng m}^{-3}$ . Una possibile spiegazione a ciò riguarda processi di degradazione foto-ossidativi

dell'etefone in etefone idrossido che avvengono durante il trasporto atmosferico. Tuttavia, non sono ancora stati condotti attualmente degli studi sulla presenza di etefone idrossido in atmosfera e sono quindi necessari ulteriori approfondimenti a riguardo.



**Figura 8.5** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di etefone idrossido per il sito di Roncade (nero) e del Col Margherita (rosso) nel periodo luglio-dicembre.

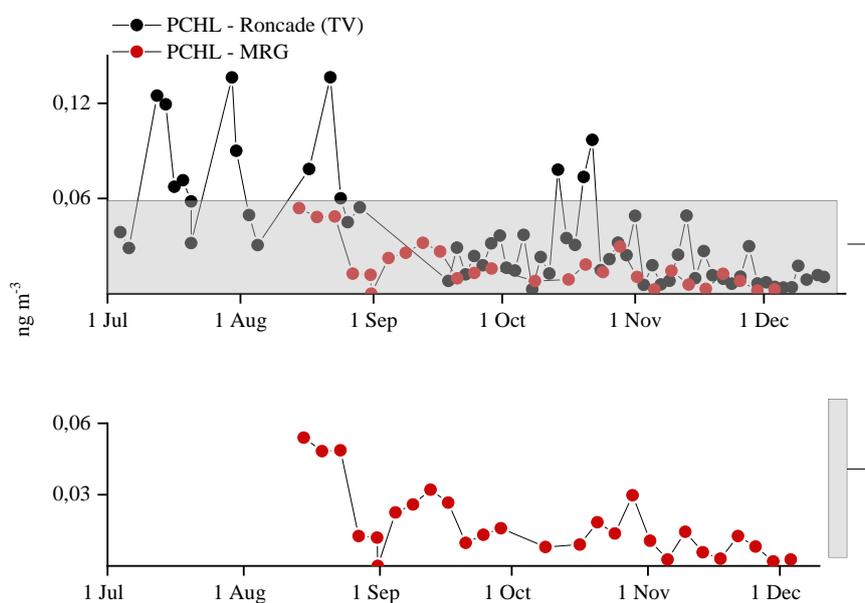
Il glifosato è l'erbicida più diffuso ed utilizzato su scala globale ed è principalmente impiegato in agricoltura. Nel periodo da luglio a dicembre, presso il sito di campionamento a Roncade, il glifosato ha mostrato un andamento caratterizzato da tre evidenti picchi (21/08  $0.43 \text{ ng m}^{-3}$ , 01/11  $0.22 \text{ ng m}^{-3}$  e 17/11  $0.16 \text{ ng m}^{-3}$ ), che sembrerebbero seguire gli stessi eventi di trasporto che sono stati descritti per il Fosetyl-Al, anche se non è stata trovata alcuna correlazione tra di loro. Si presuppone, quindi, che il glifosato che viene impiegato tramite applicazione spray, venga trasportato quasi immediatamente al sito di campionamento. La concentrazione di glifosato rilevata al Col Margherita segue un *trend* discendente, similmente a tutti gli altri pesticidi rilevati.



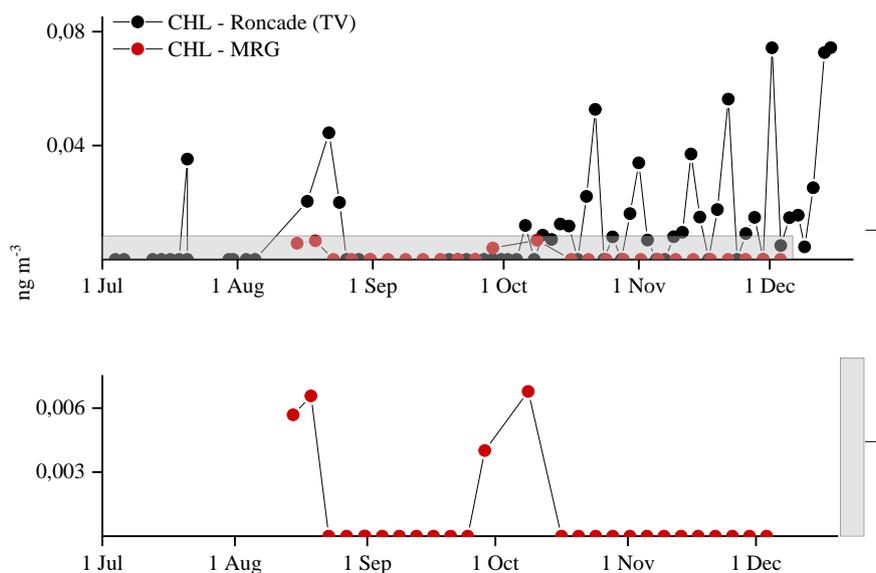
**Figura 8.6** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in ng m<sup>-3</sup> di glifosato per il sito di Roncade (nero) e del Col Margherita (rosso) nel periodo luglio – dicembre.

Il clorato (ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>) viene utilizzato per le pratiche di disinfezione e lavaggio dell'acqua, di alimenti e delle piante; mentre il perclorato ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> è un componente dei fertilizzanti naturali ed è uno dei prodotti di degradazione derivanti dai disinfettanti clorurati impiegati per il trattamento dell'acqua (EFSA 2017, Panseri et al., 2020). Clorato e perclorato possono essere originati anche da reazioni fotochimiche che avvengono nella stratosfera (Panseri et al., 2020). Entrambi possono essere prodotti da meccanismi di produzione stratosferica variabili, inclusi processi di ossidazione di Cl<sup>-</sup> mediati dall'ozono (O<sub>3</sub>) e dai raggi ultravioletti (UV) (Jackson et al., 2018). Esempi di test studiati sperimentalmente per la produzione di perclorato includono la reazione mediante irradiazione (>254 nm) di soluzioni acquose contenenti esclusivamente o una combinazione di cloro molecolare Cl<sub>2</sub>, acido ipocloroso/ipoclorito (HOCl/OCl<sup>-</sup>), clorito (ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>) e biossido di cloro (ClO<sub>2</sub>), che vengono utilizzate come soluzioni disinfettanti per il trattamento di acqua e sistemi ricreativi (piscine, linee di irrigazione) (Rao et al., 2012). Inoltre, altri esperimenti per la produzione di ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> includono le reazioni di ossidazione dell'ozono sempre di soluzioni acquose contenenti specie di cloro inorganico Cl<sup>-</sup>, HOCl/OCl<sup>-</sup>, ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>2</sub>, ma non è stata osservata la produzione mediante ossidazione di O<sub>3</sub> di ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Alcuni studi hanno riscontrato una correlazione positiva principalmente tra lo ione nitrato e lo ione perclorato in campioni di neve e d'aria (Jackson et al., 2018, Jiang et al., 2020), suggerendo che  $\text{ClO}_4^-$  può formarsi da reazioni fotochimiche, seguendo lo stesso percorso reattivo che porta alla formazione di  $\text{NO}_3^-$ . Nel seguente studio di tesi sono state riscontrate due correlazioni, di cui una tra  $\text{ClO}_4^-$  e  $\text{NO}_3^-$  ( $R^2=0.6$ ) presso il sito del Col Margherita; ed una tra  $\text{ClO}_3^-$  e  $\text{Cl}^-$  ( $R^2=0.5$ ) a Roncade. Si può desumere come un aumento significativo del cloro stratosferico, abbia causato un aumento della produzione di perclorato nella stratosfera (Jiang et al., 2016), ed analogamente a ciò una quantità significativa di  $\text{ClO}_4^-$  nell'aerosol al Col Margherita potrebbe essere di origine stratosferica. Nel sito rurale di Roncade entrambe le fonti di origine naturale ed antropogenica sono probabili, mentre al col Margherita l'origine naturale sembra essere la sorgente predominante, a causa della lontananza dalle sorgenti emissive. Il clorato risulta essere infatti una sostanza chimica importante che viene utilizzata principalmente nella depurazione dell'acqua, in disinfettanti e candeggianti.



**Figura 8.7** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di perclorato (PCHL) per il sito di Roncade (nero) e di MRG (rosso) nel periodo luglio – dicembre.



**Figura 8.8** Grafico relativo alla tendenza di concentrazione espressa in  $\text{ng m}^{-3}$  di clorato (CHL) per il sito di Roncade (nero) e di MRG (rosso) nel periodo luglio – dicembre.

### 8.3 Brezza di valle e *boundary Layer* al Col Margherita

Una spiegazione del *trend* discendente della concentrazione di pesticidi osservata presso il Col Margherita viene attribuita al fenomeno della cosiddetta “brezza di valle”. Quest’ultima è caratterizzata da un flusso di massa d’aria che risale dalle valli ai monti ed ha origine a causa del salto termico tra la valle e le cime montuose. Questo fenomeno si verifica specialmente nel periodo estivo a causa del salto termico rilevante, mentre in inverno le brezze diventano meno intense, se non assenti. Il fenomeno della brezza di valle può rappresentare, quindi, una probabile giustificazione della presenza di una maggiore concentrazione di  $\text{PM}_{10}$  e pesticidi al Col Margherita nel periodo estivo. Un’ulteriore spiegazione di questo andamento discendente viene correlata alla presenza del *boundary layer* o strato limite. Quest’ultimo consiste nella formazione di salto termico che forma una sorta di livello isolante a circa 1 km di distanza dalla terra. Questo strato rappresenta una barriera difficilmente penetrabile da ogni sostanza immessa in atmosfera a livello del suolo rendendo difficile la diffusione degli inquinanti verso l’alto. Il *boundary layer* favorisce, quindi, il ristagno in aria di sostanze indesiderate. In Figura 8.9 è riportata un’immagine di come agisce il *boundary layer* a seguito di un incendio avvenuto a Venezia Porto Marghera nel mese di dicembre 2021. Si può notare in modo evidente come il fumo emesso

dall'incendio non sia in grado di risalire oltre lo strato limite. Il *boundary layer* si stabilizza particolarmente nei periodi invernali, rendendo più difficile il trasporto di pesticidi dalla Pianura Padana ai siti d'alta montagna.



**Figura 8.9** Incendio lunedì 27 dicembre 2021 allo stabilimento della Slim Fusina Rolling, l'ex Alcoa, nell' area del Petrolchimico di Porto Marghera.

# Conclusioni

In questo lavoro di tesi è stato proposto e validato un metodo per la determinazione di quattordici pesticidi anionici tramite HPAEC/MS-MS. La messa a punto del metodo è stata affrontata inizialmente attraverso l'ottimizzazione del metodo strumentale, utilizzato poi per la validazione della metodologia preanalitica in campioni di aerosol atmosferico. La validazione per tutti gli analiti in esame è stata effettuata tramite stime di accuratezza, precisione, range di linearità, MDL ed MQL.

La principale fonte atmosferica è dovuta dall'applicazione spray con conseguente fenomeno di deriva (*spray drift*). È stata considerata invece trascurabile la risospensione dal suolo, data la mancanza della presenza di AMPA, il principale metabolita del glifosato. In particolar modo, i dati riscontrati al Col Margherita hanno mostrato una concentrazione totale media di pesticidi pari a  $0.4 \pm 0.4 \text{ ng m}^{-3}$ , con un andamento di concentrazione discendente, spiegato dal fenomeno della brezza di valle nel periodo estivo e dall'influenza del *boudary layer* nel periodo invernale. I dati riscontrati presso Roncade (TV) hanno mostrato una concentrazione totale media di pesticidi pari a  $10 \pm 10 \text{ ng m}^{-3}$ .

Le evidenze fornite dal presente lavoro di tesi pongono l'attenzione sui possibili effetti negativi che l'esposizione più o meno cronica a questi composti comporta sulla salute dell'uomo per inalazione. Infatti, si vuole concentrare l'attenzione sul monitoraggio di pesticidi presenti in atmosfera ed in particolar modo si vuole mettere in evidenza come questo risulti essere un primo studio di pesticidi polari caratterizzati contemporaneamente

nella Pianura Padana ed in un sito di alta quota situato nel versante sud-orientale delle Alpi Italiane.

A causa, inoltre, della mancanza di una regolamentazione volta a stabilire un limite massimo di quantità di pesticidi inalabili, non vi è la possibilità di poter confrontare i dati che sono stati rilevati in questo studio e di stimarne quindi la pericolosità o meno che questi composti possono arrecare all'uomo.

# Bibliografia

- Ahuja, L. R., & Lehman, O. R. (1983). *The Extent and Nature of Rainfall-soil Interaction in the Release of Soluble Chemicals to Runoff* The release and transport of soil chemicals in surface runoff is an important source of pollution for our surface waters . Several models of chemical transp. 1.
- Alba Cotroneo, C. R. et al. (2015). *Guida all' uso corretto dei prodotti fitosanitari*.
- An, H., Liu, J., Li, X., Yang, Q., Wang, D., Xie, T., Zhao, J., Xu, Q., Chen, F., Wang, Y., Yi, K., Sun, J., Tao, Z., & Zeng, G. (2018). The fate of cyanuric acid in biological wastewater treatment system and its impact on biological nutrient removal. *Journal of Environmental Management*, 206, 901–909. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.073>
- Anastassiades, M., Kolberg, D. I., Benkenstein, A., Eichhorn, E., Zechmann, S., Mack, D., Wildgrube, C., Sigalov, I., Dörk, D., & Barth, A. (2017). *Quick method for the analysis of residues of numerous highly polar pesticides in foods of plant origins via LC-MS/MS involving simultaneous extraction with methanol (QuPPE-method)*. 3(62), 1–44.
- Araujo, P. (2009). Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877(23), 2224–2234. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.09.030>
- Aris, A., & Leblanc, S. (2011). Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reproductive Toxicology*, 31(4), 528–533. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.02.004>
- ARPA, V. d'Aosta. (2020). *Qualità dell'Aria in Valle d'Aosta 2020*.

- ARPAE, 2019. (2019). *La qualità dell'ambiente in emilia-romagna*.
- ARPAV. (2017). *Vendita di prodotti fitosanitari nella Regione Veneto - Rapporto anno 2017*.
- Arvani, B., Pierce, R. B., Lyapustin, A. I., Wang, Y., Ghermandi, G., & Teggi, S. (2016). Seasonal monitoring and estimation of regional aerosol distribution over Po valley, northern Italy, using a high-resolution MAIAC product. *Atmospheric Environment*, 141, 106–121. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.06.037>
- Ballantyne, B., & Marrs, T. C. (2004). Pesticides: An Overview of Fundamentals. *Pesticide Toxicology and International Regulation*, 1, 1–23. <https://doi.org/10.1002/0470091673.ch1>
- Barbaro, E., Morabito, E., Gregoris, E., Feltracco, M., Gabrieli, J., Vardè, M., Cairns, W. R. L., Dallo, F., De Blasi, F., Zangrando, R., Barbante, C., & Gambaro, A. (2020a). Col Margherita Observatory: A background site in the Eastern Italian Alps for investigating the chemical composition of atmospheric aerosols. *Atmospheric Environment*, 221(July 2019). <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.117071>
- Barbaro, E., Morabito, E., Gregoris, E., Feltracco, M., Gabrieli, J., Vardè, M., Cairns, W. R. L., Dallo, F., De Blasi, F., Zangrando, R., Barbante, C., & Gambaro, A. (2020b). Col Margherita Observatory: A background site in the Eastern Italian Alps for investigating the chemical composition of atmospheric aerosols. *Atmospheric Environment*, 221(October 2019). <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.117071>
- Bauer, A., Luetjohann, J., Rohn, S., Kuballa, J., & Jantzen, E. (2018). Determination of Fosetyl and Phosphonic Acid at 0.010 mg/kg Level by Ion Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(1), 346–350. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03464>
- Baumbach, G., & Vogt, U. (1999). Experimental determination of the effect of mountain-valley breeze circulation on air pollution in the vicinity of Freiburg. *Atmospheric Environment*, 33(24–25), 4019–4027. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(99\)00143-0](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00143-0)
- Beard, J. (2006). DDT and human health. *Science of the Total Environment*, 355(1–3), 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.02.022>
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12302-016->

0070-0

- Bianco, P. M. (2016). *Effetti del Glifosato sulla qualità ambientale e gli organismi viventi*.
- Bigi, A., Ghermandi, G., & Harrison, R. M. (2012). Analysis of the air pollution climate at a background site in the Po valley. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(2), 552–563. <https://doi.org/10.1039/c1em10728c>
- Bliesner, D. M. (2006). *VALIDATING CHROMATOGRAPHIC METHODS A Practical Guide*.
- Bollag, J. M., Myers, C. J., & Minard, R. D. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Science of the Total Environment*, The, 123–124(C), 205–217. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90146-J](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90146-J)
- Bonasoni, P., Laj, P., Angelini, F., Arduini, J., Bonafè, U., Calzolari, F., Cristofanelli, P., Decesari, S., Facchini, M. C., Fuzzi, S., Gobbi, G. P., Maione, M., Marinoni, A., Petzold, A., Roccatò, F., Roger, J. C., Sellegri, K., Sprenger, M., Venzac, H., ... Vuillermoz, E. (2008). The ABC-Pyramid Atmospheric Research Observatory in Himalaya for aerosol, ozone and halocarbon measurements. *Science of the Total Environment*, 391(2–3), 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.024>
- Brege, M., Paglione, M., Gilardoni, S., Decesari, S., Cristina Facchini, M., & Mazzoleni, L. R. (2018). Molecular insights on aging and aqueous-phase processing from ambient biomass burning emissions-influenced Po Valley fog and aerosol. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 18(17), 13197–13214. <https://doi.org/10.5194/acp-18-13197-2018>
- Brief, F. A. (2019). *Pesticides use , pesticides trade and pesticides indicators*.
- Buiarelli, F., Di Filippo, P., Riccardi, C., Pomata, D., Marsiglia, R., Console, C., & Puri, D. (2018). Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis of Fosetyl-Aluminum in Airborne Particulate Matter. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018(Lc). <https://doi.org/10.1155/2018/8792085>
- Carter, A. (2000). How pesticides get into water - And proposed reduction measures. *Pesticide Outlook*, 11(4), 149–156. <https://doi.org/10.1039/b006243j>
- Chamkasem, N. (2017). Determination of Glyphosate, Maleic Hydrazide, Fosetyl Aluminum, and Ethephon in Grapes by Liquid Chromatography/Tandem Mass

Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(34), 7535–7541.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02419>

Chang, F. chih, Simcik, M. F., & Capel, P. D. (2011). Occurrence and fate of the herbicide glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in the atmosphere.

*Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(3), 548–555. <https://doi.org/10.1002/etc.431>

Chiodini, M. (2014). *Le piante infestanti*.

Constantinou, P., Louca-Christodoulou, D., & Agapiou, A. (2019). LC-ESI-MS/MS determination of oxyhalides (chlorate, perchlorate and bromate) in food and water samples, and chlorate on household water treatment devices along with perchlorate in plants. *Chemosphere*, 235, 757–766. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.180>

Cooper, J., & Dobson, H. (2007). The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection*, 26(9), 1337–1348.

<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.03.022>

Cozic, J., Verheggen, B., Wiangartner, E., Crosier, J., Bower, K. N., Flynn, M., Coe, H., Henning, S., Steinbacher, M., Henne, S., Collaud Coen, M., Petzold, A., & Baltensperger, U. (2008). Chemical composition of free tropospheric aerosol for PM1 and coarse mode at the high alpine site Jungfraujoch. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 8(2), 407–423. <https://doi.org/10.5194/acp-8-407-2008>

Damrosch, L. F. (2004). Treaties and International Regulation. In *Proceedings of the ASIL Annual Meeting* (Vol. 98). <https://doi.org/10.1017/s0272503700061644>

Dann, E., & McLeod, A. (2021). Phosphonic acid: a long-standing and versatile crop protectant. *Pest Management Science*, 77(5), 2197–2208. <https://doi.org/10.1002/ps.6156>

Della, C., Al, C., Parlamento, A. L., Al, E. E., & Economico, C. (2002). *Verso una strategia tematica per l'uso sostenibile dei pesticidi*. 1–45.

Duke, S. O. (2011). Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and -susceptible crops and weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 5835–5841.

<https://doi.org/10.1021/jf102704x>

Eddleston, M., Karalliedde, L., Buckley, N., Fernando, R., Hutchinson, G., Isbister, G., Konradsen, F., Murray, D., Piola, J. C., Senanayake, N., Sheriff, R., Singh, S., Siwach, S.

- B., & Smit, L. (2002). Pesticide poisoning in the developing world - A minimum pesticides list. *Lancet*, 360(9340), 1163–1167. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11204-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11204-9)
- EFSA, 2014. (2014). Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for ethephon in table olive and table grape. *EFSA Journal*, 12(5), 1–22. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3698>
- Eith et al., C. (2003). *Cromatografia Ionica Applicata . Un'introduzione Dipl . - Ing . Claudia Eith Prof . Dr . Andreas Seubert Dr . Kai Henning Viehweger ( Editor )*.
- El-Okazy, A. M. (2008). The Effects of Combination of Gibberellic Acid - 3 (GA3) and Ethephon (2-Chloroethyl Phosphonic Acid) (Plant Growth Regulators) on Some Physiological Parameters in Mice. *The Journal of the Egyptian Public Health Association*, 83(1–2), 67–86. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18992204>
- Ettre, L. S. (1993). Nomenclature for chromatography (iupac recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry*, 65(4), 819–872. <https://doi.org/10.1351/pac199365040819>
- F. Sousa et al. (2019). Evaluation of the atmospheric contamination level for the use of herbicide glyphosate in the northeast region of Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(10). <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7764-x>
- Fallis, A. . (2013). Pesticide Application and Safety Training for Applicators of Public Health Pesticides. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Finardi, S., & Pellegrini, U. (2004). Systematic analysis of meteorological conditions causing severe urban air pollution episodes in the central Po valley. *9th Int. Conf. on Harmonisation within Atmospheric Dispersion Modelling for Regulatory Purposes*, 2, 250–254.
- Fishel, F. M., & Ferrell, J. A. (2010). Managing Pesticide Drift. *UF/IFAS Extension*, PI232, 1–16. <https://edis.ifas.ufl.edu/pi232>
- Fournier, B., Pereira Dos Santos, S., Gustavsen, J. A., Imfeld, G., Lamy, F., Mitchell, E. A. D., Mota, M., Noll, D., Planchamp, C., & Heger, T. J. (2020). Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a biopesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Science of the*

- Total Environment*, 738, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139635>
- Gangemi, S., Miozzi, E., Teodoro, M., Briguglio, G., De Luca, A., Alibrando, C., Polito, I., & Libra, M. (2016). Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans (Review). *Molecular Medicine Reports*, 14(5), 4475–4488. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5817>
- Gavrilescu, M. (2005). Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, 5(6), 497–526. <https://doi.org/10.1002/elsc.200520098>
- Giesy, J. P., Dobson, S., & Solomon, K. R. (2000). Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167, 35–120. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1156-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1156-3_2)
- Gil, Y., & Sinfort, C. (2005). Emission of pesticides to the air during sprayer application: A bibliographic review. *Atmospheric Environment*, 39(28), 5183–5193. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.05.019>
- Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. *JOGNN - Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing*, 39(1), 103–110. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.2009.01092.x>
- Gill, J. P. K., Sethi, N., Mohan, A., Datta, S., & Girdhar, M. (2018). Glyphosate toxicity for animals. *Environmental Chemistry Letters*, 16(2), 401–426. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0689-0>
- Gormez, E., Golge, O., & Kabak, B. (2021). Quantification of fosetyl-aluminium/phosphonic acid and other highly polar residues in pomegranates using Quick Polar Pesticides method involving liquid chromatography-tandem mass spectrometry measurement. *Journal of Chromatography A*, 1642, 462038. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462038>
- Grandcoin, A., Piel, S., & Baurès, E. (2017). AminoMethylPhosphonic acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate. *Water Research*, 117, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.055>
- Gupta, P. K. (2018). Toxicity of Herbicides. In *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles: Third Edition* (Third Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12->

811410-0.00044-1

- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>
- Heyder, J., & Porstendorfer, J. (1974). *Comparison of optical and centrifugal aerosol spectrometry: liquid and non-spherical particles*. 5(May), 387–400.
- Hilz, E., & Vermeer, A. W. P. (2013). Spray drift review: The extent to which a formulation can contribute to spray drift reduction. *Crop Protection*, 44, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.10.020>
- Huang, B. et al. (2018). *Determination of organic acids in herbal beverages using a compact ion chromatography system coupled with mass spectrometry*. 1–22.
- ISPRA. (2020). *National report on pesticides in water, 2017-2018 (in Italian)*.
- Jackson, W. A., Wang, S., Rao, B., Anderson, T., & Estrada, N. L. (2018). Heterogeneous Production of Perchlorate and Chlorate by Ozone Oxidation of Chloride: Implications on the Source of (Per)Chlorate in the Solar System. *ACS Earth and Space Chemistry*, 2(2), 87–94. <https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.7b00087>
- Jenke, D. R. (1996). Chromatographic method validation: A review of current practices and procedures. II. Guidelines for primary validation parameters. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 19(5), 737–757. <https://doi.org/10.1080/10826079608005534>
- Jia, G., Xu, J., Long, X., Ge, S., Chen, L., Hu, D., & Zhang, Y. (2019). Enantioselective Degradation and Chiral Stability of Glufosinate in Soil and Water Samples and Formation of 3-Methylphosphinicopropionic Acid and N-Acetyl-glufosinate Metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(41), 11312–11321. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01028>
- Jiang, S., Cole-Dai, J., An, C., Shi, G., Yu, J., & Sun, B. (2020). Spatial variability of perchlorate in East Antarctic surface snow: Implications for atmospheric production. *Atmospheric Environment*, 238(451), 117743. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.117743>

- Jiang, S., Cox, T. S., Cole-Dai, J., Peterson, K. M., & Shi, G. (2016). Trends of perchlorate in Antarctic snow: Implications for atmospheric production and preservation in snow. *Geophysical Research Letters*, 43(18), 9913–9919. <https://doi.org/10.1002/2016GL070203>
- Karabelas, A. J., Plakas, K. V., Solomou, E. S., Drossou, V., & Sarigiannis, D. A. (2009). Impact of European legislation on marketed pesticides - A view from the standpoint of health impact assessment studies. *Environment International*, 35(7), 1096–1107. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.06.011>
- Kettlitz, B., Kemendi, G., Thorgrimsson, N., Cattoor, N., Verzegnassi, L., Le Bail-Collet, Y., Maphosa, F., Perrichet, A., Christall, B., & Stadler, R. H. (2016). Why chlorate occurs in potable water and processed foods: a critical assessment and challenges faced by the food industry. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 33(6), 968–982. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1184521>
- Klein, A. W., Goedicke, J., Klein, W., Herrchen, M., & Kördel, W. (1993). Environmental assessment of pesticides under Directive 91/414/EEC. *Chemosphere*, 26(5), 979–1001. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90372-C](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90372-C)
- Klöpffer, W., Kaufmann, G., & Frank, R. (1985). Phototransformation of Air Pollutants: Rapid Test for the Determination of kOH. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section A Journal of Physical Sciences*, 40(7), 686–692. <https://doi.org/10.1515/zna-1985-0706>
- Long, L., Bu, Y., Chen, B., & Sadiq, R. (2019). Removal of urea from swimming pool water by UV/VUV: The roles of additives, mechanisms, influencing factors, and reaction products. *Water Research*, 161, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.098>
- Madhun, Y. A., & Freed, V. H. (2018). Impact of pesticides on the environment. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*, 2, 429–466. <https://doi.org/10.2136/sssabookser2.c12>
- Maggi, F., Tang, F. H. M., la Cecilia, D., & McBratney, A. (2019). PEST-CHEMGRIDS, global gridded maps of the top 20 crop-specific pesticide application rates from 2015 to 2025. *Scientific Data*, 6(1), 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0169-4>
- Marcazzan, G. M., Vaccaro, S., Valli, G., & Vecchi, R. (2001). Characterisation of PM10 and

- PM2.5 particulate matter in the ambient air of Milan (Italy). *Atmospheric Environment*, 35(27), 4639–4650. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00124-8)
- Marconi, A. (2003). Materiale particolato aerodisperso: Definizioni, effetti sanitari, misura e sintesi delle indagini ambientali effettuate a Roma. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 39(3), 329–342.
- Marín, J. M., Pozo, Ó. J., Beltrán, J., & Hernández, F. (2006). An ion-pairing liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of ethephon residues in vegetables. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(3), 419–426. <https://doi.org/10.1002/rcm.2321>
- Mathieu, C. M., & Ossendorp, B. C. (2005). *Glyphosate (158) and metabolites*. 158, 91.
- Mazzola, M., Lanconelli, C., Lupi, A., Busetto, M., Vitale, V., & Tomasi, C. (2010). Columnar aerosol optical properties in the Po Valley, Italy, from MFRSR data. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 115(17), 1–17. <https://doi.org/10.1029/2009JD013310>
- McMurry, P. H. (2002). Chapter 17 A review of atmospheric aerosol measurements. *Developments in Environmental Science*, 1(C), 443–517. [https://doi.org/10.1016/S1474-8177\(02\)80020-1](https://doi.org/10.1016/S1474-8177(02)80020-1)
- Md Meftaul, I., Venkateswarlu, K., Dharmarajan, R., Annamalai, P., & Megharaj, M. (2020). Pesticides in the urban environment: A potential threat that knocks at the door. *Science of the Total Environment*, 711, 134612. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134612>
- Mesnage, R., & Séralini, G.-E. (2018). Editorial: Toxicity of Pesticides on Health and Environment. *Frontiers in Public Health*, 6, 2–5. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00268>
- Mfarrej, M. F. B., & Rara, F. M. (2019). Competitive, Sustainable Natural Pesticides. *Acta Ecologica Sinica*, 39(2), 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2018.08.005>
- Mojiri, A., Zhou, J. L., Robinson, B., Ohashi, A., Ozaki, N., Kindaichi, T., Farraji, H., & Vakili, M. (2020). Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. *Chemosphere*, 253, 126646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126646>
- Morshed, M. M. O., Omar, D., Mohamad, R. B., & Wahed, S. B. A. (2011). Determination of

glyphosate through passive and active sampling methods in a treated field atmosphere. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17), 4010–4018.

<https://doi.org/10.5897/AJAR11.533>

Müller, B. P., Zumdick, A., Schuphan, I., & Schmidt, B. (2001). Metabolism of the herbicide glufosinate-ammonium in plant cell cultures of transgenic (rhizomania-resistant) and non-transgenic sugarbeet (*Beta vulgaris*), carrot (*Daucus carota*), purple foxglove (*Digitalis purpurea*) and thorn apple (*Datura stramonium*). *Pest Management Science*, 57(1), 46–56. [https://doi.org/10.1002/1526-4998\(200101\)57:1<46::AID-PS256>3.3.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1526-4998(200101)57:1<46::AID-PS256>3.3.CO;2-T)

Müller, P., Morys, M., Sut, A., Jäger, C., Illerhaus, B., & ScharTEL, B. (2016). Melamine poly(zinc phosphate) as flame retardant in epoxy resin: Decomposition pathways, molecular mechanisms and morphology of fire residues. *Polymer Degradation and Stability*, 130, 307–319. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.06.023>

Muñoz Guerra, M. F., Amat, C. G., Campo, F. R., & Pérez, J. S. (2002). Solitary fibrous tumor of the parotid gland: A case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 94(1), 78–82. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.121990>

Nørskov, N. P., Jensen, S. K., & Sørensen, M. T. (2019). Robust and highly sensitive micro liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for analyses of polar pesticides (glyphosate, aminomethylphosphonic acid, N-acetyl glyphosate and N-acetyl aminomethylphosphonic acid) in multiple biological matrices. *Journal of Chromatography A*, 1605. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.06.064>

O Duke, S., & B Powles, S. (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*, 63(11), 1100–1106. <https://doi.org/10.1002/ps>

Ocean, A. (2007). *Concentrations of Glyphosate, Its Degradation Product, Aminomethylphosphonic Acid, and Glufosinate in Ground- and Surface-Water, Rainfall, and Soil Samples Collected in the United States, 2001–06*.

Padilla, J. T. (2020). Environmental behavior of glyphosate in soils. In *Advances in Agronomy* (1st ed., Vol. 159). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.07.005>

Panseri, S., Nobile, M., Arioli, F., Biolatti, C., Pavlovic, R., & Chiesa, L. M. (2020).

Occurrence of perchlorate, chlorate and polar herbicides in different baby food

- commodities. *Food Chemistry*, 330(December 2019), 127205.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127205>
- Paris, P., Bisceglie, S., & Esposito, D. (2017). *Monitoraggio nazionale dei pesticidi nelle acque. Indicazioni per la scelta delle sostanze* (Issue June).
- Pietrzak, D., Kania, J., Malina, G., Kmiecik, E., & Wątor, K. (2019). Pesticides from the EU First and Second Watch Lists in the Water Environment. *Clean - Soil, Air, Water*, 47(7).  
<https://doi.org/10.1002/clen.201800376>
- Pokhrel, B., Gong, P., Wang, X., Chen, M., Wang, C., & Gao, S. (2018). Distribution, sources, and air–soil exchange of OCPs, PCBs and PAHs in urban soils of Nepal. *Chemosphere*, 200, 532–541. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.119>
- Ponnampalam, R., Mondy, N. I., & Babish, J. G. (1983). A review of environmental and health risks of maleic hydrazide. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 3(1), 38–47.  
[https://doi.org/10.1016/0273-2300\(83\)90048-X](https://doi.org/10.1016/0273-2300(83)90048-X)
- Prospero, J. M., Charlson, R. J., Mohnen, V., Jaenicke, R., Delany, A. C., Moyers, J., Zoller, W., & Rahn, K. (1983). The atmospheric aerosol system: An overview. *Reviews of Geophysics*, 21(7), 1607–1629. <https://doi.org/10.1029/RG021i007p01607>
- Putaud, J. P., Cavalli, F., Dos Santos, M., & Dell’Acqua, A. (2014). Long-term trends in aerosol optical characteristics in the Po Valley, Italy. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14(17), 9129–9136. <https://doi.org/10.5194/acp-14-9129-2014>
- Putaud, Jean P., Raes, F., Van Dingenen, R., Brüggemann, E., Facchini, M. C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hüglin, C., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Mihalopoulos, N., Müller, K., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., Spindler, G., Ten Brink, H., ... Wiedensohler, A. (2004). A European aerosol phenomenology - 2: Chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmospheric Environment*, 38(16), 2579–2595.  
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.01.041>
- Rao, B., Estrada, N., McGee, S., Mangold, J., Gu, B., & Jackson, W. A. (2012). Perchlorate production by photodecomposition of aqueous chlorine solutions. *Environmental Science and Technology*, 46(21), 11635–11643. <https://doi.org/10.1021/es3015277>

- Ribas, G., Surrallés, J., Carbonell, E., Xamena, N., Creus, A., & Marcos, R. (1996). Genotoxicity of the herbicides alachlor and maleic hydrazide in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis*, *11*(3), 221–227. <https://doi.org/10.1093/mutage/11.3.221>
- She, D. M., Yu, H. L., Huang, Q. L., Li, F. M., & Li, C. J. (2010). Liquid-phase synthesis of cyanuric acid from urea. *Molecules*, *15*(3), 1898–1902. <https://doi.org/10.3390/molecules15031898>
- Turpin, B. J., & Huntzicker, J. J. (1991). Secondary formation of organic aerosol in the Los Angeles basin: A descriptive analysis of organic and elemental carbon concentrations. *Atmospheric Environment Part A, General Topics*, *25*(2), 207–215. [https://doi.org/10.1016/0960-1686\(91\)90291-E](https://doi.org/10.1016/0960-1686(91)90291-E)
- Ueda Yamaguchi, N., Bergamasco, R., & Hamoudi, S. (2016). Magnetic MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-graphene hybrid composite for efficient removal of glyphosate from water. *Chemical Engineering Journal*, *295*, 391–402. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.03.051>
- Van Bruggen, A. H. C., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R., & Morris, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*, *616–617*, 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- Van Den Berg, F., Kubiak, R., Benjey, W. G., Majewski, M. S., Yates, S. R., Reeves, G. L., Smelt, J. H., & Van Der Linden, A. M. A. (1999). Emission of pesticides into the air. *Water, Air, and Soil Pollution*, *115*(1–4), 195–218. <https://doi.org/10.1023/A:1005234329622>
- Vardè, M., Dallo, F., Cairns, W. R. L., De Blasi, F., & Maffezzoli, N. (2019). A survey of total gaseous mercury and ozone during spring and summer 2018 after characterization of air masses at the Col Margherita Atmospheric Observatory ( 2543 m a . s . l . ) in the Italian Dolomites. *Geophysical Research Abstracts EGU General Assembly*, *21*(5), 17017.
- Voutsas, E., Vavva, C., Magoulas, K., & Tassios, D. (2005). Estimation of the volatilization of organic compounds from soil surfaces. *Chemosphere*, *58*(6), 751–758. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.09.057>
- W.Addo J.Van Pul et al. (1994). *Atmospheric transport and deposition of pesticides: an assessment of current knowledge.*

- Wang, L., Fei, T., Qi, D., Sha, Y., Wu, D., & Liu, B. (2015). Development of microwave-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of maleic hydrazide residues in tobacco. *Analytical Methods*, 7(12), 5103–5107. <https://doi.org/10.1039/c5ay00187k>
- Weichenthal, S., Moase, C., & Chan, P. (2010). A review of pesticide exposure and cancer incidence in the agricultural health study cohort. *Environmental Health Perspectives*, 118(8), 1117–1125. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901731>
- Whitey, K. T. (2007). The physical characteristics of sulfur aerosols. *Atmospheric Environment*, 41(SUPPL.), 25–49. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.10.057>
- WHO. (2009). Toxicological and health aspects of melamine and cyanuric acid. *World Health Organisation, December 2008*, 1–66. [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44106/9789241597951\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44106/9789241597951_eng.pdf?sequence=1)
- Willis, G. H., & McDowell, L. L. (1982). Pesticides in agricultural runoff and their effects on downstream water quality. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1(4), 267–279. <https://doi.org/10.1002/etc.5620010402>
- Zhu, H., & Kannan, K. (2020). Occurrence and distribution of melamine and its derivatives in surface water, drinking water, precipitation, wastewater, and swimming pool water. *Environmental Pollution*, 258, 113743. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113743>



# Appendice A

**Tabella A.1** Parametri MS/MS per ciascun analita del potenziale di cono per la modalità *full scan* in Q1 e del potenziale di cella nella modalità *daughter ion scan*.

Composto	Peso molecolare (g/mol)	Q1 (m/z)	Cono (V)	Q3 (m/z)	Cella di collisione (V)
Glyphosate	169.07	168.00	41	150.04	11
				123.80	12
AMPA	111.04	109.90	43	78.98	17
				80.98	14
N-acetyl AMPA	153.07	151.87	46	110.71	12
				151.87	5
Glufosinate	181.13	179.81	43	136.06	17
				118.94	16
N-acetyl glufosinate	223.16	221.73	43	135.92	20
				180.12	18
MPPA	152.09	150.82	49	132.95	12
				107.03	13
FOS-Al	354.10	108.86	45	80.92	12
				63.15	21
Phosphonic	82.00	80.99	45	79.00	12
				63.06	21
Ethephon	144.50	142.54	42	107.16	11
				79.09	13
HEPA	126.05	125.00	44	78.94	14
				95.01	12

				81.86	17
Maleic hydrazide	112.07	110.79	44	55.15	15
				84.95	9
Cyanuric	129.07	127.82	44	42.00	11
				67.07	18
Chlorate	83.45	82.87	48	51.16	23
				82.87	24
Perchlorate	99.45	98.93	44	66.98	32
				151.90	10
Glyphosate*	171.06	170.00	45	125.90	13
				80.87	12
AMPA*	113.02	112.00	44	78.99	19
				81.86	15
FOS-Al*	369.20	113.98	43	663.09	22

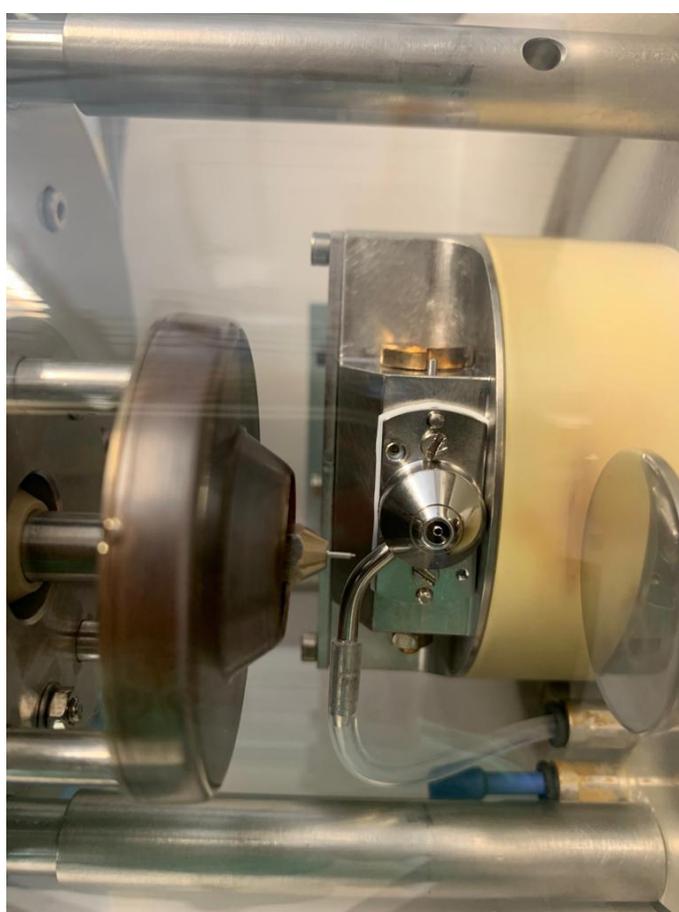
---



**Figura A.1** Campionatore Tecora di PM<sub>10</sub> presso il sito rurale di Roncade (TV).



**Figura A.2** Stazione MRG (agosto 2021).



**Figura A.3** Sorgente Z-Spray (ESI) dello Spettrometro di Massa Quadrupolo-Esapolo-Quadrupolo (QH) Quattro Ultima (*Waters Corporation<sup>TM</sup>, Milford, MA, USA*).



# Ringraziamenti

Ora, a compimento della mia relazione sento di dover porgere un sentito riconoscimento e vera gratitudine al Prof. Andrea Gambaro per la Sua grande disponibilità nell'avermi presentato e spiegato questo nuovo progetto e percorso di studio, di importanza sicuramente rilevante in ambito ambientale, e che per me è stato decisamente molto coinvolgente.

Ma un ringraziamento del tutto particolare e speciale –se posso dirlo- va ai miei Tutor, Matteo ed Elena che sono stati i miei mentori e guida costante ed essenziale, e a cui devo veramente tanto non solo per avermi trasmesso nuove conoscenze e competenze in materia, ma per avermi sempre e costantemente supportata e infuso fiducia ed aiuto nel superare e venire a capo di difficoltà ovviamente incontrate, insicurezze ed anche timori, in questo periodo non certo facile che stiamo attraversando.

Non è stato solo un semplice percorso di studio ma un insieme di esperienze, ad es. le proverbiali uscite a Roncade con i problemi di funzionamento del campionatore (e relative maledizioni!) che mi hanno arricchito anche sul piano umano e relazionale e che ricorderò sempre con immenso piacere. Per certo questo è sì un punto di arrivo, ma soprattutto l'inizio di un nuovo capitolo di vita che si apre con i suoi ostacoli, i piccoli e grandi (speriamo) traguardi, come questo raggiunto grazie alla Vs. passione e dedizione che avete sempre trasmesso.

Vi ringrazio.

Francesca.