



Università
Ca' Foscari
Venezia

UNIVERSITÀ CA' FOSCARI VENEZIA

Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi

Tesi di Laurea Magistrale in
Chimica e Tecnologie Sostenibili

Determinazione di ritardanti di fiamma organofosfati in aerosol atmosferico alpino

Relatore:

Prof. Matteo Feltracco

Correlatore:

Dott.ssa Eleonora Favaro

Laureanda:

Serena Barro

Matricola: 881191

Anno Accademico 2023-2024



Università
Ca' Foscari
Venezia

UNIVERSITÀ CA' FOSCARI VENEZIA

Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi

Tesi di Laurea Magistrale in
Chimica e Tecnologie Sostenibili

Determinazione di ritardanti di fiamma organofosfati in aerosol atmosferico alpino

Relatore:

Prof. Matteo Feltracco

Correlatore:

Dott.ssa Eleonora Favaro

Laureanda:

Serena Barro

Matricola: 881191

Anno Accademico 2023-2024

Traccia la tua rotta verso una stella e supererai qualsiasi tempesta.

- Leonardo da Vinci

Indice

Scopo della tesi	1
1 Aerosol Atmosferico	3
1.1 Definizione e caratteristiche	3
1.2 Composizione chimica dell'aerosol e inquinanti emergenti	6
1.3 Effetti sulla salute umana, sull'ecosistema e sul clima	9
1.4 Processi in atmosfera e trasporto in alta montagna	9
2 Analiti	13
2.1 I ritardanti di fiamma	13
2.1.1 Principio di funzionamento	13
2.1.2 Classificazione	15
2.2 Ritardanti di fiamma organofosfati	16
2.2.1 Struttura	17
2.2.2 Meccanismo d'azione	17
2.2.3 Applicazioni e mercato	18
2.2.4 Analiti	19
2.2.5 Destino ambientale	23
2.2.6 Tossicità e metabolismo degli OPFR	26
3 Lo strumento	29
3.1 High Performance Liquid Chromatography - HPLC	29
3.2 Spettrometro di massa	32
3.2.1 Sorgente	33
3.2.2 Analizzatore	34
3.2.3 Detector	36
4 Aspetti teorici del metodo analitico	37
4.1 Metodo strumentale di spettrometria di massa	37
4.2 Metodo strumentale cromatografico	37
4.3 Preanalitica	38
4.4 Validazione del metodo	38
4.5 Quantificazione	40

5	Campionamento	41
5.1	Sito di campionamento	41
5.2	Campionatore	42
5.3	Campionamento	43
6	Messa a punto del metodo analitico	45
6.1	Standard e materiali	45
6.2	Sviluppo del metodo strumentale	46
6.2.1	Metodo strumentale spettrometria di massa	46
6.2.2	Metodo strumentale cromatografico	50
6.2.3	Ottimizzazione della sorgente H-ESI	56
6.3	Risposta strumentale	56
6.3.1	Linearità	57
6.3.2	Limiti di rilevabilità e quantificazione strumentali	58
6.4	Preanalitica	59
6.5	Validazione del metodo	60
7	Risultati e discussione	63
7.1	Elaborazione dei dati	63
7.2	OPFR nell'aerosol montano	64
7.3	Sorgenti OPFR	66
7.4	Andamenti annuali e stagionali dei OPFR	68
7.5	Andamento del PM ₁₀	73
7.6	Correlazioni tra gli analiti e i parametri meteorologici	75
8	Conclusioni	77
	Appendice A	79
	Riferimenti bibliografici	81

Scopo della tesi

Lo scopo del presente lavoro di tesi consiste nella messa a punto di una metodologia analitica per la determinazione di sei ritardanti di fiamma organofosfati in campioni di aerosol atmosferico alpino mediante cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata a spettrometria di massa tandem.

Il metodo strumentale è stato verificato attraverso la linearità della risposta, limiti di determinazione e quantificazione.

La procedura preanalitica è stata validata per ciascun analita, valutando i valori medi di bianco, accuratezza, precisione, resa, *method determination limits* e *method quantitation limits*.

Il campionamento del aerosol è stato condotto presso l'Osservatorio del Col Margherita (Falcade, BL) da settembre 2022 a ottobre 2023, con l'obiettivo di valutare la presenza dei ritardanti di fiamma organofosfati. Considerando che non sono legati chimicamente ai materiali a cui vengono applicati, essi possono essere rilasciati in ambiente per volatilizzazione, abrasione e dissoluzione. Commercializzati come alternativa ai polibromodifenileteri, la loro determinazione è di interesse ambientale soprattutto considerando siti remoti, come quello oggetto della presente tesi.

1 Aerosol Atmosferico

1.1 Definizione e caratteristiche

L'aerosol è definito come una sospensione di particelle (organiche ed inorganiche) liquide e/o solide disperse in un gas; nel caso dell'aerosol atmosferico, il mezzo gassoso è l'atmosfera stessa [1]. Questa sospensione può essere costituita da una varietà di particelle di diversa dimensione, forma e composizione in funzione della loro origine. Tradizionalmente vengono distinte quattro grandi classi di particelle: polveri, fumi, smog o fuliggine e nebbie[1, 2].

In atmosfera le particelle sono polidisperse, in quanto variano in diametro da alcuni nanometri a centinaia di micrometri, e raramente sono presenti come monodisperse, cioè con stesso diametro. Inoltre, a seconda della forma, le particelle si distinguono in isometriche (con forma sferica), discoidali e fibre (aghiiformi). Per studiare la distribuzione granulometrica dell'aerosol, le forme irregolari delle particelle che lo compongono vengono approssimate alla forma sferica attraverso l'uso del "diametro aerodinamico" (Da). Il "diametro aerodinamico" è definito come il diametro di una particella sferica di densità unitaria (1 g cm^{-3}) che ha la stessa velocità di sedimentazione e comportamento fisico di una particella reale, nelle stesse condizioni di temperatura, pressione e umidità relativa [3].

Sulla base del diametro del particolato, è possibile distinguere le seguenti frazioni:

- frazione ultrafine (*ultrafine fraction*), caratterizzata da particelle con diametro fino a $0.1 \mu\text{m}$;
- frazione fine (*fine fraction*), costituita da particelle di diametro compreso tra 0.1 e $2.5 \mu\text{m}$;
- frazione grossolana (*coarse fraction*), che comprende particelle con diametro tra 2.5 e $100 \mu\text{m}$.

Le dimensioni delle particelle sono uno dei parametri fondamentali per determinare l'origine e il comportamento dell'aerosol, in quanto la sua composizione chimica e il suo tempo di permanenza in atmosfera sono strettamente correlati al diametro delle particelle [2]. Ad esempio solfati, ammonio, carbonio organico ed elementare e alcuni metalli di transizione si trovano prevalentemente nella frazione fine e ultrafine [4],

mentre magnesio, calcio, silicio, alluminio, ferro (che costituiscono il materiale cristallino) e le particelle come pollini, spore e frammenti di piante (che definiscono il materiale organico biogenico) solitamente sono presenti nella frazione grossolana [4]. L'unica eccezione è rappresentata dai nitrati, che si trovano distribuiti in maniera più o meno omogenea nelle varie frazioni [4].

La distribuzione granulometrica dell'aerosol atmosferico può essere descritta con un modello trimodale (Figura 1.1), in cui si distinguono la moda di nucleazione, la moda di accumulazione e la moda grossolana. Le tre mode sono correlate ai tre principali meccanismi di formazione del particolato (Figura 1.2). La moda di nucleazione si riferisce alla frazione ultrafine, che si forma per nucleazione omogenea di vapori sovrassaturi. Le particelle ultrafini coagulano, generando la frazione fine rappresentata dalla moda di accumulazione. La frazione fine può derivare anche da processi di conversione gas-particella, ovvero da reazioni tra gas atmosferici e agenti ossidanti con la formazione di prodotti meno volatili (nucleazione eterogenea), o dalla condensazione di specie gassose su particelle preesistenti appartenenti alla stessa classe granulometrica (adsorbimento) [1, 2, 5]. La frazione grossolana (moda grossolana) viene prodotta da processi meccanici quali l'erosione, la risospensione da parte del vento, l'immissione di spray marino e la frantumazione di particelle di dimensioni maggiori.

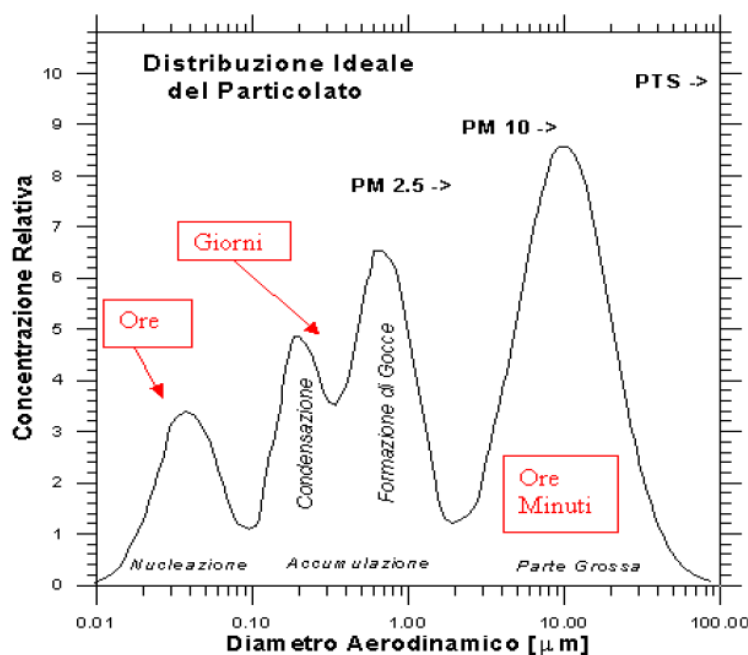


Figura 1.1: Mode di distribuzione dimensionale del particolato.

Oltre che per la dimensione delle particelle che lo compongono, l'aerosol può essere suddiviso anche in particolato primario e secondario in funzione dei processi che lo hanno generato. L'aerosol primario è costituito dalle particelle emesse direttamente in atmosfera in seguito a processi meccanici di erosione, dilavamento e rottura di particelle grossolane, emissione di spray marino in prossimità delle coste, processi di combustione e attività antropiche industriali, urbane o domestiche [6, 2]; esso è costituito sia da particelle fini che grossolane [7]. L'aerosol secondario deriva invece da reazioni tra particelle primarie o dalla conversione dei gas in particelle solide [2]. Esso si forma attraverso processi di condensazione di sostanze a bassa tensione di vapore, precedentemente formatesi attraverso evaporazione ad alte temperature, o attraverso reazioni chimiche dei gas presenti in atmosfera (NO_x , SO_x , agenti ossidanti come O_3 , OH , NH_3 , composti organici volatili-VOCs e idrocarburi). Il particolato secondario è formato esclusivamente da particelle fini, generalmente con diametro inferiore a $1\mu m$ [7, 8].

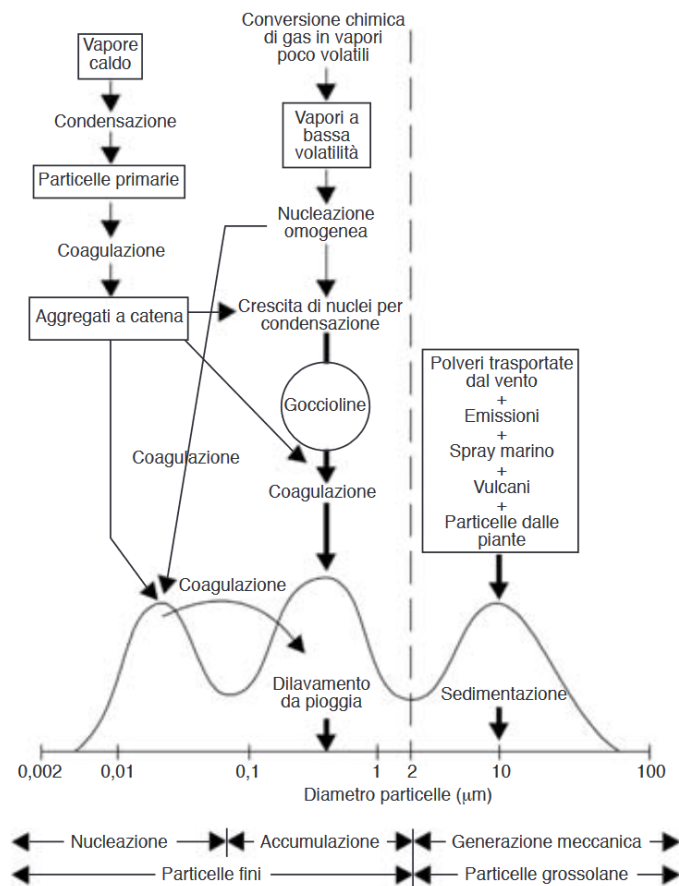


Figura 1.2: Distribuzione dimensionale, origine e reazioni chimico-fisiche delle particelle aero-disperse [2].

1.2 Composizione chimica dell'aerosol e inquinanti emergenti

L'aerosol atmosferico può essere di origine naturale o antropica. Le principali sorgenti di particolato antropico in atmosfera si trovano nelle aree urbane e industriali e sono rappresentate dal traffico (emissioni di scarico, abrasione della superficie stradale, usura di freni e pneumatici, risospensione di particelle dalle carreggiate asfaltate), dalle attività produttive (emissioni da centrali elettriche, raffinerie di petrolio, attività minerarie), dall'edilizia (scavi, movimento del suolo, demolizioni) e dalle emissioni dalle abitazioni (riscaldamento, cottura dei cibi). Nelle aree rurali le principali fonti di aerosol sono la combustione di biomassa e le emissioni dovute alle attività agricole [6].

Tra le sorgenti naturali di particolato vi sono l'emissione di spray marino e di materiale biogenico, l'erosione dei suoli, le emissioni vulcaniche e gli incendi. Queste sorgenti generano particelle con composizioni chimiche molto diverse, comunemente correlate alla loro origine [6].

Il particolato atmosferico è costituito in maniera predominante da nitrati, ammonio, solfati, materiale crostale, acqua, carbonio elementare e una grande varietà di composti organici, la cui concentrazione relativa varia a seconda del sito in considerazione [4, 7, 9]. In Figura 1.3, ad esempio, è riportata la composizione dell'aerosol in una generica area urbana e in un'area rurale italiana: seppur la composizione dell'aerosol si presenti simile, si nota una variazione nel contenuto di solfati, carbonio elementare e composti organici [7].

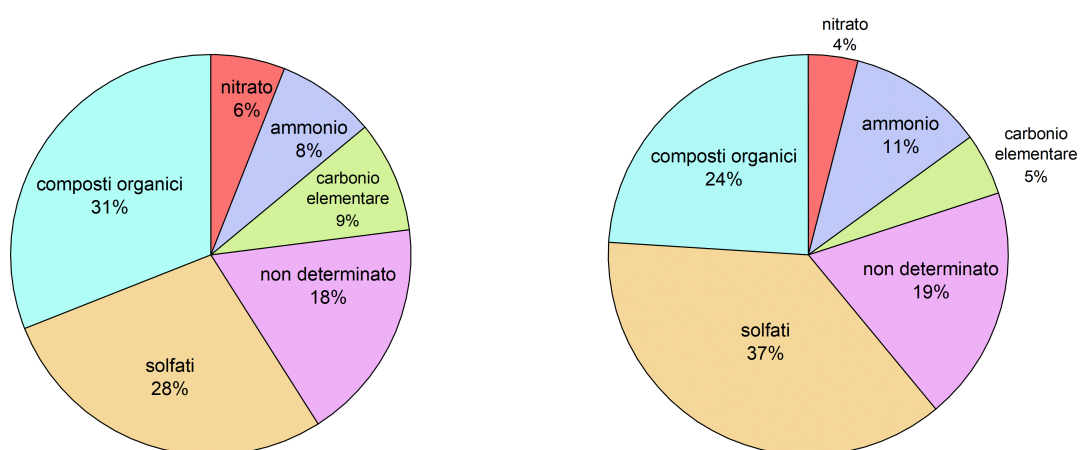


Figura 1.3: Composizione dell'aerosol atmosferico urbano (sinistra) e rurale (destra)

I principali componenti chimici del particolato atmosferico sono solfati, nitrati, ammonio, sali marini, polvere minerale, composti organici e carbonio elementare, ma le

concentrazioni relative dei vari componenti variano notevolmente a seconda della fonte di aerosol, del periodo e dell'anno e a seconda del luogo di analisi [6].

Ioni inorganici come nitrato, il solfato, cloro, ammonio, sodio, calcio, potassio e magnesio, sono presenti nell'aerosol anche come sali inorganici derivanti da spray marino o da fonti antropogeniche quali incendi e attività minerarie [6].

I solfati possono derivare anche dall'ossidazione di precursori gassosi come SO_2 e dimetilsolfuro, e della dissociazione dell'acido solforico. SO_2 viene emesso in atmosfera prevalentemente da sorgenti antropiche, ma può avere anche origine naturale (emissioni biogeniche o dal suolo, eruzioni vulcaniche, incendi boschivi); il dimetilsolfuro deriva da emissioni biogeniche marine [6]. L'acido solforico viene neutralizzato dall'ammoniaca atmosferica formando solfato d'ammonio [10].

I principali gas precursori azotati presenti nel particolato atmosferico sono NO , NO_2 , N_2O , e NH_3 . Essi possono essere di origine naturale o antropica (incendi boschivi, nitrificazione del suolo, fertilizzanti, motori dei veicoli). Gli ioni contenuti azoto più presenti nel particolato sono NO_3^- e NH_4^+ . Dall'ossidazione NO in atmosfera, grazie alla presenza di acqua, si forma l'acido nitrico [6].

Le specie carboniose sono una frazione significativa dell'aerosol atmosferico e comprendono una grande quantità di composti organici, di cui solo una parte è stata caratterizzata. La frazione carboniosa, che può essere suddivisa in tre gruppi: a) carbonati, principalmente $CaCO_3$ e $MgCO_3$ [6]; b) carbonio elementare (EC) o black carbon (BC), che costituisce la frazione più refrattaria e polimerizzata dell'aerosol ed è generato principalmente dalla combustione di combustibili fossili e di biomassa [6, 11]; c) carbonio organico (OC), di cui fanno parte un'ampia varietà di composti e che può derivare da diverse sorgenti naturali e antropiche. Il carbonio organico può essere di origine primaria (*Primary Organic Aerosol*, POA) a cui sono associati composti quali alcani, acidi carbossilici e idrocarburi policiclici aromatici (IPA), o di origine secondaria (*Secondary Organic Aerosol*, SOA) formato dall'ossidazione di composti organici volatili (VOCs)[12]. Una frazione significativa del carbonio organico è costituita da composti idrosolubili (*Water Soluble Organic Compounds*, WSOC), che possono quindi trovarsi in atmosfera in fase acquosa [6, 13].

Nell'aerosol atmosferico vi sono anche vari inquinanti atmosferici, cioè sostanze che alterano la normale composizione chimica dell'aria con conseguenze sulla salute del-

l'uomo e dell'ambiente. Tra gli inquinanti atmosferici catalogati, normati e monitorati ci sono: ossidi di zolfo (SO_X), ossidi di azoto (NO_X), monossido di carbonio (CO), ozono (O_3), benzene, i composti organici volatili (*Volatile Organic Compounds*, VOC), elementi in tracce (As, Cd, Ni), piombo (Pb) e Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) [14]. Questi ultimi fanno parte degli inquinanti organici persistenti (POPs), composti organici ben studiati e regolamentati, noti per la loro persistenza e capacità di bioaccumulo, aventi gravi impatti ambientali e sulla salute. Altri esempi sono: DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), PCB (policlorobifenili), HCB (esaclorobenzene) diossine e furani (PCDD, PCDF) [15].

I contaminanti emergenti (EC) sono definiti come composti chimici potenzialmente dannosi per la salute umana e degli ecosistemi, che tuttavia non sono attualmente inclusi nei programmi di monitoraggio ambientale e il cui comportamento e destino ambientale non sono ancora del tutto noti [16]. Gli EC comprendono una vasta gamma di composti di nuova generazione recentemente introdotti nel mercato, ma anche prodotti commercializzati e utilizzati per decenni in industria e in ambito domestico la cui pericolosità si è resa nota solo in seguito. L'uso e l'emissione in ambiente dei composti classificati come EC sono in rapido e costante aumento, da cui deriva la necessità di ulteriori studi e monitoraggi per comprendere pienamente i loro impatti ambientali e sviluppare regolamentazioni appropriate [16]. Tra gli EC vi sono composti inorganici, come perclorati, antimonio e cobalto, e diverse classi di composti organici, tra cui alchilfenoli, benzotriazoli, diossano, silossani, acidi naftenici, organofosfati, metil terz-butil etere (MTBE) e le sostanze alchiliche polifluorate (PFAS) [16]. I contaminanti emergenti possono derivare da resine, materie plastiche e additivi per materie plastiche (ad esempio plastificanti e ritardanti di fiamma), prodotti farmaceutici e per la cura della persona, detersivi e altri agenti di pulizia, pesticidi e biocidi, sostanze chimiche derivate dal petrolio, prodotti del trattamento dei rifiuti e delle acque potabili, delle discariche e dell'incenerimento. I rischi indotti dagli EC sono spesso associati a vari livelli di tossicità diretta o reattività biochimica che causano effetti avversi negli organismi animali e vegetali e negli esseri umani, come tossicità immunitaria, neurotossicità, alterazione endocrina e cancerogenicità [16]. La persistenza degli EC consente loro di diffondersi nell'ambiente raggiungendo tutti i compartimenti; in particolare, possono spostarsi dalle aree di produzione/rilascio fino alle regioni rurali e remote.

1.3 Effetti sulla salute umana, sull'ecosistema e sul clima

Al fine di valutare i rischi dell'aerosol atmosferico per la salute è necessario studiarne la composizione e la distribuzione dimensionale, da cui dipende la sua capacità di penetrare nei passaggi nasofaringei ed entrare nei polmoni. Una volta introdotto nell'organismo tramite le vie respiratorie, il particolato può diffondersi grazie alle sue ridotte dimensioni nei sistemi cardiovascolare e linfatico. La tossicità delle particelle inalate dipende da quanto esse vengono assorbite e rimosse dal sistema linfatico e dalla misura in cui si depositano negli organi interni [17, 18]. Le particelle con diametro inferiore a $10\mu\text{m}$ (PM_{10}) sono definite anche polveri inalabili, in quanto sono in grado di penetrare nel tratto superiore dell'apparato respiratorio (dal naso alla laringe). Le particelle con diametro inferiore a $2.5\mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) costituiscono in media circa il 60% del totale del PM_{10} e sono denominate polveri toraciche o respirabili, in quanto in grado di penetrare nel tratto inferiore dell'apparato respiratorio (dalla trachea agli alveoli polmonari). La normativa italiana (D.Lgs. 155/2010) ha fissato $40\ \mu\text{g m}^{-3}$ come limite annuale per il PM_{10} in atmosfera e $50\ \mu\text{g m}^{-3}$ come limite giornaliero da non superare più di 35 volte l'anno. Per il $\text{PM}_{2.5}$ il valore limite per la protezione della salute umana corrisponde a $25\ \mu\text{g m}^{-3}$ [19].

Numerosi studi hanno confermato che l'esposizione prolungata al particolato ha effetti negativi sulla salute con il rischio di insorgenza di patologie respiratorie e cardiovascolari [17, 18, 20].

Gli effetti sull'ecosistema sono legati al fatto che il particolato è suscettibile ai processi di deposizione secca e umida sul suolo o sulla vegetazione. Nella deposizione secca viene trasferito particolato al suolo senza intervento dell'acqua presente in atmosfera, mentre la deposizione umida è causata dall'intervento dell'acqua [21].

Gli effetti sul clima invece sono legati alle piogge acide e all'effetto chiamato forzante radiativo, creato dalle particelle di aerosol che contribuiscono alla formazione di nubi aumentando l'effetto serra e il riscaldamento globale [22].

1.4 Processi in atmosfera e trasporto in alta montagna

L'aerosol diffonde nell'atmosfera in maniera diversificata a seconda delle proprie dimensioni, caratteristiche e delle condizioni meteorologiche. La moda grossolana ha un basso tempo di permanenza in atmosfera, in quanto è caratterizzata da una veloce sedimen-

tazione e tende a depositarsi nei pressi della sorgente d'emissione. La moda fine ha un diametro intermedio, troppo piccolo per sedimentare e troppo grande per coagulare, di conseguenza può rimanere a lungo in atmosfera. La moda ultrafine, avente elevata mobilità meccanica, è soggetta a fenomeni di trasporto a lungo raggio, ma può facilmente coagulare o condensare in particelle di diametro maggiore, formando particelle fini. Le particelle sono trasportate principalmente dall'azione del vento attraverso i processi di avvezione e convezione [1].

In meteorologia per avvezione si intende un processo di trasporto d'aria da una zona ad un'altra per mezzo di movimenti orizzontali nell'atmosfera, dovuti a un cambiamento dei parametri atmosferici, come umidità e temperatura. Per convezione si intende invece il trasporto d'aria secondo moti verticali. La convezione può essere naturale, quando si instaura per differenze di temperatura tra una massa d'aria e l'atmosfera circostante, o forzata, quando la massa d'aria è obbligata a salire in presenza di un ostacolo, come nel caso della presenza di ostacoli topografici quali le catene montuose [23, 24].

Il *Planetary Boundary Layer* (PBL), o strato limite atmosferico, è la porzione più bassa dell'atmosfera terrestre, che viene direttamente influenzata dalla superficie terrestre. Lo studio di ciò che avviene all'interno di questo strato è fondamentale per comprendere i processi di trasporto di massa, energia e quantità di moto tra la superficie terrestre e l'atmosfera superiore. Il PBL varia in spessore, generalmente tra poche decine di metri e circa 2-3 chilometri, e svolge un ruolo fondamentale per il trasporto degli inquinanti atmosferici: gli inquinanti emessi dalle sorgenti a terra, infatti, vengono miscelati e trasportati per avvezione e convezione all'interno del PBL [23, 25].

I siti d'alta montagna sono spesso caratterizzati da fenomeni di trasporto derivanti soprattutto dai gradienti termici che si creano tra valle e cima. In particolare, le brezze di valle e di montagna (Figura 1.4) sono profili di trasporto verticali dell'aerosol. Lo studio di questi fenomeni meteorologici permette di comprendere la distribuzione degli inquinanti atmosferici nelle regioni montuose. Durante il giorno, il riscaldamento solare provoca brezze ascensionali che portano gli aerosol verso l'alto (brezze di valle), mentre di notte il raffreddamento induce brezze discensionali che li riportano verso il basso (brezze di montagna). Questo ciclo diurno-notturno rappresenta una caratteristica del clima montano, favorendo un regolare scambio di masse d'aria tra i siti di pianura e

quelli di montagna [26].

I moti avvertivi trasportano inquinanti da aree esterne alla valle (pianure e zone circostanti) verso l'interno di essa, portando ad un accumulo di contaminanti nelle valli. La brezza di valle trasporta poi gli inquinanti nelle cime. Le particelle sollevate possono essere poi trasportate da correnti d'aria avvertive verso altre aree. È stato dimostrato che la distribuzione degli inquinanti atmosferici in zone montuose è determinata da numerosi fattori, quali le caratteristiche topografiche, le condizioni meteorologiche locali, le turbolenze locali, effetti di convergenza/divergenza, la forza e la direzione dei venti e il riscaldamento solare. Studiando questi processi si può migliorare la comprensione delle interazioni tra i fenomeni atmosferici locali e gli inquinanti, contribuendo a sviluppare modelli più accurati per la previsione del tempo e la gestione ambientale nelle aree montane [27, 28, 29].

L'alta montagna è un'area importante in cui studiare la distribuzione ambientale e gli effetti negativi dei contaminanti organici. Lo studio dell'aerosol montano è quindi utile per comprendere il loro potenziale impatto sugli ecosistemi alpini e sugli esseri umani e ottenere informazioni in merito alle vie di trasporto. Quando si intende studiare lo stato di contaminazione delle aree di alta quota è necessario prendere in considerazione la relativa vicinanza alle fonti di emissione, i fenomeni di deposizione secca o umida sul suolo o sulla vegetazione e i processi di trasporto a lungo e corto raggio, valutando modelli di distribuzione specifici che dipendono dalle condizioni meteorologiche, climatiche ed ecologiche (direzione del vento, inversione di temperatura e precipitazioni) [30].

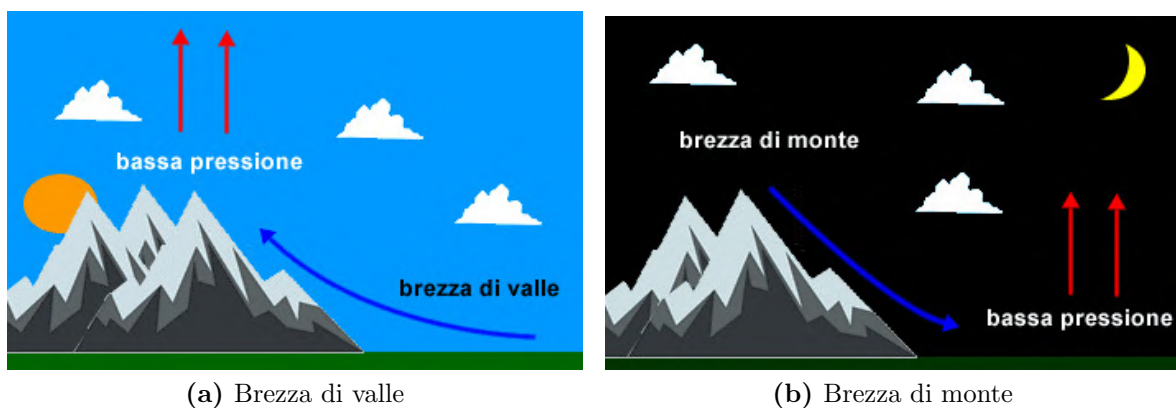


Figura 1.4: Brezza di valle e brezza di monte

2 Analiti

2.1 I ritardanti di fiamma

I ritardanti di fiamma (FR) sono composti chimici di sintesi antropica che vengono applicati ai materiali per renderli non infiammabili o autoestinguenti. Essi agiscono quindi in modo tale da prevenire la combustione e/o ritardare la propagazione dell'incendio dopo l'accensione, soddisfacendo le norme di sicurezza antincendio. Tuttavia, i ritardanti di fiamma svolgono la loro azione solo durante la fase di accensione di un incendio: una volta che l'incendio si è sviluppato completamente e le temperature raggiungono livelli sufficientemente elevati da decomporre senza ostacoli il materiale che li incorpora, essi non sono più in grado di impedirne l'ulteriore propagazione. Ne esistono di diversi tipi e sono applicati su molti materiali con cui entriamo in contatto ogni giorno, come polimeri, plastiche, mobili, materiali elettronici, materiali da costruzione, lubrificanti, vernici, rivestimenti e tessuti tessili. La quantità di ritardante di fiamma che deve essere aggiunto a un materiale per ottenere il livello desiderato di sicurezza antincendio può variare da meno del 1% in peso per i ritardanti di fiamma altamente efficaci fino a oltre il 50% per i riempitivi inorganici. Gli intervalli tipici vanno dal 5 al 20% del materiale in peso [31, 32].

L'uso dei ritardanti di fiamma ha acquisito slancio a partire dagli anni '70, quando hanno cominciato ad essere applicati su materiali infiammabili, e si sono diffusi come conseguenza dei loro vantaggi nella vita quotidiana. Il consumo globale di ritardanti di fiamma è stato stimato in un volume di 2.49 milioni di tonnellate nel 2015, e si prevede un tasso di crescita del mercato del 4.9%, con un volume dei consumi che supererà i 4.0 milioni di tonnellate entro la fine del periodo 2016-2025 [33].

2.1.1 Principio di funzionamento

La funzione dei ritardanti di fiamma è quella di intercettare il ciclo di combustione per azione chimica e/o fisica solitamente innescata dal riscaldamento del materiale in cui sono incorporati [31, 32].

L'inibizione della combustione attraverso l'azione fisica può avvenire tramite formazione di uno strato protettivo, che blocca il trasferimento di calore e impedisce all'ossigeno e ad altri gas di decomposizione infiammabili di continuare a raggiungere la superficie

del materiale infiammabile; tramite un'effetto di raffreddamento, quando viene innescato un processo endotermico che raffredda il substrato fino ad una temperatura inferiore a quella di accensione; oppure tramite un'effetto di diluizione, quando i ritardanti applicati sviluppano gas di decomposizione non infiammabili e diluiscono il carburante in fasi gassose e solide, in modo che la concentrazione di gas infiammabili scenda al di sotto del limite di accensione.

L'inibizione per azione chimica può avvenire per reazione in fase gas o in fase solida. Nel caso di reazione in fase gas, l'effetto più importante è la prevenzione della formazione di radicali liberi. I polimeri sottoposti a pirolisi possono reagire con l'aria provocando reazioni di ramificazione della catena che anticipano la combustione. Gli alogeni (cloro, bromo) formati attraverso la decomposizione dei ritardanti di fiamma alogenati agiscono come intercettori di radicali nella fase gassosa impedendo ai radicali liberi dell'idrossido e dell'idrogeno di reagire. I radicali vengono quindi catturati disturbando i processi chimici ossidativi esotermici della fiamma, con conseguente impedimento della combustione.

Nel caso di reazione in fase solida, l'azione dei ritardanti di fiamma consiste nel promuovere la decomposizione del materiale a cui sono applicati, formando uno strato protettivo carbonizzato con un punto di fusione molto alto che ricopre il materiale infiammabile e impedisce il contatto con l'ossigeno e quindi la propagazione della fiamma. Questo processo è definito carbonizzazione ed è tipico soprattutto di quei ritardanti di fiamma che contengono fosforo.

Per poter agire nel modo ignifugo descritto, i ritardanti di fiamma possono essere chimicamente stratificati sul substrato (ad esempio nelle fibre tessili) o inseriti nella matrice (come nel caso dei polimeri) tramite miscelazione prima, durante o (più frequentemente) dopo la polimerizzazione. Nel primo caso si parla di ritardanti di fiamma reattivi e nel secondo caso di ritardanti di fiamma additivi. In entrambi i casi la matrice e i ritardanti di fiamma devono essere miscelabili e compatibili tra loro. Il vantaggio principale dei sistemi reattivi è il loro legame chimico, mediante il quale l'agente ignifugo è saldamente integrato nella matrice e, in linea di principio, non può migrare; i ritardanti di fiamma reattivi non hanno quindi un effetto plastificante e non influenzano la stabilità termica del polimero. Al contrario, i ritardanti di fiamma additivi sono utilizzati principalmente nei termoplastici e possono essere rilasciati dalla matrice più

facilmente durante o dopo l'uso [32].

2.1.2 Classificazione

In generale, esistono più di 175 sostanze chimiche classificate come ritardanti di fiamma, raggruppate in base alle loro strutture chimiche e modalità d'azione. In Figura 2.1 viene rappresentato in un areogramma il volume di produzione mondiale dei diversi ritardanti di fiamma [31, 32, 33]. Di seguito vengono descritti i tre principali gruppi di ritardanti di fiamma: inorganici, alogenati e fosforo organico con le relative sottoclassi.

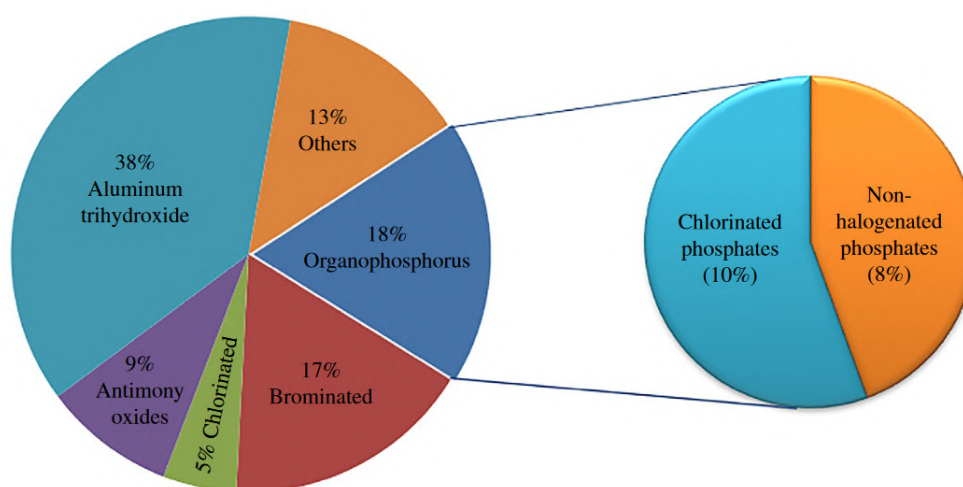


Figura 2.1: Volume di produzione mondiale dei diversi ritardanti di fiamma[33].

- I ritardanti di fiamma inorganici rappresentano circa il 50% in volume della produzione mondiale, grazie alla loro elevata stabilità e al basso costo. Si suddividono ulteriormente in:
 - Idrossidi metallici: costituiscono la classe più numerosa. L'idrossido di alluminio, noto anche come triidrato di allumina (ATH), è il ritardante di fiamma di volume maggiore in uso oggi.
 - Composti Antimonio (triossido di antimonio)
 - Composti del boro (acido borico e il borato di sodio)
 - Composti con metalli di transizione (composti di molibdeno, titanio e zirconio)
 - composti al fosforo (fosforo rosso e il polifosfato di ammonio)

- I ritardanti di fiamma alogenati rappresentano circa il 25% in volume della produzione mondiale. Il loro funzionamento si basa sul rilascio, entro un intervallo di temperatura ristretto, di intercettori di radicali. Uno svantaggio di quei composti alogeni che sono attivi in fase gassosa è che rilasciano gas corrosivi (HBr, HCl) e che allo stesso tempo promuovono la densità dei fumi, oltre a contribuire alla formazione di diossine/furani. I ritardanti di fiamma organici alogenati possono essere suddivisi in tre ulteriori classi: aromatici, alifatici e cicloalifatici. L'efficacia dei ritardanti di fiamma contenenti alogeni aumenta nell'ordine di $F < Cl < Br < I$. Iodio e fluoro non vengono solitamente utilizzati, rispettivamente a causa della scarsa reattività e dell'elevato costo; i principali ritardanti di fiamma alogenati sono quindi bromurati e clorurati:

- i ritardanti di fiamma bromurati (17%) sono composti organici altamente bromurati (da 50 a 85% in peso di bromo) e hanno la quota di mercato più elevata grazie alle loro buone proprietà tecniche e prestazionali. Alcuni esempi sono gli eteri di difenile penta-, otta- e deca-bromurati (penta-BDE, otta-BDE e deca-BDE), il tetrabromobisfenolo A (TBBPA) e l'esa-bromo ciclo-dodecano (HBCD);
 - tra i ritardanti di fiamma clorurati (8%), le paraffine clorurate sono di gran lunga più ampiamente utilizzate.
- Fosforo organico (*Organo Phosphate Flame Retardants* OPFR): sono principalmente esteri fosforici e rappresentano circa il 18% in volume della produzione mondiale. Gli organofosfati si dividono in alogenati (10%) e non alogenati (8%). La struttura carboniosa può essere arilica o alchilica.

2.2 Ritardanti di fiamma organofosfati

I ritardanti di fiamma bromurati, come gli eteri di difenile polibromurati (PBDE), sono stati ampiamente utilizzati per molti decenni. Tuttavia, a causa della loro persistenza in ambiente, della loro bioaccumulabilità e tossicità, sono stati classificati come inquinanti organici persistenti (*Persistent Organic Pollutants*, POP) nella Convenzione di Stoccolma (2008) [34]. Di conseguenza, la produzione e l'uso di molti di essi sono stati gradualmente vietati nell'Unione Europea e negli Stati Uniti (Commissione Europea,

2017; US EPA, 2015a), mentre sono state introdotte nel mercato nuove tipologie di ritardanti di fiamma come i FR bromurati e FR organofosfati (OPFR). L'Unione Europea ha vietato l'uso delle miscele commerciali di penta e otta-BDE nel 2004 e della miscela di decaBDE nelle apparecchiature elettriche ed elettroniche nel 2008. Nel 2009, la Convenzione di Stoccolma ha vietato la produzione, l'uso, l'importazione e l'esportazione delle miscele commerciali penta e otta-BDE e nel 2017 del decaBDE [35]. La *European Flame Retardants Association* (EFRA) stima un consumo totale di FR in Europa pari a 465.000 t nel 2006, di cui il 10% è rappresentato da FR bromurati e il 20% da OPFR (EFRA, 2007). La maggior parte degli OPFR sono considerati prodotti chimici ad alto volume di produzione, superiore a 1000 t all'anno in Europa (ECB, 2008) [36, 37].

2.2.1 Struttura

I ritardanti di fiamma organofosforici (OPFR) sono degli esteri organofosforici (OPE) composti da un gruppo fosfato centrale legato a dei sostituenti eterogenei. Gli OPE esistono sotto forma di triesteri organofosfati (la forma principale in uso) e diesteri organofosfati (i prodotti di decomposizione dei triesteri) (Figura 2.2). In base ai differenti sostituenti sono classificati come fosfati alchilici alogenati, alchilici non alogenati e arilici [38].

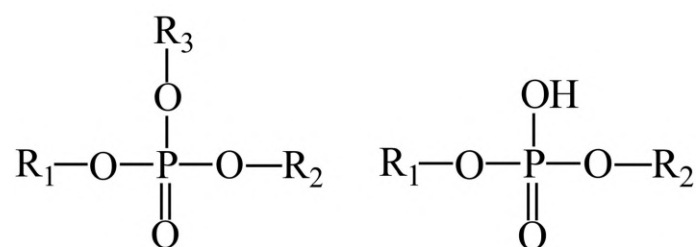


Figura 2.2: Struttura triesteri e diesteri organofosforici.

2.2.2 Meccanismo d'azione

Gli OPFR agiscono per reazione chimica in fase gas o in fase solida. L'azione in fase gassosa avviene per rimozione dei radicali $H\cdot$ e $OH\cdot$ dai gas infiammabili tramite reazione con gli atomi di Br e Cl. La rimozione dei radicali determina un rallentamento del processo di combustione e riduce la propagazione dell'incendio. L'azione in fase solida avviene per riscaldamento del fosforo che reagisce generando una forma polimerica

dell'acido fosforico. Quest'ultimo provoca la formazione di uno strato di carbone, che protegge il materiale dall'ossigeno [37, 39].

2.2.3 Applicazioni e mercato

Generalmente, gli OPFR clorurati e bromurati vengono utilizzati come ritardanti di fiamma, mentre quelli non alogenati vengono utilizzati come plastificanti. Si stima che oltre 40 OPE siano applicati come ritardanti di fiamma o additivi plastificanti in una moltitudine di prodotti, tra cui tessili, materie plastiche, elettronica, materiali da costruzione, mobili, lubrificanti, vernici, e vari altri [37, 38].

La pubblicazione più recente e dettagliata sulla produzione di OPFR, Huang et al. (2022) [40], ha segnalato una produzione globale di OPFR in 367 stabilimenti industriali a partire dal 2020, 201 dei quali localizzati in Cina. Questi ultimi producono poco più di 431.000 tonnellate di ritardanti di fiamma, l'84.2% delle quali rappresentate da OPFR (363.003 tonnellate). La Figura 2.3 mostra gli OPFR più prodotti nel 2020, con i primi cinque rappresentati da trietilfosfato TEP (18%), tris(1-cloro-2-propil)fosfato TCPP (12%) e tri-iso-butil fosfato TiBP, bisfenolo-A bis(difenil fosfato) BADP e tris(2-cloroetil) fosfato TCEP (9% ciascuno). Tuttavia, non è ancora possibile stabilire se la produzione di questi composti rifletta il loro consumo come ritardanti di fiamma poiché, come anticipato, alcuni di essi hanno anche altre applicazioni industriali (fluido dielettrico, lubrificante, agente antischiuma, fluido idraulico, catalizzatore) [37, 40].

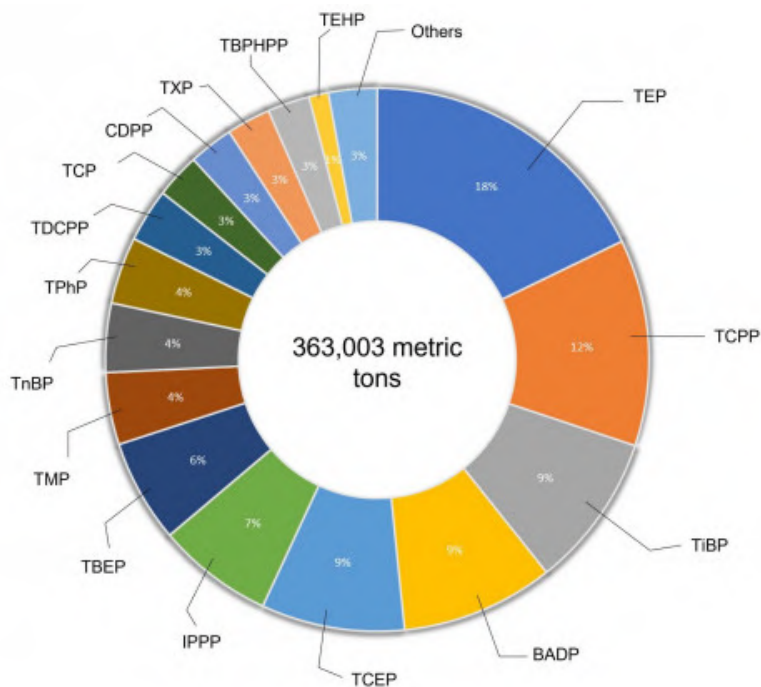


Figura 2.3: Produzione di ritardanti di fiamma organofosforici nel 2020. I dati sono tratti da Huang et al. (2022) [40]. I dati di produzione provengono dalla Cina continentale, che ospita il 55% delle fabbriche OPFR globali. TEP: trietil fosfato; TCPP: tris(1-cloro-2-propil) fosfato; TiBP: tri-iso-butil fosfato; BADP: bisfenolo-A bis(difenil fosfato); TCEP: tris(2-cloroetil) fosfato; IPPP: trifenil fosfato isopropilato; TBEP: tris(2-butossietil) fosfato; TMP: trimetil fosfato; TnBP: tri-n-butil fosfato; TPhP: trifenil fosfato; TDCPP: tris(1,3-dicloro-2-propil) fosfato; TCP: Tricresil fosfato, CDPP: Cresil difenil fosfato, TXP: Trixilenil fosfato, TBP: Tris(p-terz-butilfenil) fosfato, TEHP: Tris(2-etilesil) fosfato [37].

2.2.4 Analiti

In questo lavoro di tesi sono stati analizzati in aerosol montano sei ritardanti di fiamma organofosforici: Trimetilfosfato (TMP), Trietilfosfato (TEP), Tri(fenil)fosfato (TPP), Tris(2-cloroetil)fosfato (TCEP), Tris(1-cloro 2-propil)fosfato (TCPP) e Tris(1,3-dicloro-2-propil)fosfato (TDCP), le cui strutture e caratteristiche chimico-fisiche sono riportate in Figura 2.4 e in Tabella 2.1.

- Il TMP è un liquido trasparente utilizzato come plastificante ritardante di fiamma per resine termoindurenti, additivo lubrificante e per la benzina, agente metilante, solvente e catalizzatore nella produzione di polimeri e resine. Viene inoltre utilizzato come intermedio nella produzione di polimetilfosfati. Come mostrato in Tabella 2.1, l'elevata solubilità in acqua e la moderata pressione di vapore

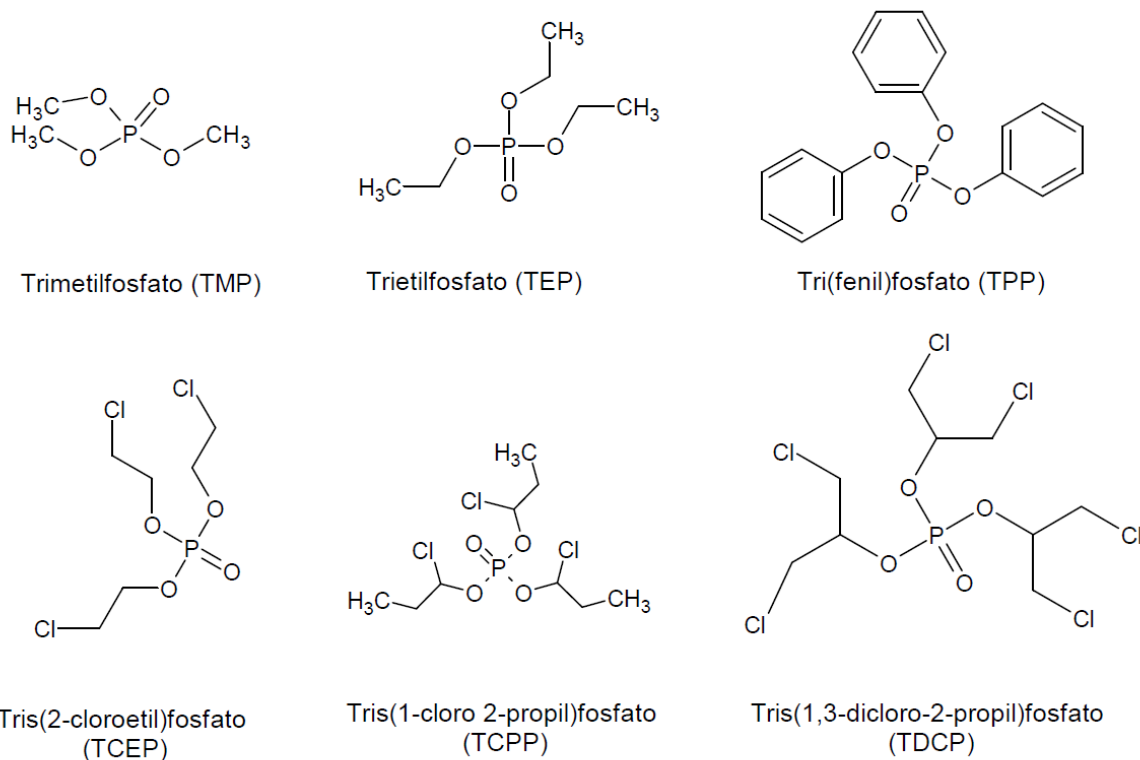


Figura 2.4: strutture chimiche dei ritardanti di fiamma organofosfati analizzati.

Tabella 2.1: Caratteristiche chimiche e fisiche dei ritardanti di fiamma organofosfati [41, 42, 39].

Proprietà	TMP	TEP	TPP	TCEP	TDCP	TCPP
Formula chimica	$\text{C}_3\text{H}_9\text{O}_4\text{P}$	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$	$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$	$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{Cl}_6\text{O}_4\text{P}$	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$
Peso molecolare (g/mol)	140.08	182.16	326.28	285.49	430.91	327.57
Punto di fusione ($^{\circ}\text{C}$)	-46	-56	48-50	-60	-20	-42
Punto di ebollizione ($^{\circ}\text{C}$)	197-198	215-216	370	330	326	235-248
Solubilità in acqua (25°C)	500g/L	500g/L	1.9 mg/L	7 g/L	18.1 mg/L	16 mg/L
Densità (g/cm^3)	1.21	1.06	1.18	1.43	1.48	1.29
Pressione di vapore (mmHg a 25°)	0.85	0.39	2.0×10^{-6}	1.1×10^{-4}	2.9×10^{-7}	0.0092
Log Kow	-0.6	1.11	4.59	1.44	3.65	2.59
LD50 orale (mg/kg) - ratto	840	1100-1600	3500	794	1850	1500

indicano che il TMP esisterà principalmente come vapore nell'atmosfera. Il TMP può causare effetti neurotossici, genotossici e cancerogeni [43, 41].

- Il TEP si presenta come un liquido incolore e viene utilizzato principalmente come stabilizzante nelle formulazioni di pesticidi. Altri usi sono come catalizzatore industriale, agente desensibilizzante per perossidi, agente etilante e come plastificante per resine termoindurenti, plastica e gomme. Viene utilizzato anche in piccole quantità come solvente, ritardante di fiamma e agente antischiuma. Sebbene venga prodotto in un volume molto più elevato rispetto ad altri OPFR, come mostrato nella Figura 2.3, il TEP viene utilizzato principalmente come intermedio di produzione. L'elevata solubilità in acqua e la moderata pressione di vapore indicano che il TEP tende a essere maggiormente presente nella fase gassosa (Tabella 2.1). Il TEP ha una bassa tossicità sia per gli organismi acquatici che per quelli terrestri: è leggermente tossico per via di esposizione orale, inalatoria e cutanea e può provocare danni al sistema nervoso. Non sono stati dimostrati genotossici e cancerogeni. Non si prevede che la bioconcentrazione negli organismi acquatici sia significativa [41, 44]. Pertanto, non si prevedono impatti ambientali a lungo termine e non è probabile che si verifichino rischi ecologici derivanti dall'uso del trietilfosfato [37, 44].
- Il TPP [37, 38, 39, 41, 45] si presenta come una polvere cristallina incolore e viene utilizzato come ritardante di fiamma per resine fenoliche ed epossidiche e plastificante per polimeri come cloruro di polivinile (PVC), poliuretani e policarbonato/acrilonitrile butadiene e miscele di stirene (PC/ABS), utilizzate per prodotti elettronici, isolamento di cavi, circuiti, pannelli, tubazioni dell'acqua, schiume isolanti e rivestimenti per automobili e mobili. Come mostrato in Tabella 2.1, il TPP presenta una bassa pressione di vapore, favorendo una presenza maggiore nel particolato atmosferico. Il TPP è una sostanza chimica lipofila con un valore di $\log K_{OW}$ elevato con una conseguente capacità di bioaccumularsi. È stata dimostrata anche la tossicità nel pesce zebra [46, 47] e nei ratti [48]. Sulla base degli effetti sui recettori nicotinici dell'acetilcolina umana [49] hanno classificato TPP come un composto neurotossico altamente potente.
- Il TCEP [37, 38, 39, 50, 51] è un liquido incolore, utilizzato come ritardante di

fiamma principalmente nella produzione di resine poliestere insature. Altri campi di applicazione interessano resine acriliche, adesivi e rivestimenti. I principali settori industriali che utilizzano il TCEP come plastificante ignifugo sono l'industria dell'arredamento, tessile ed edile (ad esempio per l'isolamento dei tetti); è inoltre utilizzato nella fabbricazione di automobili, ferrovie e aeromobili. Il TCEP viene usato anche in vernici e smalti ignifughi, ad esempio per acetato di polivinile o acetilcellulosa, e come plastificante secondario per il cloruro di polivinile, al fine di sopprimere l'infiammabilità derivante da plastificanti come gli ftalati. Come mostrato nella Tabella 2.1 il TCEP presenta una bassa pressione di vapore favorendo una presenza maggiore nel particolato atmosferico. Il TCEP è poco solubile in acqua, con $\log K_{OW}$ medio/alta, pertanto si prevede che si trovi in piccola parte anche nei corpi idrici ed abbia un potenziale di bioaccumulo. La Commissione Europea ha classificato il TCEP come tossico per la cancerogenicità di categoria 2 e per la riproduzione di categoria 1B (Commissione Europea, 2014) [52]. Studi effettuati sul pesce zebra [53, 46] e sui ratti [48] hanno rilevato che il TCEP è tossico per la vita acquatica e i mammiferi in particolare sono state confermate la neurotossicità e le interferenze con il sistema endocrino. A causa della sua pericolosità sul ecosistema l'UE e gli Stati Uniti hanno messo delle restrizioni in concentrazione sull'utilizzo del TCEP nei materiali[54].

- Il TDCP [37, 38, 39, 50, 51] è un liquido viscoso incolore utilizzato come ritardante di fiamma in schiuma di poliuretano (sia rigida che flessibile), altre materie plastiche e resine; e laticci acrilici per il rivestimento. Come mostrato in Tabella 2.1 il TDCP ha una bassa solubilità in acqua ed è invece solubile nella maggior parte dei solventi organici. Ha un coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua logaritmico più elevato, ed è quindi bioaccumulabile. Il TDCP presenta una bassa pressione di vapore favorendo una presenza maggiore nel particolato atmosferico. Il TDCP è stato classificato nella categoria cancerogena 2 da Commissione Europea (2014) [52]. L'esposizione al TDCP provoca effetti teratogeni e neurotossici nei pesci zebra [46, 55] e negli embrioni di pollo [56]. Il metabolita urinario del TDCP, il bis(1,3-dicloro-s-propil) fosfato, misurato nelle urine delle donne in gravidanza durante il secondo e il terzo trimestre, è stato associato a una diminuzione dei livelli di ormoni tiroidei e a un aumento dei livelli di ormone stimolante

la tiroide nei neonati [57]. A causa della sua pericolosità sul ecosistema l'UE e gli Stati Uniti hanno messo delle restrizioni in concentrazione sull'utilizzo del TDCP nei materiali[54].

- Il TCPP [37, 38, 39, 50, 51] è un liquido incolore utilizzato come ritardante di fiamma, principalmente nelle schiume poliuretatiche. L'uso principale del poliuretano è nelle schiume rigide per applicazioni edilizie; una quantità minore ma comunque significativa è utilizzata nelle schiume flessibili per mobili. Il TCPP è venduto in miscela di quattro isomeri costituzionali in cui l'isomero principale (50-85% p/p) è la forma tris(1-cloro-2-propil) fosfato. Come mostrato nella Tabella 2.1 Il TCPP presenta una bassa pressione di vapore favorendo una presenza maggiore nel particolato atmosferico. Il TCPP è poco solubile in acqua, con $\log K_{OW}$ medio/alta, pertanto si prevede che si trovi in piccola parte anche nei corpi idrici e che sia bioaccumulabile. Il TCPP è stato classificato nella categoria cancerogena 2 da Commissione Europea (2014) [52]. È stato dimostrato che il TCPP influenza la sintesi ormonale, lo sviluppo e la trascrizione genica nel pesce zebra [55, 58] e negli embrioni di pollo [56] e ha causato stress ossidativo e disfunzione mitocondriale nelle cellule endoteliali della vena ombelicale umana [59]. A causa della sua pericolosità sul ecosistema l'UE e gli Stati Uniti hanno messo delle restrizioni in concentrazione sull'utilizzo del TCPP nei materiali[54].

2.2.5 Destino ambientale

I ritardanti di fiamma organofosfati non sono legati chimicamente ai materiali su cui sono aggiunti e vengono quindi facilmente rilasciati nell'ambiente per volatilizzazione, abrasione e dissoluzione. Di conseguenza, sono stati frequentemente rilevati nell'ambiente e c'è interesse per quanto riguarda la loro presenza ambientale, il loro destino e i loro effetti [36, 37]. In generale, gli OPFR alogenati sono abbastanza persistenti verso la biodegradazione [60], mentre gli OPFR non alogenati aumentano la loro persistenza in ambiente all'aumentare della lunghezza della catena alchilica e all'aumentare del K_{ow} [61].

Gli OPFR sono presenti in varie matrici ambientali [38]: aria esterna [62], polvere interna [63], suoli [64], acqua potabile [65], acque superficiali [65], sedimenti [66], acque reflue e fanghi[67].

In Figura 2.5 [67] è rappresentato un esempio di diffusione degli OPFR nelle diverse matrici ambientali. Gli OPFR emessi nell'aria possono essere trasportati per lunghe distanze, oppure attraverso la deposizione atmosferica possono venire trasferiti nelle acque superficiali. Si può inoltre instaurare un scambio aria-acqua, dove gli OPFR possono essere adsorbiti dal particolato atmosferico ed spostarsi nuovamente nell'atmosfera. Gli OPFR si trovano anche nelle acque superficiali, potabili e reflue a causa delle emissioni antropiche e delle interazioni con gli altri comparti ambientali. L'acqua risulta un importante vettore di trasporto nell'ambiente degli OPFR in quanto grazie ad essa possono diffondere per lunghe distanze. Dall'acqua gli OPFR per sedimentazione arrivano nei sedimenti e nei suoli, instaurando un equilibrio di sedimentazione/risospensione. Dai suoli invece gli OPFR possono subire lisciviazione, cioè filtrare dagli strati superficiali del suolo verso quelli più profondi, per effetto della percolazione delle acque piovane. Inoltre, gli OPFR sono soggetti a bioaccumulo e biomagnificazione [67].

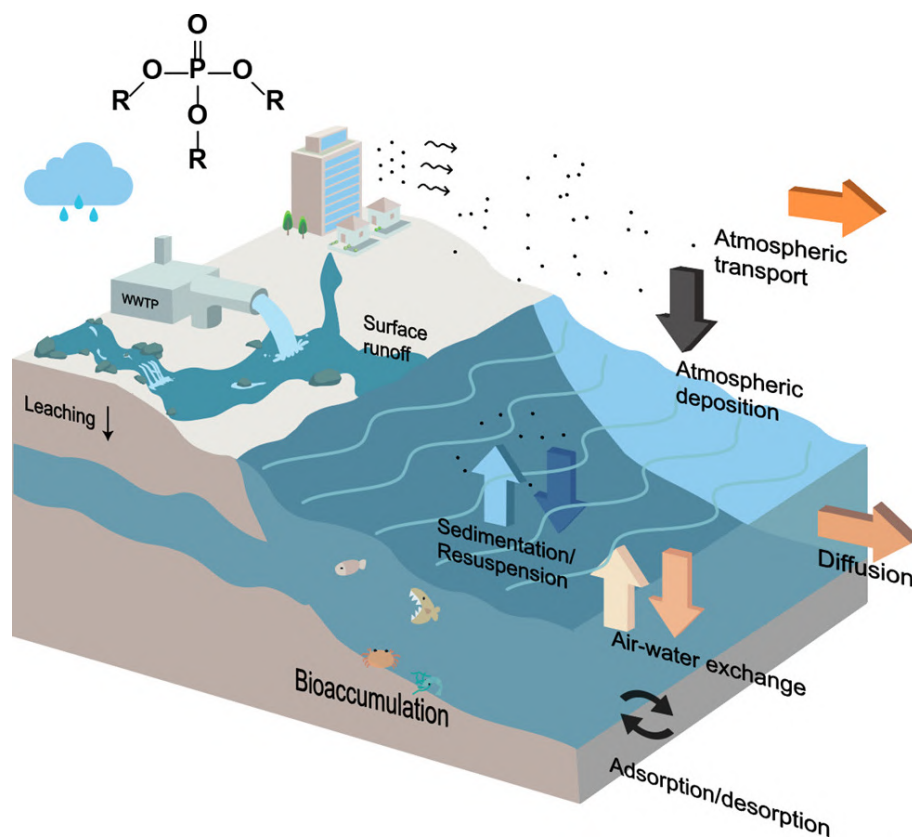


Figura 2.5: Distribuzione ambientale dei OPFR [67].

La presenza di OPFR in regioni remote e polari implica un possibile trasporto atmosferico a lungo raggio (trasporto *long-range*). In particolare gli OPFR sono stati

determinati nelle particelle sospese nell'aria sopra gli oceani e nei sedimenti oceanici nelle aree artiche e antartiche[36, 37]. Negli anni '90, sono stati rilevati negli aerosol dell'Antartide [68] e negli aghi di pino della Sierra Nevada (USA) [69]. La presenza degli OPFR in neve e precipitazioni hanno evidenziato potenziali meccanismi di dilavamento dall'atmosfera e il confermato il trasporto degli OPFR in aree remote[70].

Nello studio del trasporto a lungo raggio degli OPFR è emerso che gli aril-OPFR e alchil-OPFR ad alto peso molecolare sono i composti in grado di percorrere una distanza di viaggio maggiore, gli cloroalchil-OPFR subiscono un trasporto *long-range* con distanze minori, infine gli alchil-OPFR a basso peso molecolare sono i composti che percorrono distanze di viaggio più brevi [71].

Uno studio basato sulla rete Global Atmospheric Passive Sampling (GAPS), un programma globale di monitoraggio dei POPs e dei contaminanti emergenti nell'aria, ha fornito un importante riferimento per la presenza di OPFR nell'atmosfera esterna. Nel 2014 sono state studiate concentrazioni di 18 OPE da 48 siti in tutto il mondo. Il risultato ha mostrato concentrazioni più elevate di OPFR rispetto ai PBDE nell'atmosfera globale. Questo risultato corrisponde all'attuale applicazione dei ritardanti di fiamma in tutto il mondo. I composti TCPP, TBEP, TPP, TCEP, TDCP, TEP e TnBP sono stati quelli rilevati più frequentemente [72].

In Tabella 2.2 vengono riportate le concentrazioni di alcuni OPFR rilevate in aerosol atmosferico da studi presenti in letteratura, specificando la zona di campionamento (urbana, suburbana e remota) e la fase campionata (particolato o gas). Anche se alcuni studi hanno rilevato diversi OPFR vengono riportati in tabella solamente gli OPFR analizzati in questo progetto di tesi in modo effettuare poi un confronto dei dati.

Le concentrazioni totali di OPFR (Σ OPFR) nell'aria esterna risultano nell'ordine di grandezza del $ng\ m^{-3}$ e risultano influenzate dall'area campionata (urbana, suburbana e remota). Gli analiti rilevati con concentrazioni maggiori sono TCPP, TCEP e TPP. Le concentrazioni di OPFR risultano anche influenzate dalla fase campionata (particolato e/o gas), poiché gli OPFR sono distribuiti tra la fase gas e la materia particolata. Infatti alcuni studi considerano le concentrazioni di OPFR legate al particolato come le concentrazioni totali presenti nell'aria, altri invece studiano anche la parte gassosa. Risulta quindi necessario chiarire la distribuzione degli OPFR tra le due fasi per migliorarne il monitoraggio nell'aerosol atmosferico [38].

Tabella 2.2: Concentrazioni di OPFR nell'aria esterna ($ng\ m^{-3}$) [38].

Sito(Anno)	Zona e Fase campionata	TCEP	TDCP	TCP	TPP	TEP	Σ OPFR
Toronto, Canada(2010)	suburbana particolato	0.766	0.154	0.671	1.063	-	2.65
Toronto, Canada (2010-2011)	suburbana particolato e gas	0.608	0.097	0.575	0.700	-	1.98
Rende, Cosenza Italia (2016-2017)	suburbana particolato PM ₁₀	-	-	2.62	0.244	-	2.864
Beijing, Cina (2014)	urbana particolato	0.202	0.056	2.325	0.165	0.005	2.753
Chicago, US (2012)	urbana particolato	0.118	0.079	0.407	0.108	-	0.702
Sturgeon Point State Park Michigan, US(2012)	rurale particolato	0.152	0.028	0.072	0.034	-	0.286
Sleeping Bear Dunes, Michigan, US(2012)	remota particolato	0.008	-	0.027	0.044	-	0.079
Eagle Harbor, Michigan, US(2012)	remota particolato	0.006	0.032	0.029	0.031	-	0.098
Artico, Canada (2007-2013)	remota particolato	0.119	0.003	0.055	0.007	-	0.184

2.2.6 Tossicità e metabolismo degli OPFR

Le informazioni attuali sulla tossicità e l'ubiquità dei ritardanti di fiamma organofosforici indicano che potrebbero non essere un'alternativa priva di pericoli ai ritardanti di fiamma PBDE e che dovrebbero essere sviluppate alternative più sicure poiché ci vorrà ancora più tempo prima che prove scientifiche sufficienti guidino le normative [36, 37]. Gli OPFR possono quindi avere implicazioni negative per l'ambiente e la salute umana. È stato scoperto che gli OPFR hanno un effetto sui sistemi endocrino e riproduttivo, nonché sullo sviluppo del sistema nervoso, e si sospetta che siano cancerogeni [73]. Queste sostanze chimiche sono forti inibitori dell'enzima acetilcolinesterasi (AChE), che ha delle specifiche funzioni all'interno del nostro organismo, e in particolare gioca un ruolo importantissimo nella trasmissione degli impulsi nervosi. Esso si trova nelle sinapsi tra le cellule nervose e quelle muscolari e interviene nelle contrazioni muscolari. In particolare, l'acetilcolinesterasi entra in azione dopo che la trasmissione di un segnale nervoso, demolendo l'acetilcolina nelle sue due componenti, l'acido acetico e la colina (Figura 2.6). Questa reazione ferma la trasmissione del segnale. Come si vede dalla Figura 2.6, un gruppo funzionale ricco di elettroni (nucleofilo, Nu) presente nel sito attivo della acetilcolinesterasi (si tratta del gruppo $-OH$ della catena

laterale dell'amminoacido serina) attacca il gruppo carbonilico ($-C = O$) povero di elettroni presente nella acetilcolina determinando la frammentazione della molecola in una colina deprotonata e un sistema in cui il gruppo acetile (CH_3CO^-) rimane legato all'enzima. Quest'ultimo subisce una reazione di idrolisi con rigenerazione dell'enzima e formazione di acetato e colina.

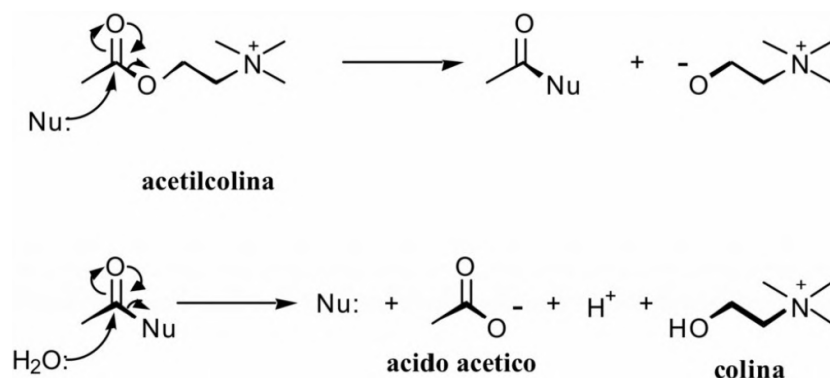


Figura 2.6: Degradazione della acetilcolina [73].



Figura 2.7: Reazione biochimica tra OP e ACHE [73].

Quando l'OPFR si inserisce nel sito attivo della acetilcolinesterasi, il gruppo nucleofilo (X) va ad attaccare il fosforo presente nell'insetticida e si forma un complesso inattivo con le molecole OP, con conseguente tossicità colinergica man mano che l'attività enzimatica diminuisce. Il cui sito attivo è "bloccato" dalla presenza del residuo contenente il fosforo. Il legame tra la serina(dell'enzima) e il residuo col fosforo non può essere idrolizzato, ovvero la serina non si può più "liberare" e l'acetilcolinesterasi non può più essere utilizzata per la reazione descritta in Figura 2.7. Questo significa che non si possono avere più contrazioni muscolari. L'inibizione dell'ACHE induce l'acetilcolina a raccogliersi nella fessura sinaptica, con conseguente stimolazione continua della membrana postsinaptica. Questa modalità di azione causa una mancanza di coordinazione nel sistema neuromuscolare. Inoltre, l'inibizione dell'ACHE può anche influenzare la funzione linfocitaria. L'esposizione prolungata a OPFR ha dimostrato proprietà neurotossiche [73].

3 Lo strumento

Per la determinazione dei ritardanti di fiamma organofosfati nei campioni di aerosol atmosferico è stata utilizzata una tecnica analitica iperata accoppiando il cromatografo liquido ad ultra alte prestazioni Ultimate 3000 UHPLC System allo spettrometro di massa a triplo quadrupolo TSQ AltisTM Plus (Thermo Scientific, Waltam, USA) equipaggiato con una sorgente H-ESI (*Heated Electrospray Ionization*). La tecnica cromatografica ha l'obiettivo di separare gli analiti in esame presenti in una matrice complessa; tramite lo spettrometro di massa gli analiti vengono in seguito ionizzati, frammentati e rivelati in base ai rapporti massa su carica (m/z) degli ioni generati.

3.1 High Performance Liquid Chromatography - HPLC

La cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC) è una tecnica analitica che ha lo scopo di separare i singoli composti contenuti in miscele complesse. In particolare, questa tecnica è efficace nel separare composti organici non volatili e termolabili. La tecnica si basa sulla ripartizione dei composti contenuti nel campione tra una fase mobile liquida e una fase stazionaria: durante l'eluizione della fase mobile in una colonna contenente la fase stazionaria, avvengono dei continui e rapidi equilibri di ripartizione degli analiti in soluzione, che si distribuiscono tra le due fasi in base alla loro affinità per esse. L'analita che ha maggiore affinità con la fase mobile interagisce meno con la fase stazionaria ed eluisce in tempi più brevi, mentre gli analiti che hanno maggiore affinità con la fase stazionaria, e quindi vengono maggiormente trattenuti, eluiscono in tempi più lunghi.

L'output che si ottiene dall'analisi cromatografica è un cromatogramma, un grafico che riporta il segnale analitico in funzione del tempo. Il cromatogramma presenta una serie di picchi con relativo tempo di ritenzione di ciascun analita. L'identificazione dei picchi permette di svolgere analisi qualitative; inoltre il segnale analitico è funzione della concentrazione e questo permette di svolgere un'analisi quantitativa.

La qualità della separazione cromatografica è definita dal fattore di selettività (α), che dipende dalla capacità della fase stazionaria di trattenere gli analiti. Una buona selettività ($\alpha > 1$) si ottiene quando ogni composto ha tempi di eluizione diversi, ovvero quando nel cromatogramma i picchi corrispondenti ai diversi analiti risultano

il più possibile distinti tra loro. Il fattore di selettività si calcola sperimentalmente tramite la valutazione dei tempi di ritenzione (t_R) degli analiti e del tempo morto (t_M). Ad esempio, considerando due analiti A e B, il fattore di selettività è dato dalla seguente formula:

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$$

Un altro parametro da valutare in cromatografia è l'efficienza della colonna, cioè la misura della capacità del sistema cromatografico di eluire tutte le molecole dello stesso analita con la stessa velocità, in modo tale che il cromatogramma presenti dei picchi stretti. L'efficienza di una colonna cromatografica viene misurata tramite il numero di piatti teorici (N) e l'altezza del piatto teorico (H), messi in relazione dalla seguente equazione:

$$N = L/H$$

dove L è la lunghezza della colonna. L'efficienza di una colonna aumenta con l'aumentare di N e con il diminuire di H. Un piatto teorico rappresenta la più piccola porzione di colonna cromatografica in cui per un dato analita si instaura l'equilibrio tra fase mobile e fase stazionaria.

N può essere calcolato anche conoscendo il tempo di ritenzione della sostanza (t_r) e la larghezza di base del picco (W_b), con la seguente formula:

$$N = 16 \left(\frac{t_r}{W_b} \right)^2$$

L'efficienza è regolata dall'equazione di van Deemter riportata di seguito:

$$H = A + \frac{B}{u} + C_s u + C_m u$$

dove u è la velocità della fase mobile, B è il coefficiente di diffusione lineare e C_s e C_m sono rispettivamente i coefficienti di trasferimento di massa della fase stazionaria e mobile. Per le colonne impaccate, C_m è direttamente proporzionale al quadrato del diametro delle particelle del materiale di impaccamento. Questo comporta che più piccole sono le dimensioni delle particelle minore è H e quindi si ha una maggiore efficienza della colonna.

La fase stazionaria è solitamente costituita da un solido inerte impaccato, le cui particelle sono caratterizzate da granulometria molto fine (tra 1.8 e 10 μm). La colonna è un tubo di acciaio con diametro di qualche millimetro e una lunghezza variabile tra 2 e 30 cm, adatto a sostenere le elevate pressioni di esercizio, che possono raggiungere i 300 bar nei sistemi convenzionali e fino a 1200 bar nei più recenti sistemi UHPLC (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*).

Per lo studio degli OPFR in aerosol atmosferico è stata usata la cromatografia liquida di ripartizione, in cui la fase stazionaria è un liquido immiscibile con la fase mobile, e in funzione delle loro relative polarità se ne distinguono due tipologie: a fase diretta, con fase stazionaria polare e fase mobile apolare; o a fase inversa, con fase stazionaria apolare e fase mobile polare. Per la separazione dei composti analizzati nel presente lavoro è stata impiegata l'HPLC di ripartizione a fase inversa. I principali vantaggi di questa tecnica sono la possibilità di impiegare acqua come fase mobile, con diverse percentuali di solventi organici, tra cui metanolo e acetonitrile, e che il carattere non polare della fase stazionaria rende i trasferimenti di massa più rapidi. La velocità di flusso sono comprese tra 50 $\mu\text{L min}^{-1}$ e 5 mL min^{-1} .

Il sistema cromatografico usato per questo lavoro di tesi è l'Ultimate 3000 UHPLC System (Thermo ScientificTM, Whaltam, USA), mostrato in Figura 3.1. Nel modulo in alto, sono alloggiati i serbatoi per i solventi organici e acquosi che costituiscono la fase mobile. La fase mobile può essere composta da un solo solvente o da una miscela di più solventi, e la sua composizione può essere mantenuta costante durante tutta la corsa cromatografica (eluizione isocratica) o fatta variare secondo un gradiente (eluizione a gradiente). Il secondo comparto è dedicato all'alloggiamento delle pompe, che spingono le fasi mobili all'interno del sistema, e di un degassatore atto ad eliminare eventuali bolle d'aria formatesi nel sistema stesso. Vi è poi un campionatore automatico termostatato che permette di iniettare in colonna un preciso volume di campione, e un ulteriore comparto termostatato in cui alloggia la colonna cromatografica. Tra l'iniettore e la colonna è inserita una pre-colonna, più corta e con fase stazionaria simile alla colonna analitica che ha lo scopo di rimuovere le impurezze contenute nel solvente e nel campione, le quali potrebbero danneggiare la colonna analitica o interferire con l'analisi. Infine, l'ultimo modulo ospita il rivelatore (necessario in caso non venisse applicata la tecnica ifenata HPLC-MS/MS), che produce un segnale in funzione

della concentrazione degli analiti ed è collegato ad un software che ne rende possibile l'elaborazione.



Figura 3.1: Sistema cromatografico Ultimate 3000 UHPLC (Thermo ScientificTM).

Per la separazione cromatografica dei ritardanti di fiamma è stata utilizzata la colonna kinetex® C18-polar (Phenomenex®). Come fasi mobili sono state utilizzate una fase A composta da acqua acidificata con 0.01% di acido formico e una fase B composta da una miscela di metanolo e acetonitrile 50:50 con 0.01% di acido formico.

3.2 Spettrometro di massa

La spettrometria di massa è una tecnica analitica che permette di identificare e quantificare gli analiti che compongono una miscela, precedentemente ionizzati e frammentati, sulla base del loro rapporto m/z . Uno spettrometro di massa, il cui schema a blocchi è mostrato in Figura 3.2, presenta tre componenti principali:

- sorgente, che ha la funzione di volatilizzare, frammentare e ionizzare gli analiti;
- analizzatore, che ha la funzione di selezionare e distinguere i vari frammenti in funzione del loro rapporto m/z ;
- detector, che misura l'intensità del segnale.

Le tre principali componenti dello spettrometro sono collegate tra di loro attraverso dei sistemi di trasferimento di ioni.

In questo lavoro di tesi è stato usato lo spettrometro di massa a triplo quadrupolo TSQ AltisTM Plus (Thermo ScientificTM) raffigurato in Figura 3.3.

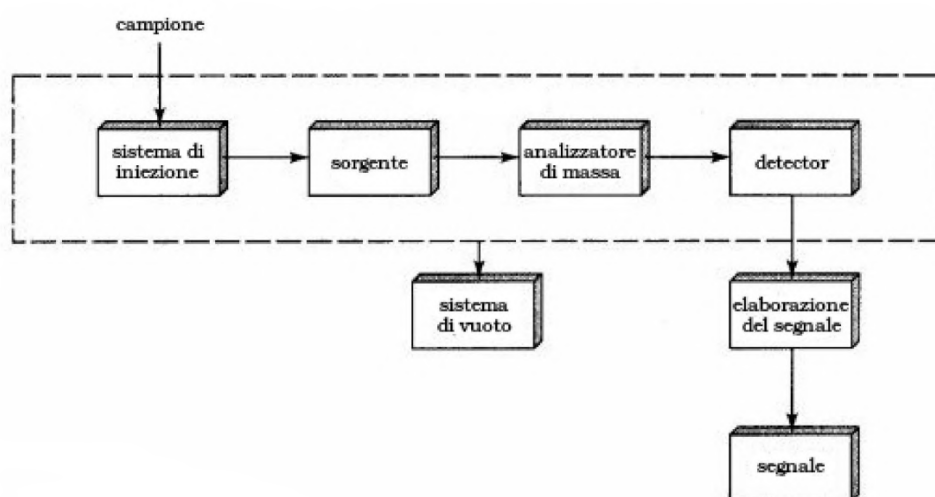


Figura 3.2: Schema a blocchi di uno spettrometro di massa.



Figura 3.3: Spettrometro di massa a triplo quadrupolo TSQ AltisTM Plus (Thermo ScientificTM).

3.2.1 Sorgente

L'accoppiamento tra un cromatografo liquido e uno spettrometro di massa necessita di una sorgente capace di ionizzare gli analiti e rimuovere completamente l'eluente e le

alte pressioni del comparto cromatografico, attraverso un'interfaccia tale da preservare il vuoto di $10^5 - 10^6$ Torr caratteristico dell'analizzatore. I sistemi più diffusi per l'accoppiamento HPLC-MS sono le sorgenti API (*Atmospheric Pressure Ionization*), che permettono di desolvatare il campione e ionizzare gli analiti in arrivo dal sistema cromatografico.

Per il presente lavoro di tesi è stata utilizzata la sorgente H-ESI (*Heated Electrospray Ionization*), che permette l'analisi di composti ionici polari facilmente ionizzabili (Figura 3.4). La soluzione proveniente dalla colonna cromatografica attraversa un ago capillare, al quale viene applicato un potenziale elettrico, che provoca la ionizzazione degli analiti. Si forma così un fascio di ioni, detto cono di Taylor, che viene nebulizzato e desolvato grazie ad un gas inerte (solitamente azoto) riscaldato ad alte temperature. Dal cono di Taylor si staccano goccioline cariche, e la progressiva evaporazione del solvente porta ad una veloce diminuzione delle loro dimensioni e ad un aumento della loro densità di carica superficiale. Al raggiungimento di un livello critico, detto limite di Rayleigh, avviene un'esplosione di Coulomb, che provoca la completa desolvatazione degli ioni. Gli ioni prodotti vengono indirizzati verso l'analizzatore tramite un cono, con un foro centrale, a cui è applicato un potenziale opposto agli ioni, seguito da un tubo capillare (*ion transfer tube*).

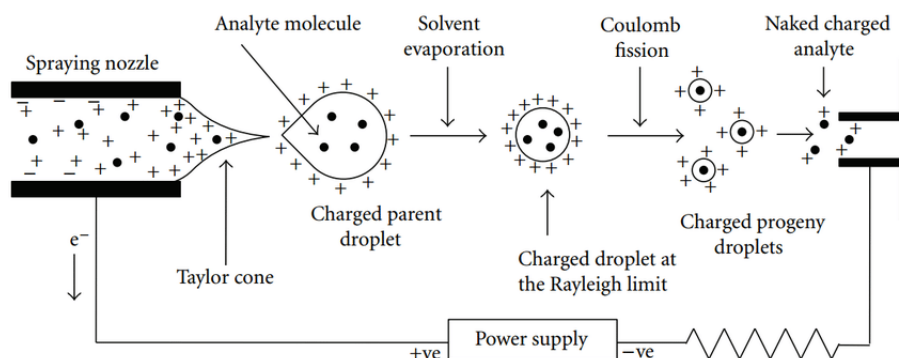


Figura 3.4: Schema della sorgente ESI.

3.2.2 Analizzatore

Lo spettrometro di massa a triplo quadrupolo (QqQ) è costituito, in realtà, da quattro quadrupoli posti in serie.

Il quadrupolo è un filtro di massa formato da quattro barre metalliche poste in parallelo tra loro, una coppia orizzontalmente e l'altra verticalmente. Sulle barre vengono ap-

plicati un potenziale elettrico continuo, positivo per una coppia e negativo per l'altra, e un potenziale elettrico a radiofrequenza che inverte il potenziale delle coppie durante l'analisi, in modo tale da generare un potenziale oscillante. Gli ioni vengono accelerati verso le barre grazie alle lenti focalizzatrici poste prima del quadrupolo. In funzione del potenziale applicato, solo gli ioni con un determinato rapporto m/z possono attraversare il quadrupolo e raggiungere il detector, mentre quelli con rapporto m/z superiore o inferiore compiono delle traiettorie che li portano a scontrarsi con le barre e ad essere così neutralizzati.

In Figura 3.5 è rappresentato lo schema a blocchi delle componenti del TSQ AltisTM Plus Triple Quadrupole Mass Spectrometer utilizzato per le analisi. Inizialmente è posizionato un quadrupolo (Q0) che ha come unica funzione la focalizzazione degli ioni in ingresso nell'analizzatore. I quadrupoli Q1 e Q3 agiscono da filtri di massa veri e propri, permettendo di selezionare particolari ioni in base ai potenziali che si applicano nelle quattro barre. Il quadrupolo centrale (Q2) è riempito con un gas inerte e funge da cella di collisione: lo ione selezionato dal Q1 viene frammentato per collisione con le molecole di gas (argon) in Q2, e i frammenti generati vengono analizzati in Q3. La cella di collisione non è lineare, ma presenta un certo raggio di curvatura, favorendo la riduzione dei gruppi atomici neutri e quindi riducendo il rumore di fondo. Il passaggio dei frammenti tra i quadrupoli è favorito dalla presenza, tra di essi, di lenti focalizzatrici alle quali vengono applicati potenziali opposti alla carica degli ioni.

L'analizzatore a triplo quadrupolo può operare in diverse modalità. Le più semplici sono la modalità *full scan*, in cui il Q1 scansiona tutti i rapporti m/z , e la modalità *Single Ion Monitoring* (SIM), in cui il Q1 effettua la scansione solo di uno specifico rapporto m/z . Altre modalità più complesse sono le seguenti:

- *product ion scan*, in cui Q1 opera in SIM selezionando uno ione con uno specifico rapporto m/z che viene successivamente frammentato in Q2, e i frammenti generati vengono analizzati in *full scan* in Q3;
- *precursor ion scan*, in cui Q1 opera in *full scan* e Q3 seleziona un singolo frammento generato dalla cella di collisione;
- *neutral loss scan*, in cui sia Q1 che Q3 operano in *full scan*, mantenendo tra di loro una differenza prefissata di m/z . Questo significa che, fissata una differenza

x, Q3 rivela solo i frammenti degli ioni selezionati in Q1 che corrispondono a $(m/z-x)$;

- *Single Reaction Monitoring (SRM)*, in cui Q1 opera in SIM su un determinato rapporto m/z mentre Q3 scansiona il rapporto m/z di uno dei frammenti generati in Q2. Nel caso in cui vengano selezionati multipli frammenti, questa modalità prende il nome di *Multiple Reaction Monitoring (MRM)*.

Nel presente lavoro l'analizzatore è stato usato in modalità MRM, che rappresenta quella più idonea per analisi quantitative data l'elevata selettività.

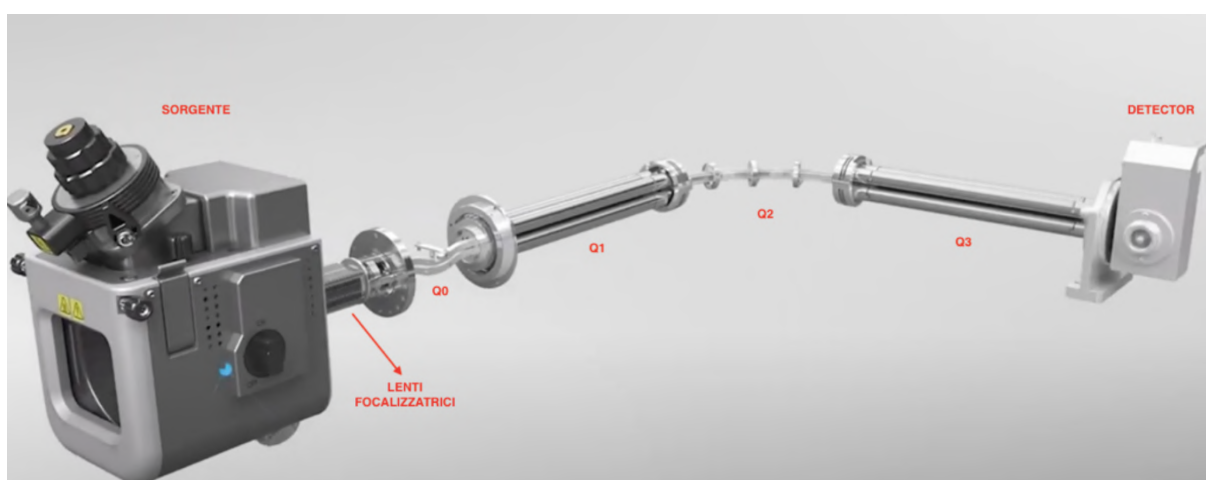


Figura 3.5: Rappresentazione delle componenti del triplo quadrupolo TSQ Altis™ Plus Triple Quadrupole Mass Spectrometer.

3.2.3 Detector

Il detector è un elettromoltiplicatore a dinodo continuo, costituito da due elettrodi con superficie curva posti parallelamente tra loro, lungo i quali è applicato un gradiente di potenziale. Gli ioni in uscita dal terzo quadrupolo vengono convogliati verso il detector per mezzo di una serie di lenti focalizzatrici. Quando gli ioni collidono sulla superficie del detector, liberano elettroni che vengono moltiplicati nei successivi urti con le pareti generando un gradiente di potenziale. Il segnale elettrico viene poi convertito in un segnale digitale che fornisce il numero di ioni in relazione alla loro massa.

4 Aspetti teorici del metodo analitico

Al fine di effettuare uno studio analitico, vengono innanzitutto definiti l'obiettivo dell'analisi e le proprietà chimico-fisiche degli analiti da analizzare; dopodiché si stabilisce la procedura analitica, o metodo analitico, ovvero l'insieme della procedura preanalitica e del metodo strumentale. La preanalitica consiste nell'insieme delle operazioni necessarie per preparare il campione all'analisi, mentre la preparazione di un metodo strumentale consiste nell'individuare la tecnica analitica più adatta, ottimizzando le condizioni operative dello strumento selezionato. Per garantire che le prestazioni del metodo siano sufficienti per lo studio desiderato, è necessario validarlo, tramite il calcolo di alcuni parametri specifici descritti nel paragrafo 4.4.

4.1 Metodo strumentale di spettrometria di massa

L'obiettivo è sviluppare un metodo strumentale che consenta allo spettrometro di massa di identificare gli analiti in uscita dal cromatografo. Pertanto, vengono iniettate direttamente in sorgente, mediante infusione diretta con una siringa Fusion 100 Dual Syringe Pump (Chemic Inc.), le soluzioni standard dell'analita e dello standard interno marcato isotopicamente a una concentrazione nominale di 1 mg L^{-1} . In base alle informazioni bibliografiche ottenute e alle proprietà chimiche degli analiti, viene selezionata la sorgente di ionizzazione migliore. Inizialmente, lo ione precursore di ciascun analita viene identificato mediante modalità *full scan* in Q1. Successivamente attraverso la modalità SIM in Q1, viene selezionato lo ione precursore per i diversi analiti e vengono verificate la stabilità del segnale (RSD%) e la massima intensità del segnale, modificando il potenziale applicato all'ago della sorgente (*ion spray voltage*) e la pressione dei gas per ottenere un segnale adeguato. Infine, ciascuno ione precursore viene frammentato nella cella di collisione (Q2) mentre Q3 opera in *full scan*, al fine di visualizzare i frammenti prodotti. Il sistema in automatico ottimizza il voltaggio delle lenti focalizzatrici (*RF lens*) e l'energia di collisione per i frammenti con il segnale più intenso individuati.

4.2 Metodo strumentale cromatografico

L'obiettivo è sviluppare un metodo strumentale cromatografico che consenta di avere una buona separazione degli analiti, con un tempo per corsa cromatografica ragionevole,

al fine di ottimizzare tempi e costi. A tale fine risultano indispensabili la scelta del tipo di colonna cromatografica, della fase mobile e della velocità di flusso. L'ottimizzazione si effettua attraverso una serie di misure cromatografiche utilizzando diversi tipi di colonna e differenti composizioni della fase mobile. Nel caso di un'eluizione a gradiente, è necessario anche scegliere quello migliore per le tre fasi che compongono la corsa cromatografica: eluizione, lavaggio ed equilibratura. Per aumentare l'intensità del segnale, vengono infine ottimizzati i parametri di sorgente: potenziale di ionizzazione, flusso dei gas ausiliari, temperatura di desolvatazione e dell'*ion transfer tube*.

4.3 Preanalitica

Una volta definito il metodo strumentale, si passa alla valutazione della preanalitica, che consiste in una serie di operazioni finalizzate a trasformare il campione in una matrice idonea all'analisi strumentale. La fase principale della preanalitica è l'estrazione del campione, che consiste nel trasferimento degli analiti dalla matrice di partenza a una più idonea all'analisi. I principali metodi di estrazione si dividono in estrazione liquido/liquido e solido/liquido, in modalità continua o discontinua. Spesso la fase preanalitica prevede anche la preconcentrazione del campione e, solo se necessaria, la purificazione. In questo lavoro di tesi, la procedura preanalitica adottata consiste in un'estrazione solido/liquido discontinua in acqua ultra-pura mediante bagno a ultrasuoni, finalizzata ad estrarre gli analiti dai campioni di aerosol raccolti su filtri di quarzo (QFF), e in una successiva fase di filtrazione dell'estratto mediante filtri in PTFE, vengono rimossi i residui di QFF e il particolato non disciolto. Maggiori dettagli sulla procedura di trattamento dei campioni sono riportati nel paragrafo 6.4.

4.4 Validazione del metodo

Lo scopo della validazione di un metodo analitico è confermare e dimostrare l'adeguatezza della procedura sviluppata per le analisi di interesse. I parametri per la validazione considerati in questo studio sono:

- Intervallo di linearità: il metodo deve essere in grado di fornire segnali direttamente proporzionali alla concentrazione degli analiti, con un andamento lineare, all'interno di un dato intervallo di validità. La linearità viene confermata cal-

colando il coefficiente di correlazione (R^2) della retta di calibrazione, ottenuta analizzando una serie di soluzioni standard contenenti concentrazioni note e crescenti dei composti in esame e una concentrazione media costante di standard interno. Generalmente sono accettati coefficienti di correlazione pari ad almeno 0.99.

- Limite di rivelabilità (*Limit of Detection*, LOD) e limite di quantificazione (*Limit of Quantification*, LOQ) strumentali: corrispondono alla concentrazione più bassa di analita che lo strumento è in grado rispettivamente di rilevare e di quantificare. Si riferiscono esclusivamente alla fase analitica strumentale e vengono definiti calcolando il rapporto segnale/rumore che deve essere maggiore di 3 e di 10 rispettivamente per LOD e LOQ.
- Limite di rivelabilità (*Method Detection Limit*, MDL) e limite di quantificazione (*Method Quantification Limit*, MQL) procedurali: corrispondono alla concentrazione più bassa di analita che risulta rispettivamente rilevabile e quantificabile sperimentalmente. Il MDL è pari a 3 volte la deviazione standard del segnale del bianco procedurale, mentre il MQL è pari a 10 volte tale deviazione standard.
- Precisione della misura: è il grado di dispersione di dati rilevati individualmente rispetto al valore medio della serie a cui appartengono. Si definisce attraverso la ripetibilità e la riproducibilità. La ripetibilità si riferisce alla concordanza tra misure indipendenti ottenute con identiche condizioni e viene espressa in termini di coefficiente di variazione percentuale (CV%), dato dal rapporto tra la deviazione standard (σ) e la media dei valori indipendenti (\bar{x}): $CV\% = (\sigma/\bar{x}) \cdot 100$. Per essere ritenuto accettabile, CV% deve essere inferiore a 10%.
La riproducibilità invece indica la concordanza tra risultati di prova ottenuti con lo stesso metodo su materiali identici ma da laboratori ed operatori diversi.
- Accuratezza: indica la concordanza tra il valore medio della concentrazione di analita ottenuto sperimentalmente e un valore di riferimento noto. Si misura calcolando l'errore relativo percentuale, ovvero quanto il valore determinato (x) si discosta dal valore vero (μ), tramite la seguente formula:

$$Err\% = (x - \mu/\mu) \cdot 100$$

- Resa o recupero: indica la quantità di analita determinata da un metodo di analisi rispetto alla quantità totale

Per la validazione del metodo proposto in questa tesi, non essendo presente sul mercato un materiale certificato per gli aerosol atmosferici, sono stati impiegati gli stessi materiali utilizzati durante il campionamento, i filtri di quarzo, che hanno subito la stessa preanalitica dei campioni e a cui sono state aggiunte quantità note di soluzioni standard.

4.5 Quantificazione

Il metodo di quantificazione utilizzato in questo lavoro di tesi si basa sull'impiego dello standard interno, una molecola che possiede proprietà chimico-fisiche simili agli analiti di interesse, ma che è stata marcata isotopicamente. In pratica, prima del trattamento preanalitico, al campione viene aggiunta una soluzione contenente lo standard marcato a una concentrazione nota e dal rapporto tra l'area del picco cromatografico dell'analita in esame e l'area del picco dello standard è possibile risalire alla concentrazione dell'analita. È però necessario normalizzare la risposta strumentale al fine di compensare eventuali variazioni nel segnale dello strumento. A tale scopo viene preparata una soluzione contenente lo standard interno marcato e tutti gli analiti a concentrazione nota. Questa soluzione viene analizzata per calcolare il fattore di risposta (FR), un fattore correttivo da applicare al calcolo delle concentrazioni degli analiti nei campioni, dato dalla seguente formula:

$$FR = \frac{A_{analita}}{A_{std.int}} \cdot \frac{C_{std.int}}{C_{analita}}$$

in cui $A_{analita}$ e $A_{std.int}$ indicano rispettivamente l'area del picco dell'analita e dello standard interno, mentre $C_{analita}$ e $C_{std.int}$ indicano rispettivamente la concentrazione dell'analita e la concentrazione dello standard interno.

5 Campionamento

5.1 Sito di campionamento

Il sito di campionamento si trova presso l'Osservatorio del Col Margherita (Falcade, BL), la cui immagine e posizione sono riportate in Figura 5.1.



Figura 5.1: Posizione su Google Maps del sito di campionamento e Osservatorio del Col Margherita.

L'Osservatorio del Col Margherita (identificato con la sigla MRG) è una stazione regionale WMO-GAW (*World Meteorological Organization Global Atmosphere Watch*), istituita nel 2012 e guidata dall'Istituto di Scienze Polari del Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISP-CNR). L'Osservatorio (46.36° N, 11.79° E, 2543 m s.l.m.) si trova all'interno del patrimonio UNESCO delle Dolomiti Bellunesi ed è incluso nel comprensorio sciistico di Passo San Pellegrino, nel comune di Falcade. L'Osservatorio del Col Margherita è stato proposto come primo sito di fondo alpino nelle Alpi Orientali, in particolare per la sua posizione sul versante meridionale delle Alpi. L'osservatorio dista più di 5 chilometri dalla città più vicina e si trova su una delle vette più alte della regione. La sua elevata altitudine e la distanza da fonti antropiche lo rendono un luogo di campionamento molto importante per il monitoraggio dell'aerosol. Sebbene la presenza di contaminanti possa essere influenzata dal trasporto dei venti locali, la topografia della regione consente di studiare la circolazione atmosferica a lungo raggio. In generale, le aree montane sono considerate siti di riferimento per lo studio dell'inquinamento ambientale in aree remote, anche per la loro sensibilità ai cambiamenti climatici.

5.2 Campionatore

Il campionatore utilizzato per questo lavoro di tesi a MRG è lo Skypost PM₁₀ (Tecora, Monza-Brianza, Italia) (Figura 5.2), che permette di operare in continuo grazie ad un sistema di sostituzione sequenziale delle membrane filtranti avente un'autonomia di 15 filtri. Tale sistema consente di sostituire i filtri esposti senza interrompere il campionamento in corso e, inoltre, permette il controllo elettronico del flusso per un monitoraggio continuo dell'aerosol senza la necessità di un operatore in situ. I filtri sono costituiti da supporti in fibra di quarzo aventi un diametro di 47 mm. L'integrità del campione è garantita dal percorso rettilineo attraverso il tubo di aspirazione e dal mantenimento degli *holder* contenenti i filtri lontani da fonti di calore. Lo strumento è adatto all'utilizzo anche in condizioni ambientali estreme, grazie al controllo termostatico e ad un sistema di riscaldamento e ventilazione differenziato che evita danni delle parti elettriche dello strumento.



Figura 5.2: Campionatore Skypost PM₁₀ (Tecora, Monza-Brianza, Italia), in uso presso l'Osservatorio del Col Margherita.

5.3 Campionamento

La campagna di campionamento presso MRG è stata condotta nel periodo che va dal 07/09/2022 fino al 29/10/2023. I campioni dal 10/01/2023 al 11/04/2023 non sono stati analizzati in quanto non disponibili a causa di un problema tecnico al campionatore. Sono stati raccolti 80 campioni con risoluzione temporale pari 4 giorni (96 h) ciascuno. Il campionatore operava con flusso pari a 38.3 L min^{-1} , e il volume d'aria campionato per ogni campione risulta in media di 320 m^3 . Un totale di 7 bianchi di campo sono stati raccolti all'inizio, durante e alla fine della campagna di campionamento, caricando il filtro nell'holder dello strumento per 5 minuti con la pompa a vuoto spenta.

6 Messa a punto del metodo analitico

6.1 Standard e materiali

Nel presente lavoro di tesi sono state utilizzate delle soluzioni standard con una concentrazione media nominale di 1000 mg L^{-1} ottenute sciogliendo o diluendo in metanolo una quantità nota di sostanza ad elevato grado di purezza. Le soluzioni ottenute sono state conservate in congelatore alla temperatura di -20°C . In Tabella 6.1 sono riportati gli standard utilizzati, mentre in Tabella 6.2 sono riportate le concentrazioni effettive delle soluzioni standard primarie di ciascun analita. Per questo lavoro di tesi è stato usato uno standard interno marcato isotopicamente al deuterio (trifenilfosfato D15).

Tabella 6.1: Analita, n°CAS, casa fornitrice e stato fisico degli standard utilizzati.

Standard	n°Cas	Fornitore	Stato fisico
Trimetilfosfato (TMP)	512-56-1	LGC Standards	liquido
Trietilfosfato (TEP)	78-40-0	LGC Standards	liquido
Trifenilfosfato (TPP)	115-86-6	LGC Standards	solido
Tris(2-cloroetil)fosfato (TCEP)	115-96-8	LGC Standards	liquido
Tris(1,3-dicloro-2-propil)fosfato (TDCP)	115-96-8	LGC Standards	liquido
Tris(1-cloro 2-propil)fosfato (TCPP)	13674-84-5	LGC Standards	solido
Trifenilfosfato D15	1173020-30-8	LGC Standards	solido

Tabella 6.2: Concentrazioni standard reali in mg L^{-1} .

Standard	TMP	TEP	TPP	TCEP	TCPP	TDCP	TPPd15
mg L^{-1}	1431	1475	1814	1273	1255	974	1263

In seguito sono elencati i solventi utilizzati per questo lavoro di tesi:

- acido formico (CH_2O_2) (98%) (Fluka)
- acetonitrile ultragradiente (CH_3CN) (Romil LTD, Cambridge, UK)
- acqua ultrapura (18.2 ΩM , 1 mg L^{-1} TOC)
- metanolo ultragradiente (CH_3OH) (Romil LTD, Cambridge, UK)

6.2 Sviluppo del metodo strumentale

6.2.1 Metodo strumentale spettrometria di massa

Lo sviluppo del metodo di spettrometria di massa è stato eseguito mediante infusione diretta delle soluzioni standard dei diversi analiti a concentrazione nominale di 1 mg L^{-1} , preparate per diluizione in acqua ultrapura delle soluzioni a 1000 mg L^{-1} . L'infusione è stata eseguita mediante una pompa a siringa ad un flusso di $10 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$. Le caratteristiche della sorgente di tipo H-ESI in modalità positiva sono ideali per garantire la ionizzazione degli analiti in esame.

A titolo di esempio vengono presentati i singoli passaggi dello sviluppo del metodo in spettrometria di massa per il trietilfosfato (TEP).

La prima fase dello sviluppo del metodo prevede l'identificazione degli ioni precursori operando con Q1 modalità in *full scan*, impostando un range di m/z tale da comprendere quello dell'analita in esame. In Figura 6.1 si riporta lo spettro ottenuto da 135 m/z a 230 m/z , in cui è stato identificato lo ione precursore $[M + H]^+$ a 183 m/z , che coincide con lo ione molecolare carico positivamente. Successivamente, Q1 viene

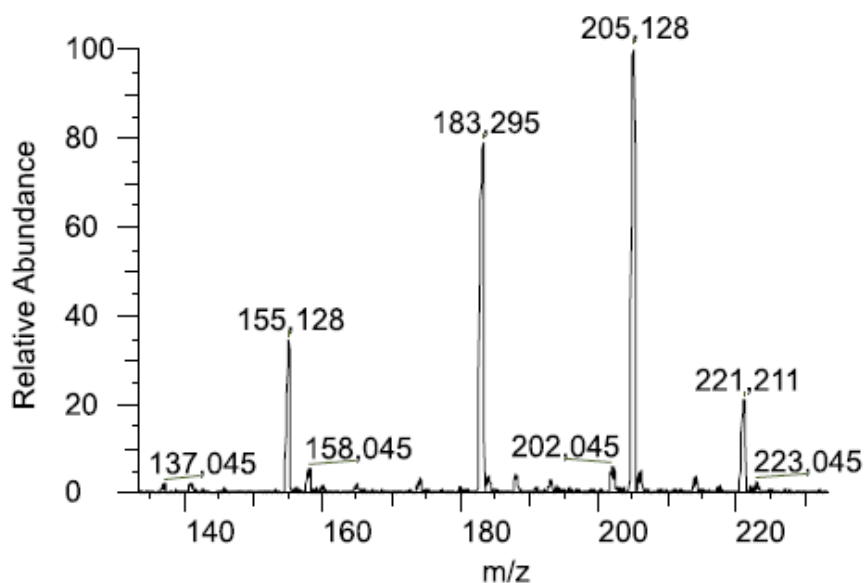


Figura 6.1: Spettro di acquisizione full scan del TEP.

impostato in modalità SIM al valore m/z dello ione precursore (183 m/z) e viene, ottimizzato il potenziale delle lenti focalizzatrici per aumentarne l'intensità del segnale. Il valore ottimale delle lenti risulta di 39.6 V (Figura 6.2).

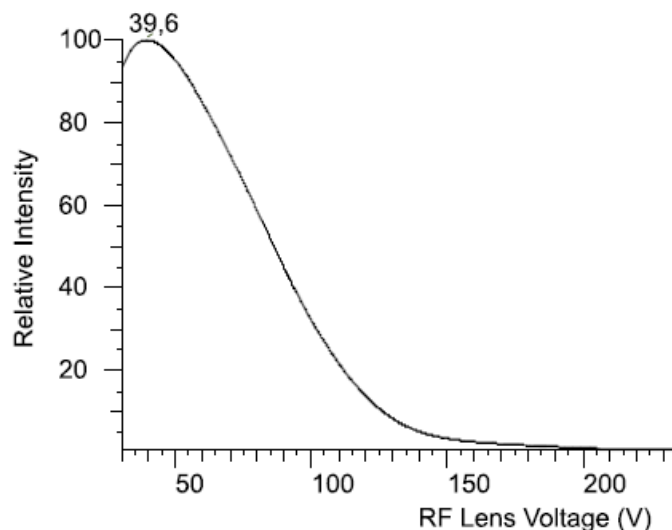


Figura 6.2: Grafico del potenziale delle lenti focalizzatrici del TEP.

Una volta individuato lo ione precursore e verificata la stabilità del segnale, mediante la modalità *product ion scan* si individuano i frammenti più abbondanti. In Figura 6.3 si riporta lo spettro ottenuto, in cui i frammenti più abbondanti risultano quelli aventi m/z pari a 99, 81, 127 e 155. Per ciascun frammento si ottimizza il valore dell'energia di collisione: per il frammento più abbondante (99 m/z), ad esempio, si ha un valore ottimale pari a 20 V, come mostrato in Figura 6.4.

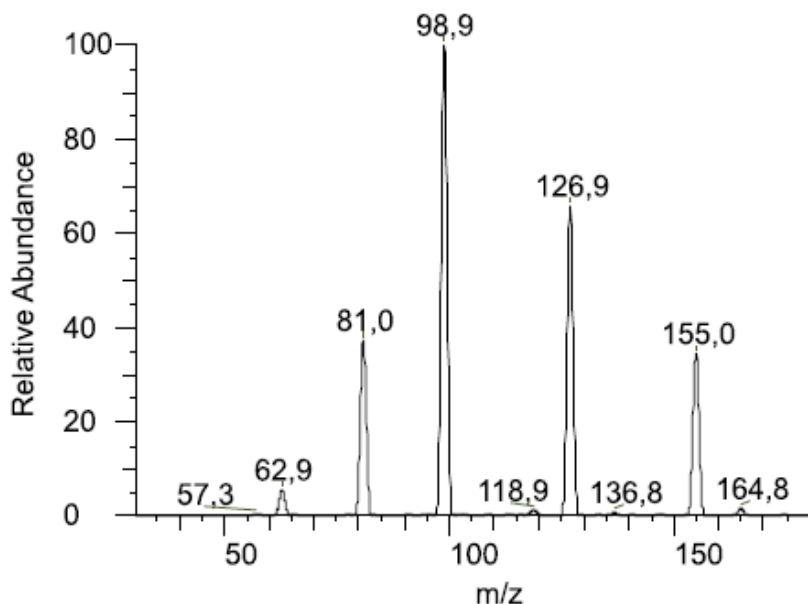


Figura 6.3: Spettro di acquisizione product ion scan del TEP.

Per alcuni analiti sono stati individuati più ioni molecolari (*pattern isotopico*) poiché la molecola contiene degli atomi di cloro, i quali in natura sono presenti sotto forma

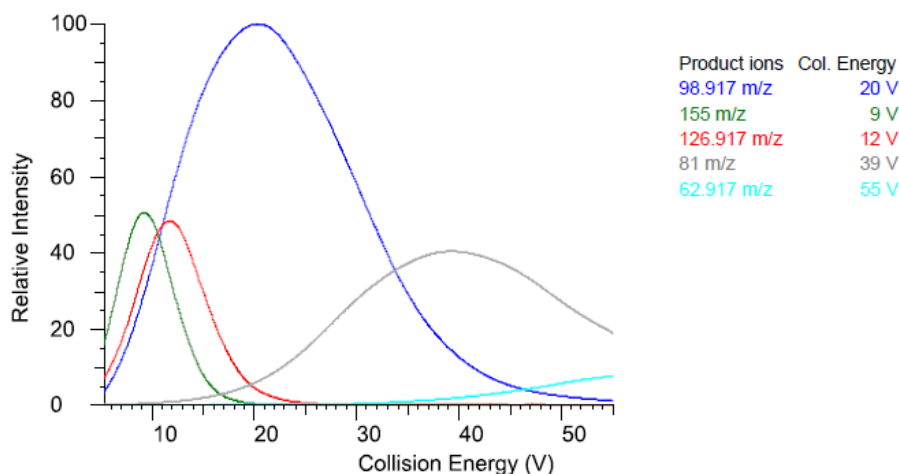


Figura 6.4: Grafico dell'energia di collisione del TCEP.

di due isotopi con abbondanze differenti (^{35}Cl 75.77% e ^{37}Cl 24.23%). Ad esempio il tris(2-cloroetil)fosfato (TCEP) può trovarsi sotto forma di $\text{C}_6\text{H}_{12}[\text{35}]\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$ (con peso molecolare 284 g mol^{-1}) o $\text{C}_6\text{H}_{12}[\text{35}]\text{Cl}_2[\text{37}]\text{ClO}_4\text{P}$ (con peso molecolare 286 g mol^{-1}). Come si nota in Figura 6.5 per il TCEP si osservano due ioni molecolari, aventi rispettivamente un rapporto m/z pari a 285 e 287. Al fine dello sviluppo del metodo analitico sono stati presi in considerazione gli isotopi più abbondanti. Successivamente grazie alle intensità e ai parametri di validazione sono stati scelti, per ogni analita, gli isotopi che presentano i risultati migliori.

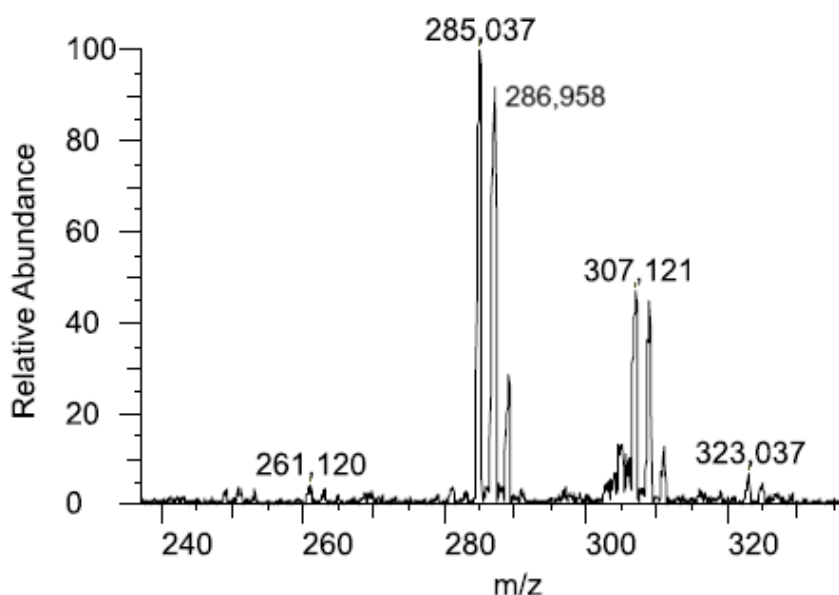


Figura 6.5: Spettro di acquisizione full scan del TCEP.

In Tabella 6.3 vengono riportate le transizioni in Q1 e in Q3 per i diversi OPFR analizzati in questo lavoro di tesi.

Tabella 6.3: Transizioni in Q1 e in Q3 per i diversi OPFR analizzati.

Composto	Precursore	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)
TMP	$[M + H]^+$	141	109
			79
			47
			77
			95
TEP	"	183	99
			155
			127
			81
			63
TPP	"	327	152
			215
			168
			251
			228
TPPd15	"	342	223
			160
			82
			262
			242
TCEP	"	287	99
			225
			125
			161
			223
TCPP	"	327	99
			251
			175
			81
			42
TDCP	"	431	99
			321
			209
			319
			211

6.2.2 Metodo strumentale cromatografico

Al fine della scelta del metodo cromatografico è stato inizialmente effettuato uno studio bibliografico sui metodi per l'analisi degli OPFR in matrici ambientali. La tecnica maggiormente utilizzata per l'analisi nella matrice aerosol risulta essere la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS). Questa tecnica risulta però avere una selettività limitata nella determinazione degli OPFR in matrici complesse a causa della presenza di interferenti. Questa problematica è stata risolta con l'uso della tecnica HPLC-MS. L'analisi HPLC è vantaggiosa poiché non necessita derivatizzazione, permette preparativa meno lunga, quindi di conseguenza meno passaggi che introducono rischio di contaminazione e perdita di campione. Solitamente viene impiegata HPLC di ripartizione a fase inversa con fasi stazionarie C18, in combinazione con sorgenti ESI e modalità di acquisizione MRM. Le fasi mobili più comunemente utilizzate sono le miscele di acqua (acidificata con acido formico o acido acetico) con acetonitrile o metanolo in eluizione a gradiente. L'acidificazione delle fasi mobili permette di migliorare la ionizzazione in positivo degli analiti [36, 38, 74, 75].

Per lo sviluppo del metodo sono state testate diverse colonne e fasi mobili in diverse condizioni operative, iniettando nello strumento una soluzione standard contenente tutti gli analiti e lo standard interno ad una concentrazione nominale media di $20 \mu\text{g L}^{-1}$, allo scopo di migliorare risoluzione, efficienza e selettività. In Tabella 6.4 sono elencate le colonne HPLC testate inizialmente con una fase A composta da acqua ultrapura con acido formico allo 0.1% e una fase B composta da acetonitrile con acido formico allo 0.1%. Il flusso di fase mobile è stato impostato a 0.25 mL min^{-1} , con un gradiente lineare partendo dal 10% di B fino ad arrivare al 100% B tornando poi al 10% B.

A titolo di esempio delle considerazioni fatte durante la scelta del metodo cromatografico, vengono riportati i cromatogrammi relativi al TMP nelle prime prove con differenti colonne (Figura 6.6). Il TMP è l'analita meno trattenuto dalla fase stazionaria, essendo il meno ingombrato stericamente e il più polare. Sarà quindi il primo a essere eluito e per tale motivo è necessario verificare che non esca a tempi troppo brevi e vicini al tempo morto, ovvero il tempo trascorso dall'iniezione del campione all'uscita del solvente o di un soluto non trattenuto dalla fase stazionaria.

La colonna betasil C18 $5\mu\text{m}$ è poco impaccata (avendo un diametro delle particelle elevato) con un alto carico di carbonio e la molecola di TMP non viene sufficiente-

Tabella 6.4: Colonne C18 a fase inversa testate in questo studio.

Parametro	Thermo Scientific BetaSil C18	Phenomenex Kinetex C18	Phenomenex Kinetex C18-polar
Dim. particelle (μm)	5	1.7	2.6
Dim. pori (\AA)	100	100	100
Area superficiale (m^2/g)	310	200	200
Carico di carbonio (%)	20	12	9
Encapped	sì	sì	sì
Lunghezza (mm)	100	100	150
I.D. (mm)	2.1	2.1	2.1
Range di pH	2-9	1.5 - 8.5	1.5 - 8.5

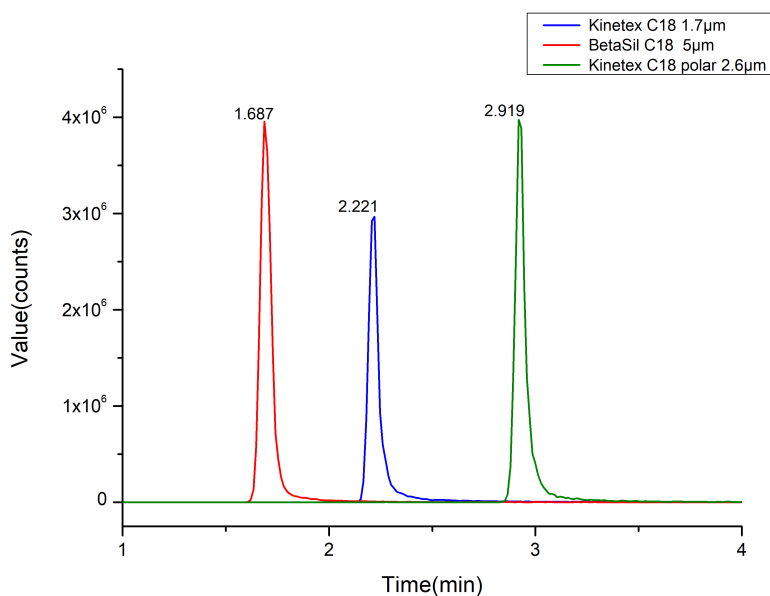


Figura 6.6: Cromatogrammi relativo al TMP nelle prove con differenti colonne.

mente trattenuta, come si osserva dalla curva rossa in Figura 6.6. Considerando gli altri analiti oggetto di studio, si è verificato che la selettività risultava insufficiente. Il TMP viene maggiormente trattenuto dalla colonna Kinetex C18 1.7 μm (Figura 6.6 curva blu), che è molto impaccata (avendo un diametro delle particelle più piccolo), e in misura ancora maggiore della Kinetex 2.6 μm C18-Polar (Figura 6.6, in verde). La colonna Kinetex® 2.6 μm C18-Polar (Phenomenex®), descritta in Figura 6.7 e in Tabella 6.4, contiene una fase stazionaria a fase inversa costituita da particelle di silice basate su una struttura cosiddetta *core-shell*, caratterizzata da un nucleo di silice non porosa circondato da un sottile strato di silice porosa. Essa presenta una superficie polare modificata e una fase alchilica C18, con area superficiale di $200 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, dimensione dei pori di 100 Å e carico di carbonio basso (12%). Grazie a questa particolare struttura, nucleo solido e guscio poroso, rispetto alle classiche particelle solide porose, gli analiti percorrono un percorso meno tortuoso, ottenendo di conseguenza dei picchi più stretti nel cromatogramma. La superficie modificata combinata C18 e polare che garantisce ritenzione per composti polari e non polari (anche aromatici). La colonna cromatografica è in grado di sopportare fasi mobili composte dal 100% di fase acquosa. Questa colonna ha una buona idrofobicità, garantendo quindi un'interazione degli analiti con le catene C18, e una elevata capacità di accettare legami a idrogeno. Gli analiti studiati possono interagire con la fase stazionaria grazie al gruppo fosfato e alle catene alchiliche relativamente corte.

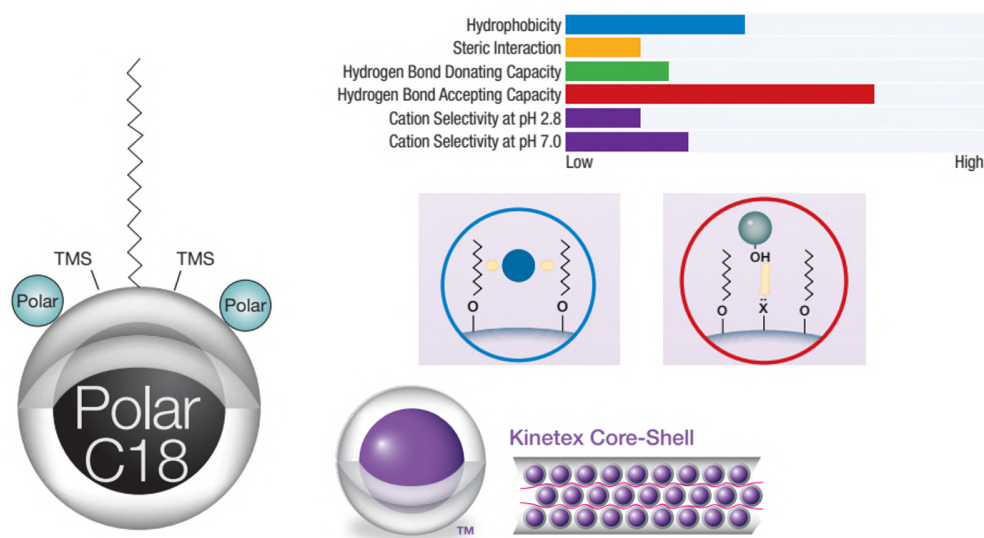


Figura 6.7: Descrizione colonna Phenomenex Kinetex 2.6 μm C18-Polar.

Una volta scelta la colonna, al fine di migliorare ulteriormente la ritenzione del il TMP e separare meglio gli altri analiti, sono stati cambiati gradiente e composizione della fase mobile B. Vengono riportati in Figura 6.8 i cromatogrammi relativi al TMP nelle differenti prove.

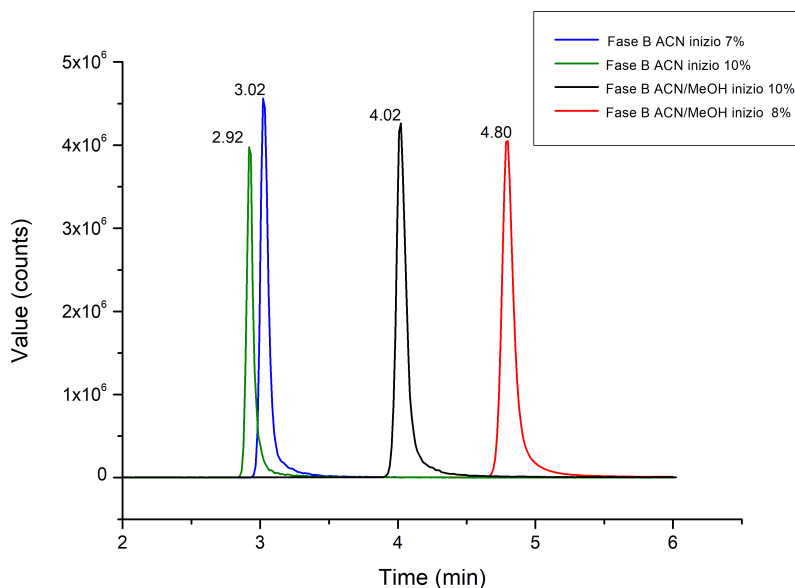


Figura 6.8: Cromatogrammi relativi al TMP nelle prove con differenti composizioni e gradienti di fase mobile .

Mantenendo come fase mobile B acetonitrile acidificato, il gradiente lineare iniziale è stato modificato a un gradiente a scalino: 0-4 min 7% B, 4-6 min da 7% a 50% B, 6-8 min 50% B, 8-9 min da 50% B a 100% B, 9-12 min 100% B, 12-12.5 da 100% B a 7% B 12.5-15 min 7% di B. (Figura 6.8 curva blu). Nel cromatogramma relativo alla corsa con gradiente lineare (Figura 6.8 in verde) si nota che il TMP viene poco trattenuto, , mentre durante la corsa a gradiente a scalino (Figura 6.8, in blu) si ottiene una sua migliore ritenzione oltre che una migliore la separazione e selettività tra gli altri analiti. È stata modificata la fase mobile B, passando da solo metanolo ad una miscela acetonitrile e metanolo 1:1 in modo tale da diminuire leggermente la polarità e permettere agli analiti di interagire meglio con la fase stazionaria (catena C18 con gruppi polari). Le fasi mobili vengono sempre acidificate con acido formico allo 0.1%. Dal cromatogramma risultante si nota infatti che i picchi di tutti gli analiti si spostano in avanti; a titolo di esempio viene sempre mostrato il TMP (Figura 6.8). Valutando poi il gradiente, è stato osservato che è necessaria una percentuale di fase acquosa iniziale elevata, che permette un'interazione tra analita e fase stazionaria più prolungata ri-

spetto a scenari con fase organica più presente, dato che l'acqua interagisce meno con le catene alchiliche della fase stazionaria lasciando spazio agli analiti di interagire e venire quindi trattenuti. Questo si nota prendendo in considerazione i cromatogrammi in nero e rosso (Figura 6.8) rispettivamente con fase B (fase organica) iniziale di 10% e 8%. Il gradiente prevede poi un aumento della fase B, con conseguente eluizione degli analiti. La corsa cromatografica scelta ha una durata di 15 min e un flusso di 0.25 mL min^{-1} . Il gradiente migliore, riportato in Figura 6.9, risulta essere il seguente: 0-3.5 min 8% B, 3.5-7 min da 8% a 50% B, 7-11.5 min 100% B, 11.5-15 min 8% B. Inoltre, prima della colonna cromatografica, è stata posizionata una pre-colonna Phenomenex SecurityGuard ULTRA Cartridges 9532 (Column ID 2.1mm), con lo scopo di evitare che i contaminanti presenti nel campione si accumulino nella colonna principale, prolungandone il periodo di utilizzo. Il metodo cromatografico sviluppato ha permesso un'ottimale separazione cromatografica dei OPFR in esame, come visibile in Figura 6.10. In Tabella 6.5 sono riportati per ogni analita i tempi di ritenzione (t_r) la larghezza alla base del picco (W_b), attraverso i quali sono stati calcolati il numero di piatti teorici (N) e l'altezza del piatto teorico (H). Più N è elevato più H è piccolo e l'efficienza della colonna è maggiore.

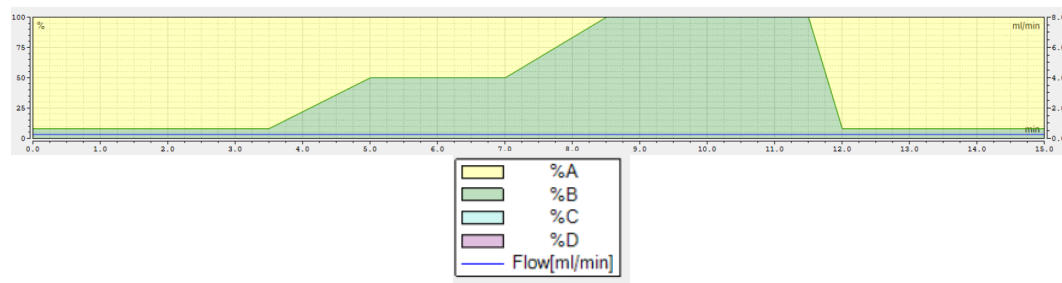
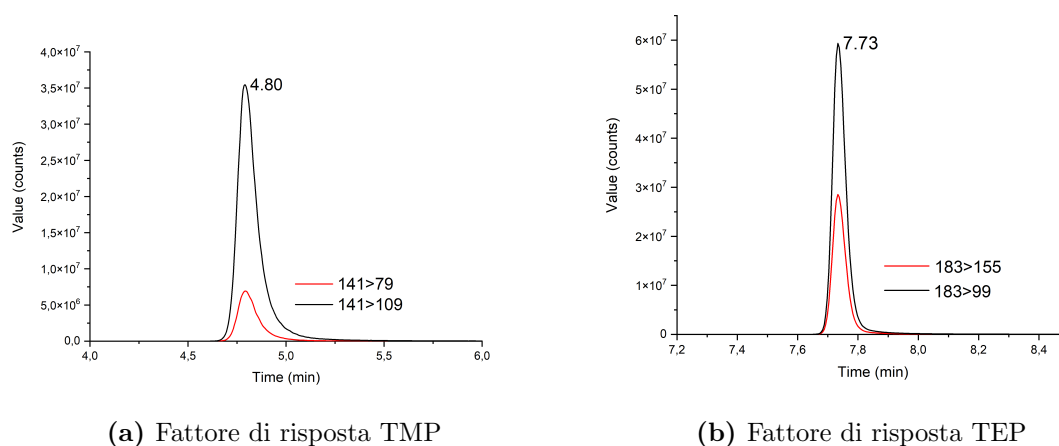
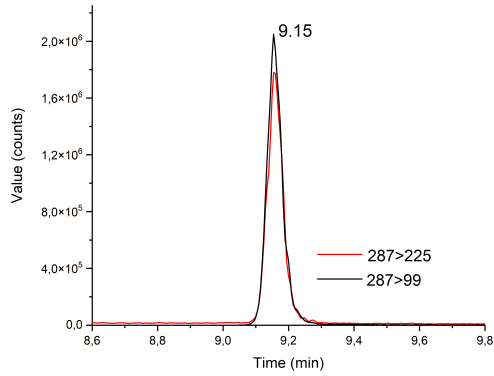
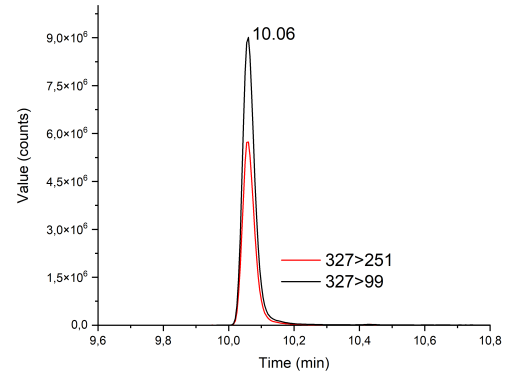


Figura 6.9: Gradiente delle fasi mobili A e B della corsa cromatografica.

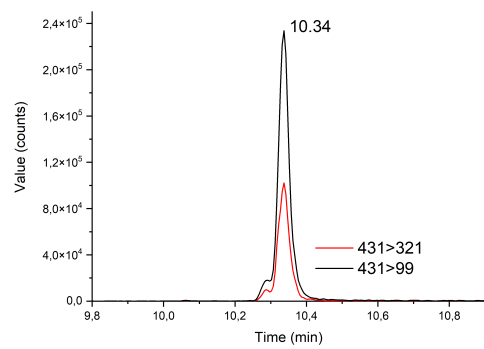




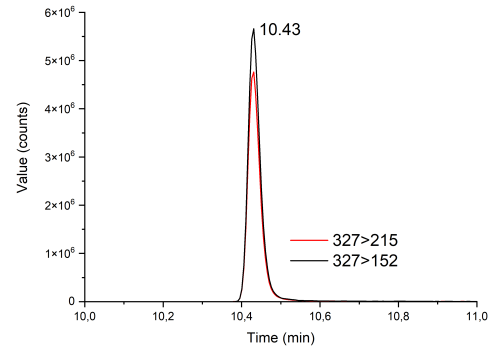
(c) Fattore di risposta TCEP



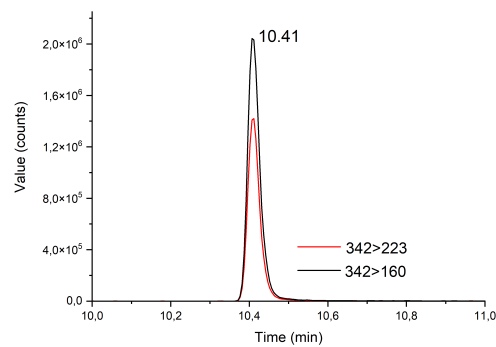
(d) Retta di taratura TCPP



(e) Retta di taratura TDCP



(f) Retta di taratura TPP



(g) Retta di taratura TPP D15

Figura 6.10: Fattore di risposta degli OPFR analizzati (in nero il frammento *quantifier*, in rosso il frammento *qualifier*)

Tabella 6.5: Numero piatti teorici (N) ed altezza piatto teorico (H)
(t_r :tempo di ritenzione, W_b :larghezza alla base del picco)

Analiti	t_r (min)	W_b (min)	N	H (μm)
TMP	4.8	0.184	10888	13.8
TEP	7.73	0.086	129265	1.2
TCEP	9.15	0.094	151603	1.0
TCPP	10.06	0.067	360717	0.4
TDCP	10.34	0.051	657689	0.2
TPP	10.43	0.056	555025	0.3

6.2.3 Ottimizzazione della sorgente H-ESI

Una volta sviluppato il metodo cromatografico al fine di aumentare l'intensità del segnale analitico sono stati ottimizzati i parametri relativi alla sorgente. I parametri valutati, con i rispettivi valori ottimizzati, sono riportati in Tabella 6.6.

Tabella 6.6: Parametri ottimizzati della sorgente.

Parametro	Valore
Polarità	Positiva
Spray Voltage (V)	2900
Ion transfer tube Temp ($^{\circ}\text{C}$)	350
Vaporizer Temp ($^{\circ}\text{C}$)	350
Sheath Gas (Arb)	40
Aux Gas (Arb)	20

6.3 Risposta strumentale

La risposta strumentale è stata verificata attraverso linearità della risposta, precisione, LOD e LOQ.

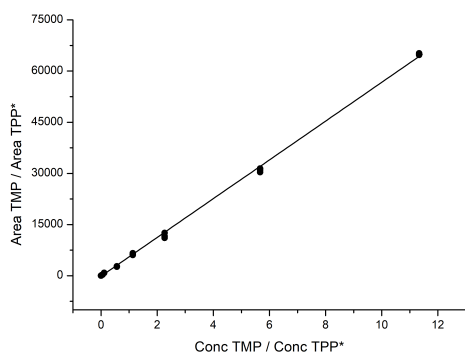
6.3.1 Linearità

La linearità della risposta è stata valutata preparando una serie di soluzioni contenenti gli analiti in esame, con un range di concentrazione da 1 ng L^{-1} a $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e lo standard interno con concentrazione costante pari a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Ogni soluzione è stata iniettata tre volte. Per ciascun analita è stata costruita la rispettiva retta di calibrazione, eseguendo la regressione lineare tra il rapporto tra la concentrazione dell'analita ($C_{analita}$) e quella dello standard interno ($C_{std.int}$) e il rapporto tra l'area del picco dell'analita ($A_{analita}$) e dello standard interno ($A_{std.int}$). Il coefficiente di correlazione (R^2) assume valori tra 0.994 e 0.999, in range di concentrazione differenti in base all'analita.

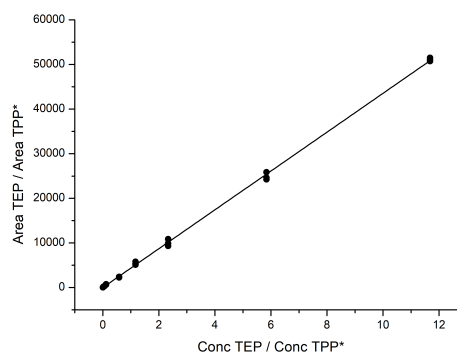
In Figura 6.11 si riportano le rette di taratura ottenute e in Tabella 6.7 sono riportati i parametri relativi alla curva di calibrazione (range di linearità, pendenza, intercetta e R^2) per ciascun analita.

Tabella 6.7: Pendenza, intercetta, R^2 e range di linearità delle rette per ogni OPFR analizzato.

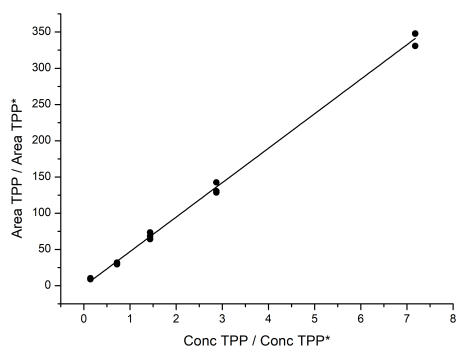
Composto	Pendenza	Intercetta	R^2	Range di linearità
TMP	5686 ± 26	148 ± 88	0.999	$1 \text{ ng L}^{-1} / 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$
TEP	4354 ± 20	1 ± 80	0.999	$20 \text{ ng L}^{-1} / 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$
TPP	47.6 ± 0.6	0.5 ± 2	0.998	$1 \text{ mg L}^{-1} / 50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$
TCEP	341 ± 2	15 ± 7	0.999	$10 \text{ ng L}^{-1} / 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$
TCPP	534 ± 7	114 ± 27	0.996	$200 \text{ ng L}^{-1} / 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$
TDCP	26.9 ± 0.5	2 ± 1	0.994	$500 \text{ ng L}^{-1} / 50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$



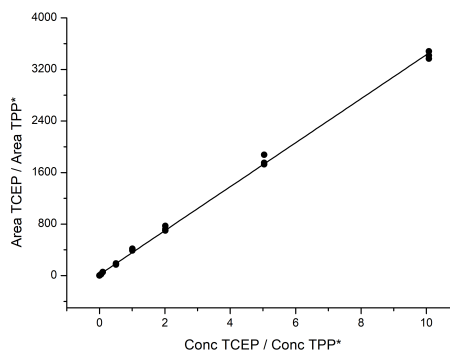
(a) Retta di taratura TMP



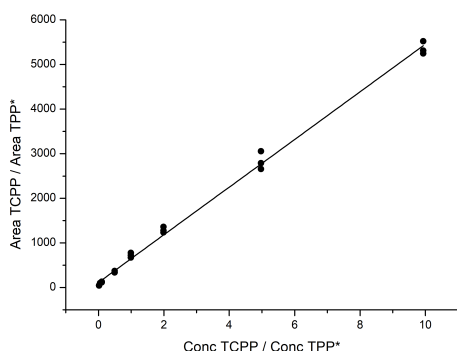
(b) Retta di taratura TEP



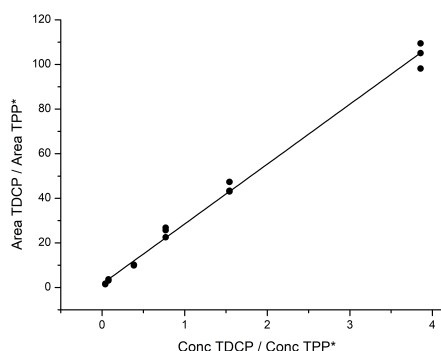
(c) Retta di taratura TPP



(d) Retta di taratura TCEP



(e) Retta di taratura TCPP



(f) Retta di taratura TDCP

Figura 6.11: Rette di taratura degli OPFR analizzati.

6.3.2 Limiti di rilevabilità e quantificazione strumentali

Il limite di rilevabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) strumentali vengono calcolati basandosi sul rapporto segnale/rumore secondo la *ICH guideline* [76]. La determinazione del rapporto segnale/rumore viene eseguita confrontando i segnali misurati da campioni con basse concentrazioni note di analita (segnale) con quelli dei bianchi (rumore) e stabilendo la concentrazione minima a cui l'analita può essere rilevato in modo affidabile. Un rapporto segnale/rumore tra 3:1 e 10:1 sono generalmente considerati accettabili rispettivamente per la stima del LOD e del LOQ. I valori di LOD e LOQ per gli OPFR analizzati vengono riportati in tabella 6.8. Per TPP, TCPP e TDCP i valori di LOD e LOQ risultano più elevati, poiché il range di linearità è ridotto a causa dei valori di intensità di segnale maggiore nei bianchi, probabilmente dovute a contaminazioni interne alla strumentazione.

Tabella 6.8: LOD e LOQ in $ng L^{-1}$ per ogni analita.

Analita	LOD	LOQ
TMP	0.30±0.04	1.0±0.1
TEP	41±1	138±3
TPP	1047 ±36	3491±119
TCEP	8±1	25±3
TCP	148±5	494±17
TDCP	167±19	557±65

6.4 Preanalitica

Al fine della scelta del metodo preanalitico sono stati valutati i metodi di estrazione presenti in letteratura per gli OPFR. Per campioni solidi/semisolidi quali sedimenti o particolato vengono utilizzati principalmente l'estrazione con soxlet, l'estrazione accelerata con solvente (ASE, *Accelerated Solvent Extraction*), l'estrazione con microne (MAE, *Microwave Assisted Extraction*) e l'estrazione con ultrasuoni (UAE, *Ultrasound-Assisted Extraction*). Come solventi vengono impiegati singolarmente o in miscela acetone, acetonitrile, etilacetato, esano e diclorometano [37, 38, 39, 77, 75].

Nell'ambito di questo studio preliminare è stato scelto di sperimentare l'estrazione mediante ultrasuoni in acqua ultrapura, che rappresenta un solvente più sostenibile, meno pericoloso e più economico rispetto ai solventi organici. Il metodo è stato poi validato (Paragrafo 6.5).

I campioni di aerosol analizzati nel presente lavoro sono stati raccolti su dei filtri in fibra di quarzo ($\emptyset 47mm$) precedentemente decontaminati in un forno a muffola per quattro ore a 400 °C. I filtri sono stati pesati pesati mediante bilancia analitica prima e dopo il campionamento, allo scopo di determinare la massa dell'aerosol raccolto, e conservati avvolti in fogli di alluminio a -20°C.

Per l'estrazione del campione è stato utilizzato mezzo filtro, spezzettato in piccole porzioni, mediante pinzette in acciaio, e posto in provette di plastica da 15mL.

In seguito è stata aggiunta la soluzione contenente lo standard interno (TPP D15) ad una concentrazione nominale di 10 $\mu g L^{-1}$ e il tutto è stato portato ad un volume di 10 mL con acqua ultrapura.

L'estrazione è stata effettuata in un bagno ad ultrasuoni raffreddato con del ghiaccio per una durata di 30 minuti.

L'estratto è stato poi trasferito in siringhe da 5 mL e filtrato con dei filtri in PTFE (\emptyset

25 mm, 0.45 μm) precedentemente attivati con metanolo e poi risciacquati con acqua ultrapura. L'obbiettivo della filtrazione è di rimuovere il particolato non disciolto e i frammenti di QFF formati dal processo di sonicatura.

Dalla soluzione filtrata è stato prelevato 1 mL e posto in una vial per l'analisi strumentale.

Tutta l'attrezzatura utilizzata per maneggiare i filtri è stata precedentemente decontaminata con metanolo ultragradiente; le provette e le vial sono state decontaminate mediante sonicatura per 30 minuti con acqua ultrapura e metanolo.

Tutte le operazioni di trattamento dei campioni sono state eseguite sotto cappa a flusso laminare all'interno di una camera bianca ISO5 (classe 100), per ridurre le contaminazioni esterne. Viene riportato in Figura 6.12 lo schema riassuntivo dei passaggi del metodo preanalitico.

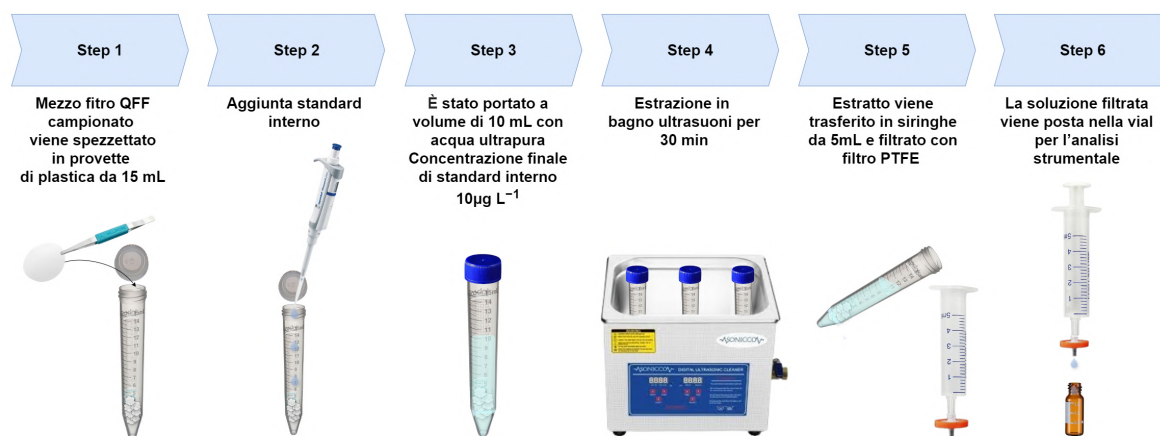


Figura 6.12: Passaggi del metodo preanalitico.

6.5 Validazione del metodo

La validazione del metodo è stata effettuata per i filtri in quarzo QFF mediante la misura del bianco procedurale, il calcolo dei limiti di rivelabilità (MDL) e di quantificazione (MQL) del metodo, delle rese di procedura e delle accuratezze. La quantificazione, è stata eseguita con il metodo dello standard interno e corretta con un fattore di risposta, al fine di eliminare le fluttuazioni legate al segnale strumentale. Per validare la procedura sono state svolte operazioni simili a quelle applicate ai campioni reali, riportate in Figura 6.13.

Per l'analisi dei bianchi procedurali sono stati preparati cinque campioni composti da

mezzo filtro in quarzo spezzettato in provette in plastica da 15 mL, alle quali viene aggiunta una quantità nota di standard interno (TPP D15), portando al volume di 10 mL con acqua ultrapura in modo da ottenere una concentrazione di $10 \mu\text{g L}^{-1}$. La soluzione è stata estratta con bagno ad ultrasuoni per 30 minuti, per poi essere filtrata e trasferita in vial per l'analisi. MDL e MQL sono stati calcolati come 3 e 10 volte la deviazione standard dei risultati ottenuti dai bianchi.

Nel caso della valutazione dell'accuratezza il procedimento è il medesimo aggiungendo però alla provetta in plastica oltre allo standard interno anche una soluzione standard contenente gli analiti con una concentrazione nominale finale di $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

Per quanto riguarda il procedimento per ottenere il valore delle rese, alla provetta contenente mezzo filtro in quarzo spezzettato è stata aggiunta solo la soluzione standard contenente gli analiti a concentrazione $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ed è stata effettuata l'estrazione. Dopodiché, una volta svolta la procedura di filtrazione in vial, è stato aggiunto lo standard interno a una concentrazione nominale finale di $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

Il calcolo del CV% viene eseguito solo per gli errori medi aventi media aritmetica non nulla.

In Tabella 6.9 sono riportati i valori del bianco medio, MDL e MQL, rese, errore percentuale (accuratezza) e coefficiente di variazione ottenuti per la validazione del metodo dei ritardanti di fiamma organofosfati analizzati.

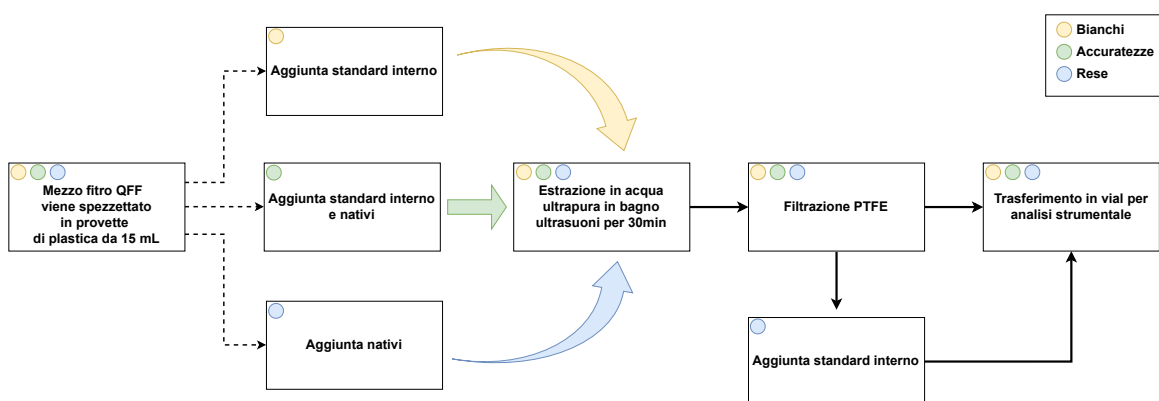


Figura 6.13: Validazione metodo analitico per i filtri in quarzo.

Tabella 6.9: Bianco medio, accuratezza, CV%, MDL e MQL per ogni composto analizzato.

Analiti	Bianco medio (ng ass)	MDL (ng ass)	MQL (ng ass)	Resa media (%)	Errore medio (%)	CV (%)
TMP	0.0062±0.0004	0.001	0.004	84±9	7	13
TEP	9.3±0.5	2	5	88±4	20	14
TPP	1.4±0.1	0.3	1	48±6	-3	6
TCEP	0.20±0.01	0.02	0.1	81±7	18	7
TCP	29±3	8	28	94±4	9	18
TDCP	0.82±0.05	0.2	0.5	73±6	5	11

I valori dei bianchi, MDL e MQL per gli analiti TEP, TPP, TCP risultano più elevati, a causa probabilmente di contaminazioni interne alla strumentazione e alle plastiche utilizzate nella fase di preanalitica.

Gli errori medi maggiori risultano per gli analiti TEP e TCEP, mentre le rese più basse si ottengono per TPP e TDCP, probabilmente perché sono poco solubili in acqua.

La precisione (CV%) della misura sull'errore medio risultano tra il 5% e il 20%. Questi valori rientrano all'interno del range previsto dalla Decisione della Commissione Europea 2002/657/CE.

7 Risultati e discussione

Nel presente lavoro di tesi è stato sviluppato un metodo analitico per l'analisi di OPFR in aerosol tramite UHPLC-MS/MS, allo scopo di quantificare sei OPFR in 80 campioni di PM₁₀ montano raccolti tra settembre 2022 e ottobre 2023 presso la stazione MRG, situata a 2543 m s.l.m nelle Dolomiti bellunesi.

7.1 Elaborazione dei dati

Le concentrazioni dei diversi analiti nei campioni di aerosol sono state ottenute sottraendo il valore del bianco di campo, rappresentato da un filtro di quarzo caricato nel campionatore per 5 minuti con la pompa a vuoto, e normalizzando i valori per il volume d'aria campionato. Sono stati poi calcolati i limiti di rivelabilità e di quantificazione del metodo (MDL e MQL), moltiplicando rispettivamente per 3 e per 10 la deviazione standard dei valori misurati per i bianchi di campo. Ai fini della discussione dei risultati ottenuti, sono state considerate solo le concentrazioni superiori all'MQL. In Tabella 7.1 sono riportati bianchi, MDL, MQL e CV% per ciascun analita.

Tabella 7.1: Bianco di campo medio, CV%,MDL e MQL per ogni composto analizzato.

Analiti	Bianco medio (ng)	MDL (ng)	MQL (ng)	CV (%)
TMP	0.036±0.001	0.004	0.01	4
TEP	77±7	22	73	9
TPP	31±1	3	9	3
TCEP	222±19	58	192	9
TCPP	174±15	45	151	9
TDCP	9±1	2	6	6

I valori di bianchi, MDL e MQL per gli analiti TEP, TCEP e TCPP risultano essere i più elevati, probabilmente a causa di contaminazioni derivate dalla procedura di campionamento, dai materiali plastici presenti all'interno degli strumenti analitici o, dalla plastica rilasciata nonostante la decontaminazione da alcune delle attrezzature utilizzate durante la fase di preanalitica, come le provette e i tappi delle vial.

7.2 OPFR nell'aerosol montano

Tra i composti analizzati, quattro di essi risultano essere presenti nei campioni analizzati. Il TEP presenta concentrazioni inferiori all'MQL in tutti i campioni, mentre TDCP è presente in concentrazione superiore all'MQL (0.07 ng m^{-3}) in un solo campione. La concentrazione totale di OPFR (ΣOPFR) nel PM_{10} , calcolata come la somma delle concentrazioni di tutti gli analiti presenti in ciascun campione, va da 0.0002 ng m^{-3} a 9.97 ng m^{-3} , con un valore medio pari a $3 \pm 3 \text{ ng m}^{-3}$. L'areogramma in Figura 7.1 rappresenta l'abbondanza media relativa degli OPFR nell'aerosol a MRG, calcolata sulla totalità dei campioni. I composti più abbondanti sono TCEP (che rappresenta il 53% del contenuto totale di OPFR, con una concentrazione media di $3 \pm 2 \text{ ng m}^{-3}$) e TCPP (44%, $2 \pm 2 \text{ ng m}^{-3}$), seguiti da TPP (3%, $0.1 \pm 0.1 \text{ ng m}^{-3}$). Il TMP risulta essere il composto meno abbondante ($<1\%$, $0.6 \pm 0.5 \text{ ng m}^{-3}$).

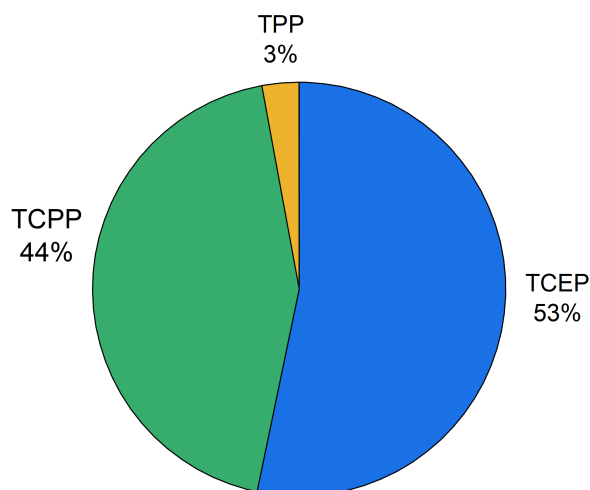


Figura 7.1: Abbondanza media relativa degli OPFR nei campioni di PM_{10} raccolti a MRG tra settembre 2022 e ottobre 2023. Il TMP non è incluso nel grafico in quanto rappresenta meno dell'1% del contenuto totale di OPFR. Il TDCP non è stato considerato nel grafico essendo quantificato in un solo campione non è considerato rappresentativo.

Questa distribuzione risulta coerente con i dati relativi alla produzione degli OPFR (Figura 2.3) e con le loro caratteristiche chimico fisiche (Tabella 2.1).

TCEP e TCPP, infatti, sono largamente utilizzati nell'industria tessile e nell'edilizia; la loro elevata abbondanza, quindi, è attribuibile al loro elevato volume di produzione. Inoltre, questi composti hanno una pressione di vapore medio/alta che permette loro di ripartirsi nella fase particellare dell'aerosol atmosferico. TPP e TDCP, nonostante abbiano una bassa pressione di vapore e si trovino quindi principalmente in fase parti-

cellare, risultano poco abbondanti probabilmente a causa della loro bassa produzione e conseguente minore utilizzo. Il TEP, nonostante la sua elevata produzione, non è stato rilevato poiché tende a ripartirsi principalmente in fase gassosa data l'elevata tensione di vapore. Lo stesso vale per il TMP, caratterizzato anch'esso da un'alta tensione di vapore, che infatti è stato rilevato con concentrazioni di tre ordini di grandezza inferiori rispetto agli altri analiti.

In Tabella 7.2 vengono riportate le concentrazioni in media ottenute per ogni analita e la somma, in concentrazione, OPFR media. Vi è una elevata variabilità a causa delle influenze stagionali, discusse nel paragrafo 7.4.

Tabella 7.2: Concentrazioni in media ottenute per ogni analita e la somma in concentrazione OPFR media (Il TDCP è stato considerato <MQL, poiché è stato quantificato in un solo campione non risulta rappresentativo).

Analita	TMP ($pg\ m^{-3}$)	TEP ($ng\ m^{-3}$)	TPP ($ng\ m^{-3}$)	TCEP ($ng\ m^{-3}$)	TCPP ($ng\ m^{-3}$)	TDCP ($ng\ m^{-3}$)	Σ OPFR ($ng\ m^{-3}$)
	0.6±0.5	<MQL	0.1±0.1	3±2	2.4±1.5	<MQL	3±3

Nonostante il sito di campionamento si trovi in alta montagna, una zona solitamente considerata remota e poco contaminata, le concentrazioni di OPFR rilevate a MRG risultano abbastanza elevate, se confrontate con dati di precedenti studi relativi ai medesimi composti e risalenti agli anni tra il 2010 e il 2017 (Tabella 2.2) [38]. Nell'area urbana di Beijing (Cina, 2014), nelle aree suburbane a Toronto (Canada, 2010) ed a Rende (Cosenza, Italia, 2016-2017) hanno rilevato concentrazioni di Σ OPFR che vanno da 2.7 a 2.9 $ng\ m^{-3}$ [38]. Mentre nelle aree remote del Michigan (US, 2012) e nell'Artico (Canada, 2007-2013) sono stati misurati valori di Σ OPFR tra 0.08 e 0.18 $ng\ m^{-3}$ [38].

Il valore medio di misurato a MRG Σ OPFR 3±3 $ng\ m^{-3}$ si avvicina maggiormente ai valori rilevati in zone urbane anziché a quelli rilevati nelle zone remote. Questo può essere dovuto al recente e graduale divieto di utilizzo dei PDBE e al conseguente aumento di utilizzo dei OPFR. Infatti l'Unione Europea ha vietato l'uso delle miscele commerciali di penta e otta-BDE nel 2004 e della miscela di decaBDE nelle apparecchiature elettriche ed elettroniche nel 2008. Nel 2009, la Convenzione di Stoccolma ha vietato la produzione, l'uso, l'importazione e l'esportazione delle miscele commerciali penta e otta-BDE e nel 2017 del decaBDE [35]. I dati degli studi sopra menzionati risalgono ormai a circa dieci di anni fa, quando i ritardanti di fiamma più diffusi erano

ancora i PBDE. È possibile, quindi, che le concentrazioni di OPFR rilevate in aree urbane in passato non siano più rappresentative della situazione attuale e che la loro presenza in aree remote rifletta la loro ormai ubiquitarietà in ambiente.

Un altro aspetto da considerare è il fatto che il sito di campionamento si trova in una zona sciistica molto frequentata e caratterizzata da un grosso impatto derivante dal turismo e dalle infrastrutture ed attrezzature ad esso legate (impianti di risalita, strutture ricettive, attrezzatura da scii e scii stessi, abbigliamento tecnico, traffico stradale).

7.3 Sorgenti OPFR

Identificare le principali sorgenti di OPFR in atmosfera è un altro aspetto di rilevanza nell'ambito dell'analisi dei dati ottenuti. Prendendo in considerazione la zona di campionamento, le sorgenti locali possono essere molteplici (es. edilizia, arredamento, automobili, elettronica, tessile, impianti di risalita e attrezzatura sciistica) e sono legate soprattutto al fatto che Col Margherita si trova presso il Passo San Pellegrino, una nota località sciistica. Essendo una zona turistica molto frequentata, infatti, si genera un afflusso di automobili e di persone che indossano tessuti tecnici e portano con sé attrezzature sciistiche; inoltre a causa della forte attrattività turistica del sito, nel corso degli anni le zone limitrofe si sono popolate di svariati hotel, appartamenti, impianti di risalita e rifugi. I dati turistici riferiti a esercizi alberghieri nella Valle di Fassa [78] (a circa 20Km dal Passo San Pellegrino) suggeriscono un afflusso turistico più elevato nei mesi di dicembre, gennaio e febbraio, per il periodo invernale, e luglio e agosto per il periodo estivo, tra i 70000 e i 90000 arrivi al mese. Confrontando gli arrivi in totale tra il 2022 e il 2023 vi è un aumento passando da 540959 persone nel 2022 a 605226 (+12%) persone nel 2023.

Come possibile fonte è anche da considerare inoltre l'arrivo di OPFR dalla Pianura Padana, poiché grazie agli spostamenti di masse d'aria per il cambiamento del Planetary Boundary Layer nelle diverse stagioni, gli inquinanti possono arrivare fino ai siti d'alta montagna. Di seguito di riportano le più probabili sorgenti considerando il sito di studio.

Automobili

Le concentrazioni di OPFR rilevate negli interni delle auto sono dieci volte superiori

rispetto ad altri ambienti interni, come case e uffici. Questo è dovuto ai diversi polimeri utilizzati negli interni delle auto, ad esempio schiuma di poliuretano (PUF), utilizzata nei sedili, acrilonitrile butadiene stirene (ABS), propilene e altri materiali polimerici plastici che vengono applicati in diverse parti dell'auto (ad esempio i cruscotti). Anche le apparecchiature elettroniche e i tessuti presenti negli interni delle automobili possono agire da sorgente d'emissione degli OPFR. Inoltre, le alte temperature sviluppate negli interni delle auto potrebbero causare un maggiore rilascio di composti dai materiali polimerici nella fase gassosa/particellare. TCPP e TDCP e TCEP sono i principali OPFR rilevati nella polvere delle auto [79, 80].

Edilizia

I ritardanti di fiamma organofosfati vengono inseriti nella schiuma poliuretana spray (SPF) che viene utilizzata per l'isolamento delle case e dei tetti, probabilmente di frequente applicazione nelle zone di montagna. È stato dimostrato che il TCPP contribuisce fino al 12% alla composizione totale in peso della SPF. Per quanto riguarda l'applicazione di SPF, diversi studi hanno analizzato campioni prelevati di aria nell'area dei cantieri edili e hanno rilevato concentrazioni di TCPP che vanno da $20 \mu\text{g m}^{-3}$ a $110 \mu\text{g m}^{-3}$ [81, 82, 83].

Arredamento

TCPP, TCEP, TDCP e TPP sono stati rilevati nella schiuma poliuretana utilizzata nei mobili e nella polvere domestica presente in vari microambienti indoor (abitazioni, uffici, aule, negozi, biblioteche e alberghi) proveniente da tappeti, tende, divani, materassi, sedie e pavimenti (per la presenza di resine vernici). [84, 85, 86]. Un ulteriore rilascio di OPFR proviene dagli apparati elettronici, come confermato da uno studio [87] in cui è stata misurata l'esposizione ai OPFR degli smantellatori di rifiuti elettronici. Nei pannelli LCD e nei circuiti stampati di apparecchiature elettriche ed elettroniche vengono trovati principalmente TCEP, TDCP e TPP [87, 88].

Abbigliamento

Nei tessuti, sia naturali sia sintetici, oltre ad una serie di prodotti per migliorare le prestazioni dei prodotti finiti vengono aggiunti anche ritardanti di fiamma per renderli ignifughi. Nel tempo, gli OPER possono essere rilasciati dai tessuti nell'ambiente circostante tramite volatilizzazione, lisciviazione, dissoluzione e durante la fase di lavaggio

[89, 90]. È stato dimostrato che i tessuti sintetici contengono concentrazioni medie di $\Sigma_{20}\text{OPFR}$ (1520 ng g^{-1}) più elevate rispetto a quelli realizzati in cotone (sia convenzionali sia idrorepellenti) (442 ng g^{-1}) [89]. I tessuti idrorepellenti, probabilmente molto utilizzati in zone di montagna, contengono sia OPFR alchilici, arilici, e clorurati in rapporto 1:1:1 [89].

Attrezzature sciistiche ed impianti di risalita

Le attrezzature sciistiche più utilizzate sono gli scii; essi hanno una struttura detta a sandwich, con un core centrale e diversi strati esterni di materiale strutturale. I materiali impiegati nella realizzazione del core di uno sci sono il legno e le schiume polimeriche [91], alle quali vengono aggiunti gli OPFR [81]. Gli OPFR possono anche venire inseriti nelle componenti in materiale polimerico (solette, fianchetti e copertura protettiva esterna) al fine di dare all'oggetto resistenza all'urto, resistenza all'abrasione e resistenza alle basse temperature; i polimeri più usati sono il polietilene, l'acrilonitrile-butadiene stirene (ABS), le poliammidi (nylon) e resine fenoliche ed epossidiche [91]. Negli impianti di risalita gli OPFR possono essere presenti nelle apparecchiature elettriche che governano il funzionamento dell'impianto stesso, nei sedili delle seggiovie e cabinovie e nelle poche parti in gomma presenti (ad esempio nelle rulliere che hanno la funzione di guidare la fune traente lungo la linea funiviaria) essendo che la maggior parte della struttura è costituita di acciaio [92].

7.4 Andamenti annuali e stagionali dei OPFR

Data l'elevata variabilità annuale e stagionale viene studiato l'andamento della somma, in concentrazione, dei OPFR (Figura 7.2) e di ogni singolo analita (Figure A.1, A.2, A.3 e A.4). Invece, in Tabella 7.3 vengono riportate le concentrazioni medie stagionali. Dal 7 settembre 2022 al 10 gennaio 2023 non sono stati rilevati OPFR, tranne i primi ottobre 2022 e a metà dicembre 2022 (in media $\Sigma \text{ OPFR}$: $0.4 \pm 0.7 \text{ ng m}^{-3}$). In tali periodi stagionali, autunnale e invernale gli spike giornalieri possono derivare da sorgenti locali dato l'elevato turismo nella zona. Valori così bassi sono inoltre dovuti principalmente all'assenza di trasporti a lungo raggio, soprattutto dalla Pianura Padana, a causa della forte stratificazione atmosferica che la caratterizza nei mesi invernali.

A partire dal 11 aprile 2023 fino al 25 giugno 2023 (periodo primaverile), sono state quantificate quantità elevate di OPFR (in media $\Sigma \text{ OPFR}$: $4 \pm 3 \text{ ng m}^{-3}$) con dei picchi

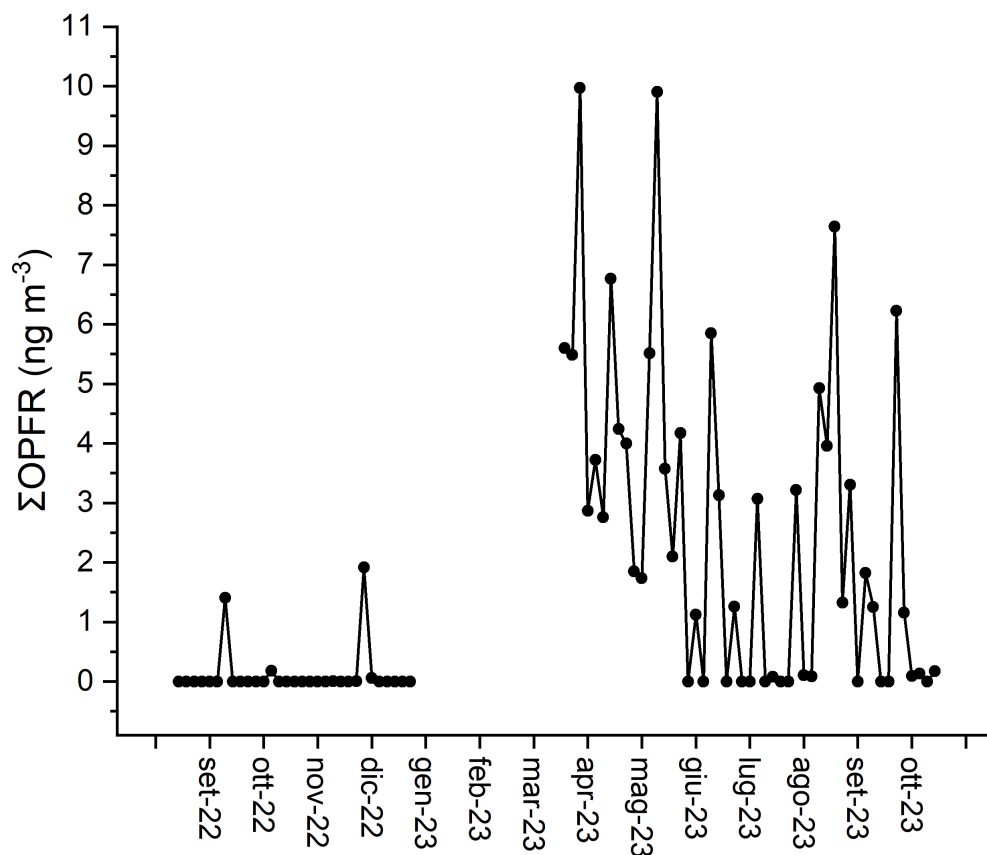


Figura 7.2: Andamento somma OPFR dal 07/09/2022 al 29/10/2023

a circa 10 ng m^{-3} . Durante il periodo primaverile, vi è un massimo delle concentrazioni degli OPFR: questo si ipotizza sia dovuto alle dinamiche del Planetary Boundary Layer. In primavera, il PBL tende a stratificare meno l'atmosfera, soprattutto nella Pianura Padana, creando uno spostamento di masse d'aria con effetto disperdente e diluente dell'atmosfera. Durante il periodo invernale in Pianura Padana il PBL tende a far ristagnare molto di più l'atmosfera, creando di conseguenza il ristagno di inquinanti, che ciclicamente possono essere ridispersi nei mesi più caldi successivi.

Nel periodo estivo dal 25 giugno al 23 settembre sono state misurate in media $\Sigma \text{ OPFR}$: $3 \pm 2 \text{ ng m}^{-3}$, con dei picchi intorno a $6/8 \text{ ng m}^{-3}$. Il trend risulta di difficile interpretazione e potrebbe essere dovuto a fenomeni di brezza di valle, con cui viene trasportato aerosol dalle valli adiacenti o fenomeni di trasporto più a lungo raggio di masse d'aria dalla Pianura Padana. Dal 23 settembre al 29 ottobre (periodo autunnale) in generale i valori risultano più bassi con un picco di 6 ng m^{-3} i primi di ottobre, il quale fa innalzare la media che risulta di $2 \pm 2 \text{ ng m}^{-3}$. In questo periodo gli inquinanti sono principalmente locali dati probabilmente dall'inizio delle attività sciistiche.

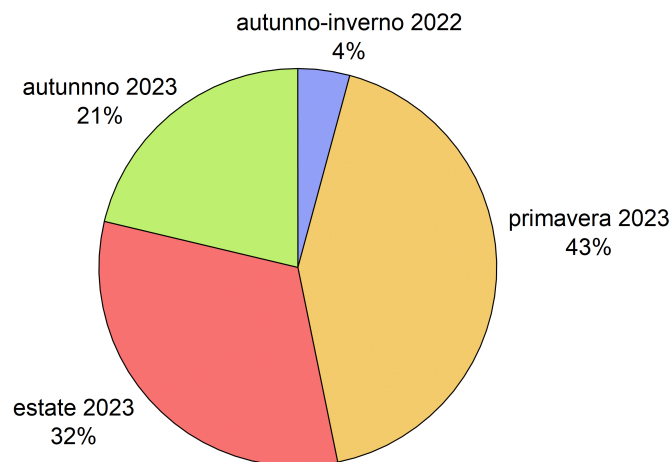
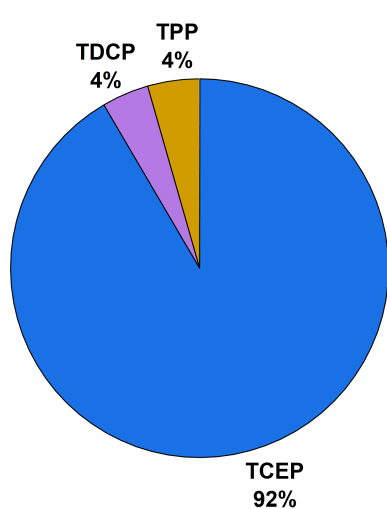


Figura 7.3: Areogramma che rappresenta la distribuzione della Σ OPFR stagionale

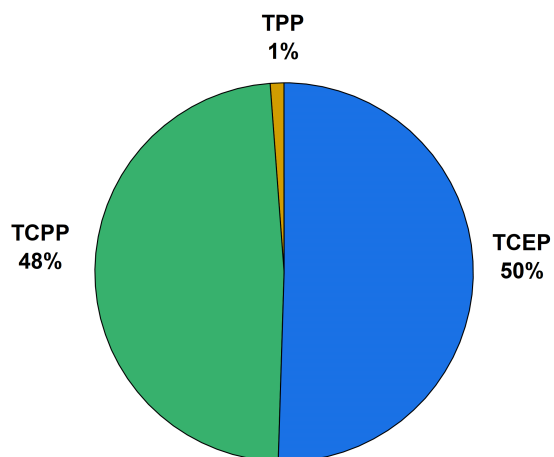
Per osservare al meglio la variabilità stagionale vengono graficati in un areogramma Σ OPFR riferiti alle differenti stagioni (Figura 7.3). Le stagioni dove è stata rilevata la quantità di OPFR maggiori sono la primavera e l'estate (43% e 32% rispettivamente) mentre i periodi con le concentrazioni minori sono autunno e inverno (tra il 21% e il 4%). Questa distribuzione stagionale suggerisce che la presenza degli OPFR in aerosol a MRG è principalmente dovuta alle dinamiche del PBL. Queste dinamiche possono essere confermate da studi dei trasporti transalpini che valutano il trasporto di aria inquinata nei mesi estivi dello strato limite dalla Pianura Padana ai siti di alta montagna. La pianura padana e il bacino del Po rappresentano una delle principali zone di inquinamento in Europa, a causa di grandi emissioni provenienti da aree urbane densamente popolate, intense attività antropiche, come l'industria e l'agricoltura, combinate con una topografia locale che promuove un ristagno di inquinanti nei mesi invernali. Grazie a particolari condizioni meteorologiche il PBL può cambiare e può avvenire il trasporto di inquinanti verso le alte vette [93, 94].

In Figura 7.4 vengono riportati degli areogrammi ognuno riferito ad una singola stagione al fine di valutare l'analisi maggiormente presente nei diversi periodi stagionali. Si nota che in ogni stagione c'è la predominanza del TCEP (92%, 50%, 68% e 96%). Il TPP è presente in tutte le stagioni in bassa percentuale (1-4%). Il TDCP e il TMP sono presenti in spike giornalieri solo nell'autunno inverno 22-23 in piccole quantità (4% e 0.01%). Infine il TCPP è stato rilevato in quantità abbastanza elevate (29%

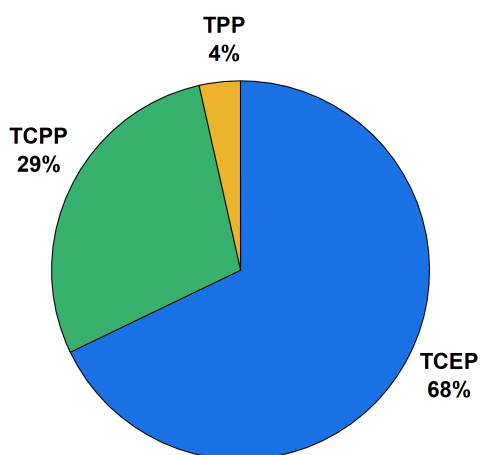
e 48%) nei mesi più caldi (primavera ed estate). In Tabella 7.3 vengono riportate le variazioni stagionali delle concentrazioni per ogni analita.



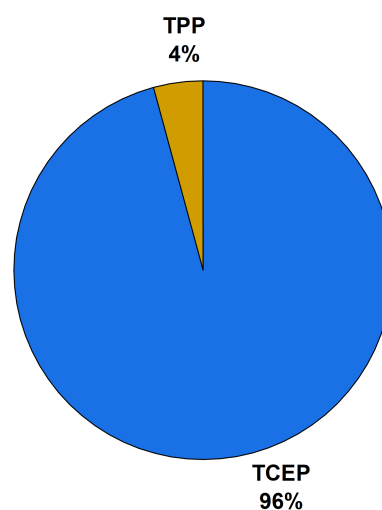
(a) Distribuzione degli analiti autunno 2022/ inverno 2023, Il TMP non è incluso nel grafico in quanto rappresenta meno dell'1% del contenuto totale di OPFR



(b) Distribuzione degli analiti primavera 2023



(c) Distribuzione degli analiti estate 2023



(d) Distribuzione degli analiti autunno 2023

Figura 7.4: Distribuzione degli analiti nelle differenti stagioni

Tabella 7.3: Concentrazioni medie stagionali di ogni singolo analita e della somma OPFR.

Date	Stagione	Analiti	$ng\ m^{-3}$
07/09/2022 10/01/2023	Autunno 2022 Inverno 2023	TMP	0.0006±0.0005
		TPP	0.08±0.03
		TCEP	1.7±0.4
		T CPP	<MQL
		TDCP	0.07 (1 campione)
		ΣOPFR	0.4±0.7
11/04/2023 25/06/2023	Primavera 2023	TMP	<MQL
		TPP	0.069±0.001
		TCEP	3±2
		T CPP	3±2
		TDCP	<MQL
		ΣOPFR	4±3
25/06/2023 23/09/2023	Estate 2023	TMP	0
		TPP	0.2±0.1
		TCEP	3±2
		T CPP	1.3±0.3
		TDCP	<MQL
		ΣOPFR	3±2
23/09/2023 29/10/2023	Autunno 2023	TMP	<MQL
		TPP	0.13±0.04
		TCEP	3±2
		T CPP	<MQL
		TDCP	<MQL
		ΣOPFR	2±2

Vengono riportati in Appendice A e di seguito discussi gli andamenti di ogni singolo analita (Figure A.1, A.2, A.3 e A.4) in modo da osservare sia variabilità giornaliera sia

i diversi andamenti dei diversi analiti in base alle diverse fonti (discusse nel paragrafo 7.3) e alla caratteristiche chimiche fiasche di ogni OPFR (discusse nel paragrafo 2.2.4). Il TMP (Figura A.1) viene rilevato in concentrazioni molto basse (massimo 0.0013 ng m^{-3}) solo in pochi giorni del autunno/inverno 22/23. Essendo il TMP maggiormente ripartito in gase gassosa, le basse concentrazioni sono principalmente dovute a questa tendenza.

Il TCEP (Figura A.2) viene quantificato in concentrazioni elevate (massimo 9.9 ng m^{-3}) ed è stato rilevato in tutte le stagioni. I picchi risultano a fine maggio 2023, tra agosto e settembre 2023 e i primi di ottobre 2023. Le fonti locali possono essere l'isolamento dei tetti (indispensabile in zone montane fredde), la costruzione di strutture ricettive, l'afflusso di automobili e l'arrivo di sciatori con tessuti tecnici e attrezzature sciistiche dato l'alto tasso di turismo. La Pianura Padana è la fonte principale del aumento di concentrazione di TCEP in primavera/estate.

Il TCPP (Figura A.3) viene quantificato in concentrazioni elevate (massimo 6.8 ng m^{-3}) ed è stato rilevato in primavera e in estate. Le quantità più elevate sono nel periodo primaverile tra aprile e maggio 2023. Questo porta a supporre che la fonte principale siano le masse d'aria provenienti dalla Pianura Padana. Gli spike nei mesi più freddi si può supporre siano legati a fonti locali come la costruzione e l'arredamento di strutture ricettive, dato l'elevato turismo della zona. Un'altra fonte locale sono gli scii essendo che al loro interno sono presenti schiume poliuretaniche e resine.

Il TPP (Figura A.4) viene quantificato con concentrazioni di due ordini di grandezza inferiori rispetto a TCEP e TCPP (massimo 0.24 ng m^{-3}). I picchi risultano in estate e in autunno/inverno (da fine luglio 2023 ai primi di ottobre 2023). L'aumento della concentrazione di TPP nei mesi più caldi deriva sia dalla valle e sia dalla Pianura Padana mentre gli aumenti di concentrazione nei mesi autunnali sono legati a fonti locali; ad esempio il traffico automobilistico, l'elettronica presente negli impianti di risalita e negli edifici, i rivestimenti nell'arredamento e negli scii.

7.5 Andamento del PM_{10}

Il PM_{10} mostra una notevole variabilità in base alla stagionalità e alle condizioni meteorologiche. Nel periodo autunnale-invernale le concentrazioni di PM_{10} risultano superiori rispetto all'estate. Questo fenomeno, può essere attribuito al fatto, che nel periodo

freddo alcune attività antropiche sono potenziate, come ad esempio le emissioni da riscaldamento domestico [95]. Inoltre, l'inversione termica riduce la circolazione verticale, abbassando così lo spessore dello strato di mescolamento e favorendo l'accumulo di particelle sospese a bassi livelli nell'atmosfera [95]. Per esempio, situazioni invernali stabili portano ad elevate concentrazioni di PM_{10} , mentre condizioni ben ventilate di solito sono accompagnate da concentrazioni basse [96].

I filtri campionati sono stati pesati prima e dopo il campionamento al fine di determinare i μg di particolato atmosferico presenti, è stato quindi calcolato per ogni campione il valore di PM_{10} , dividendo i μg per i m^3 d'aria campionati. In Figura 7.5 viene riportato l'andamento del PM_{10} in relazione alla concentrazione della $\Sigma OPFR$ quantificati nella stazione di Col Margherita.

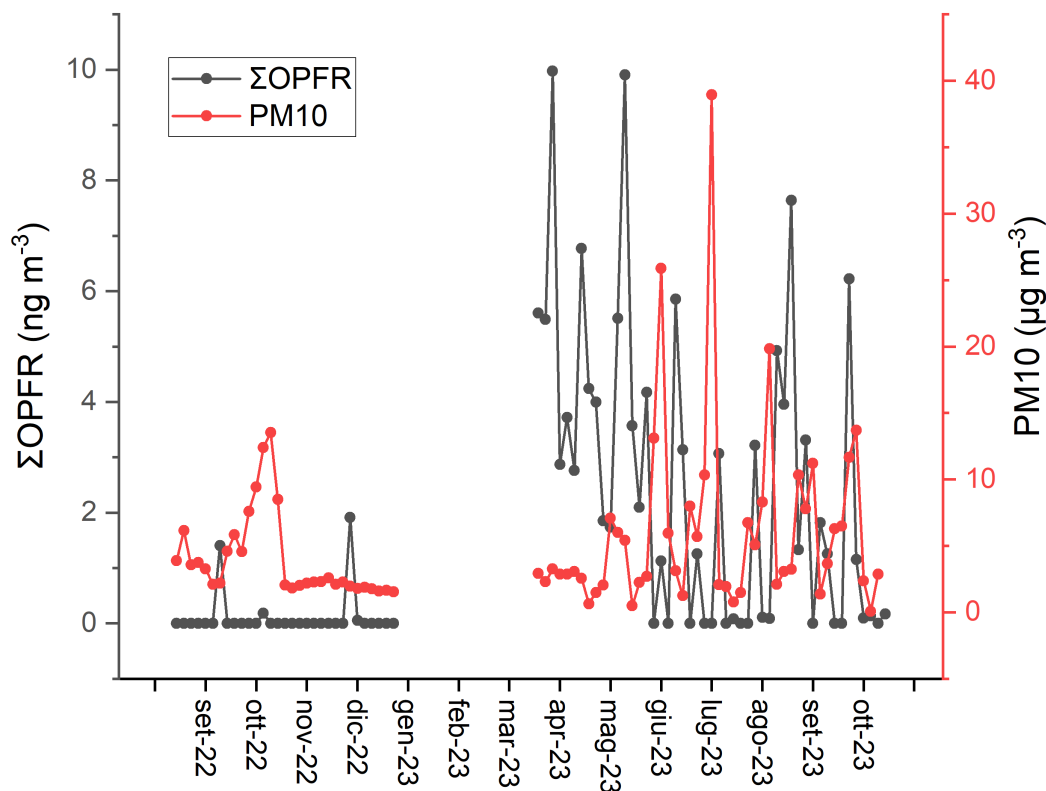


Figura 7.5: Andamento $\Sigma OPFR$ e PM_{10} dal 07/09/2022 al 29/10/2023

Nel periodo di campionamento il PM_{10} medio è di $5 \pm 6 \mu g m^{-3}$. Il PM_{10} risulta più alto all'inizio del periodo autunnale (massimo intorno ai $15 \mu g m^{-3}$), e minore nel periodo invernale e primaverile (massimo intorno ai $5 \mu g m^{-3}$) e presenta invece dei picchi nel periodo estivo (massimo intorno ai $40 \mu g m^{-3}$).

Gli *spike* nei mesi più freddi possono essere legati a dei fattori locali come il riscalda-

mento domestico e l'alto turismo. Nei mesi più caldi invece risulta presente la brezza di valle, anche se non ben visibile, non può essere esclusa.

Dalla Figura 7.5 si può osservare che non vi è particolare correlazione tra l'andamento del PM_{10} e $\Sigma OPFR$. Nell'autunno/inverno 22/23 dove è presente il picco del PM_{10} non sono stati rilevati OPFR, mentre nella primavera 2023 il PM_{10} è basso ma gli OPFR sono stati rilevati in quantità consistenti in tutto il periodo primaverile. Nel periodo estivo sono stati quantificati OPFR e il PM_{10} risulta particolarmente elevato. Nel periodo autunnale 2023 invece c'è una minima correlazione tra i due parametri.

7.6 Correlazioni tra gli analiti e i parametri meteorologici

Per valutare se vi fosse correlazione con parametri meteorologici o con la concentrazione di particolato atmosferico, sono stati valutati i coefficienti di correlazione attraverso la matrice di correlazione riportata in Figura 7.6. I dati meteorologici valutati sono la temperatura, la radiazione solare, le precipitazioni e l'umidità. I dati vengono presi dalla stazione meteorologica di Passo Valles, una vallata a Sud della stazione di MRG, ad un'altitudine di 2032 m) [97].

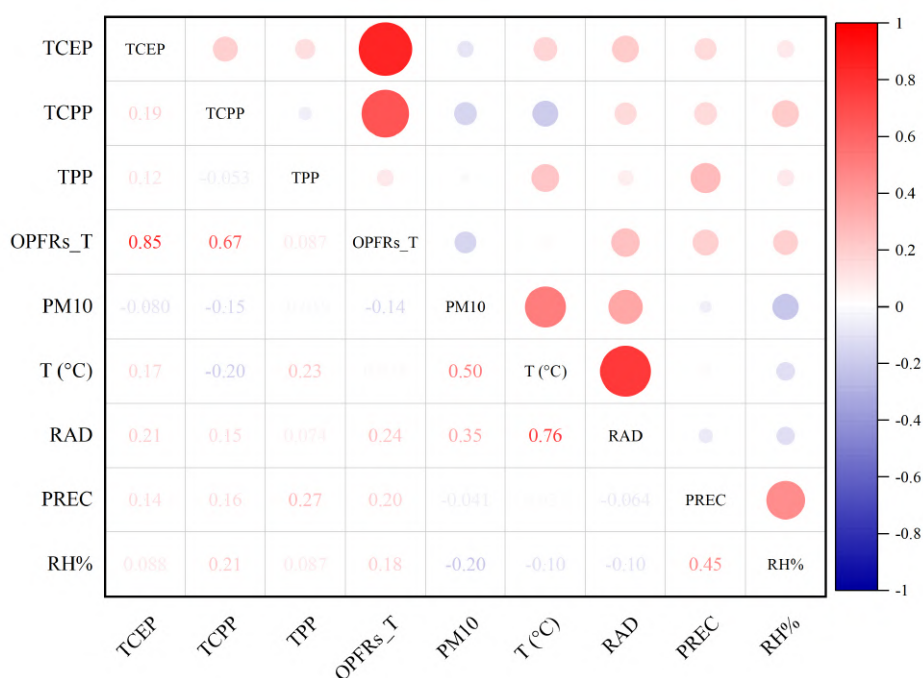


Figura 7.6: Correlazioni tra gli analiti e i parametri meteorologici.

Osservando la matrice di correlazione si può notare un alto coefficiente di correlazione tra la somma totale di OPFR, TCEP e TCPP, poiché i due analiti costituiscono la parte più rilevate degli OPFR rilevati. La matrice riporta chiaramente che gli OPFR non risultano correlati ai parametri meteorologici selezionati. Questo significa che il trend temporale degli analiti in esame non sembra essere influenzato dal meteo, sebbene non possano essere esclusi fenomeni di dilavamento atmosferico a seguito delle deposizioni umide, considerando la moderata idrofilicità degli OPFR.

8 Conclusioni

In questo lavoro di tesi è stato sviluppato e validato un metodo analitico per la determinazione di sei ritardanti di fiamma organofosfati (OPFR) in campioni di aerosol atmosferico alpino tramite UHPLC-MS.

I ritardanti di fiamma sono composti chimici di sintesi antropica che vengono applicati ai materiali per renderli non infiammabili o autoestinguenti. Gli organofosfati sono una classe di ritardanti di fiamma proposti in alternativa ai PBDE. Gli OPFR vengono applicati nel settore edilizio, dell'arredamento, dell'abbigliamento e automobilistico. Le origini risultano essere antropiche legate sia alle industrie e abitazioni nella Pianura Padana sia legate al sito di campionamento; il quale si trova in una zona sciistica molto frequentata, caratterizzata da un grosso impatto derivante dal turismo e dalle infrastrutture ed attrezzature ad esso legate (impianti di risalita, strutture ricettive, attrezzatura da scii e scii stessi, abbigliamento tecnico, traffico stradale).

Gli OPFR sono additivi non legati chimicamente ai materiali cui vengono applicati e possono quindi essere facilmente rilasciati in ambiente per volatilizzazione, abrasione e dissoluzione. Le evidenze fornite dal presente lavoro di tesi pongono l'attenzione sul monitoraggio ambientale di questi contaminanti emergenti in atmosfera e lo studio dei probabili effetti negativi sulla salute umana e sull'ecosistema.

Al fine dello sviluppo del metodo sono stati ottimizzati i parametri prima per il metodo allo spettrometro di massa e poi per il metodo cromatografico. La risposta strumentale è stata verificata attraverso la linearità della risposta, LOD e LOQ.

Successivamente è stata validata la procedura preanalitica mediante la misurazione del bianco procedurale, la determinazione dei limiti di rivelabilità (MDL) e di quantificazione (MQL) del metodo, il calcolo delle rese e delle accuratèzze. La resa media per gli analiti studiati varia dal dal 48% al 94%, con un errore medio e coefficiente di variazione pari o al di sotto del 20%.

Le analisi sono state effettuate in campioni di aerosol atmosferico raccolto presso l'Osservatorio del Col Margherita (Falcade, BL) da settembre 2022 a ottobre 2023. Sono stati individuati cinque OPFR che superano i livelli di rivelabilità, in particolare TCEP e TCPP in quantità più elevate (rispettivamente in media $3 \pm 2 \text{ ng m}^{-3}$ e $2.4 \pm 1.5 \text{ ng m}^{-3}$) e TMP, TDCP e TPP in minori quantità (rispettivamente in media $0.6 \pm 0.5 \text{ pg m}^{-3}$, 0.07 ng m^{-3} , $0.1 \pm 0.1 \text{ ng m}^{-3}$).

La concentrazione totale di OPFR (Σ OPFR) nel PM_{10} , calcolata come la somma delle concentrazioni di tutti gli analiti presenti in ciascun campione, va da 0.0002 ng m^{-3} a 9.97 ng m^{-3} con un valore medio pari a $3 \pm 3 \text{ ng m}^{-3}$.

Vi è una elevata variabilità a causa delle influenze stagionali e giornaliere. L'aumento di OPFR nel periodo primaverile è quasi istantaneo per poi mantenere comunque concentrazioni elevate per tutta tutta la primavera e l'estate. Questo si ipotizza sia dovuto alla dinamicità del Planetary Boundary Layer che essendo più alto e labile in primavera ed estate rispetto all'inverno, crea uno spostamento di masse d'aria provenienti anche dalla Pianura Padana che perdura per tutti i mesi estivi. Durante il periodo invernale in Pianura Padana il Planetary Boundary Layer è particolarmente basso e crea un ristagno di inquinanti che vengono poi trasportati verso l'alto e per lunghe distanze nei mesi più caldi. Non è da escludere come fenomeno di trasporto la brezza di valle, capace di trasportare gli inquinati dalle valli adiacenti a causa dei gradienti termici che si sviluppano nelle ore più calde della giornata e nei periodi più caldi dell'anno. Aumenti di concentrazione più circostanziali avvenuti nei mesi più freddi si può supporre siano legati a fonti locali.

Il presente studio è il primo che determina un'ampia classe di ritardanti di fiamma di nuova generazione in aree alpine remote. I risultati, seppur preliminari, gettano le basi per studi futuri di valutazione del rischio per gli ecosistemi (anche in aree remote come Artico ed Antartide) e per l'uomo.

Appendice A

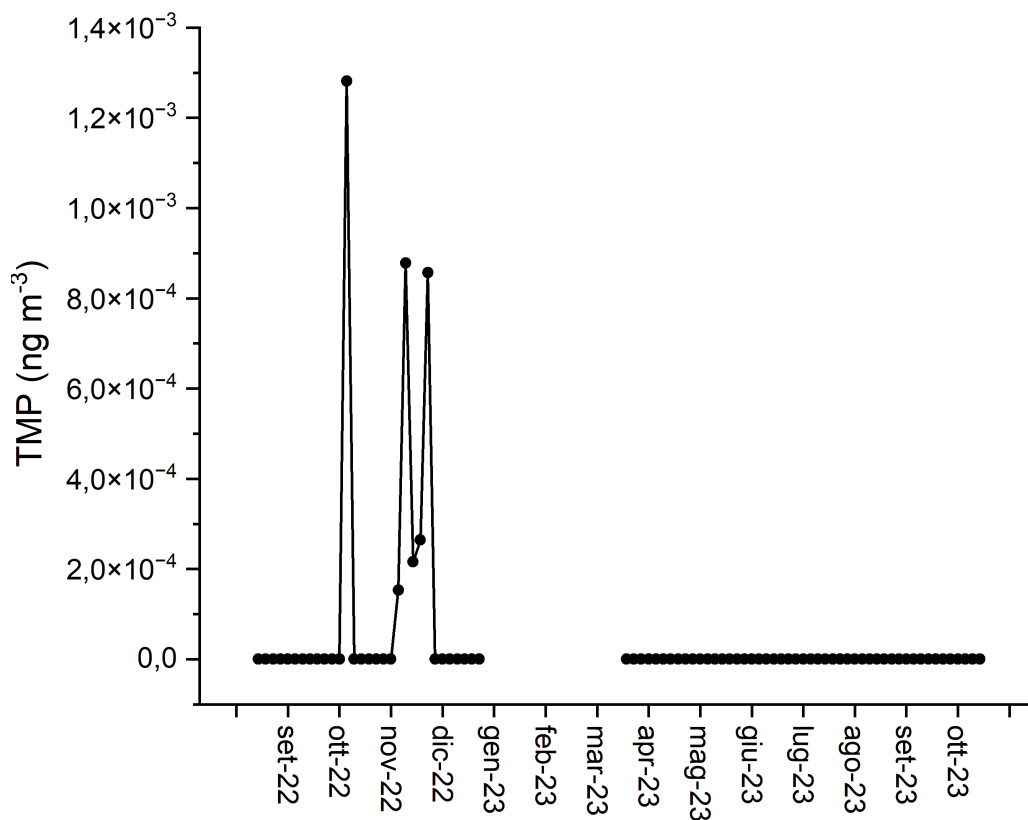


Figura A.1: Andamento TMP dal 07/09/2022 al 29/10/2023

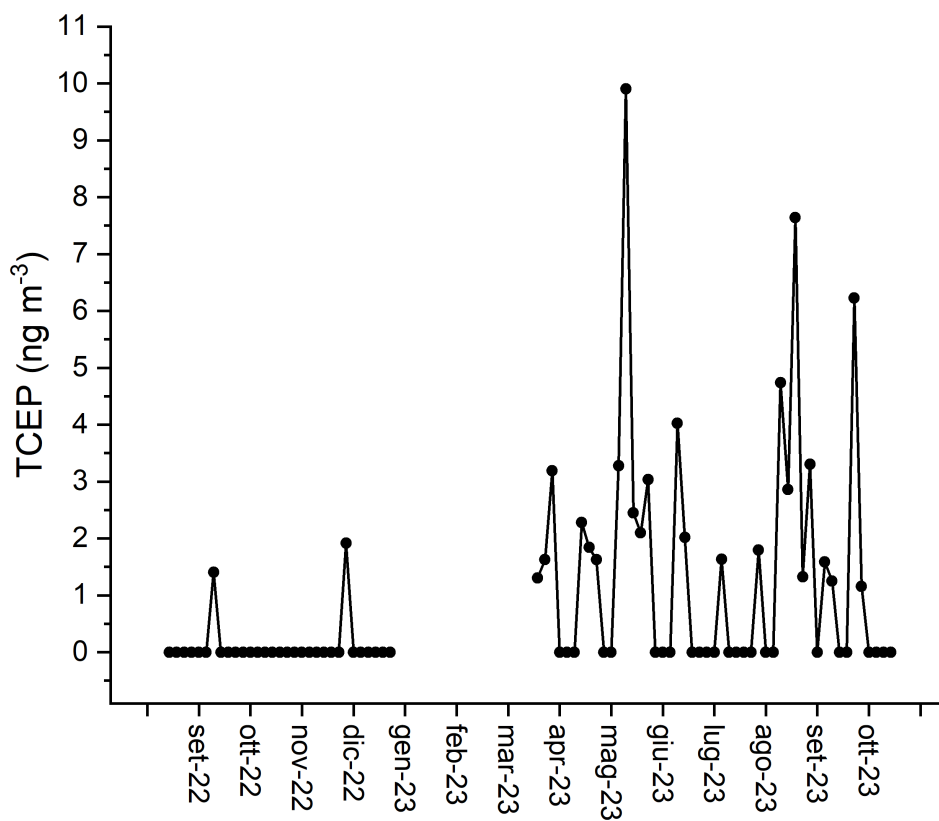


Figura A.2: Andamento TCEP dal 07/09/2022 al 29/10/2023

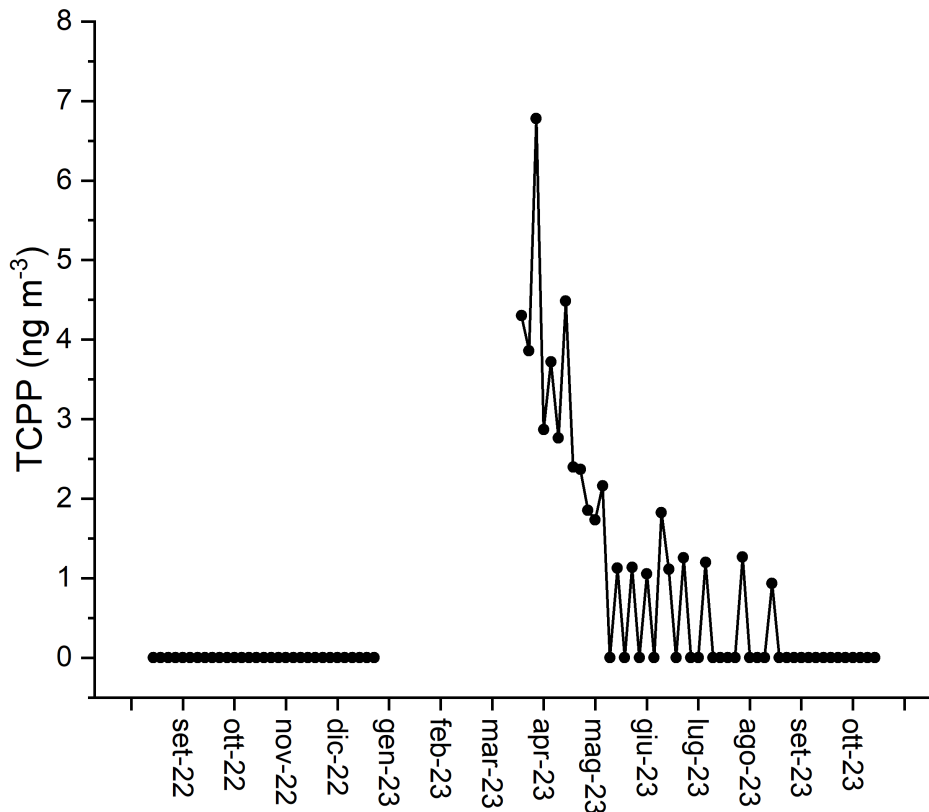


Figura A.3: Andamento TCPP dal 07/09/2022 al 29/10/2023

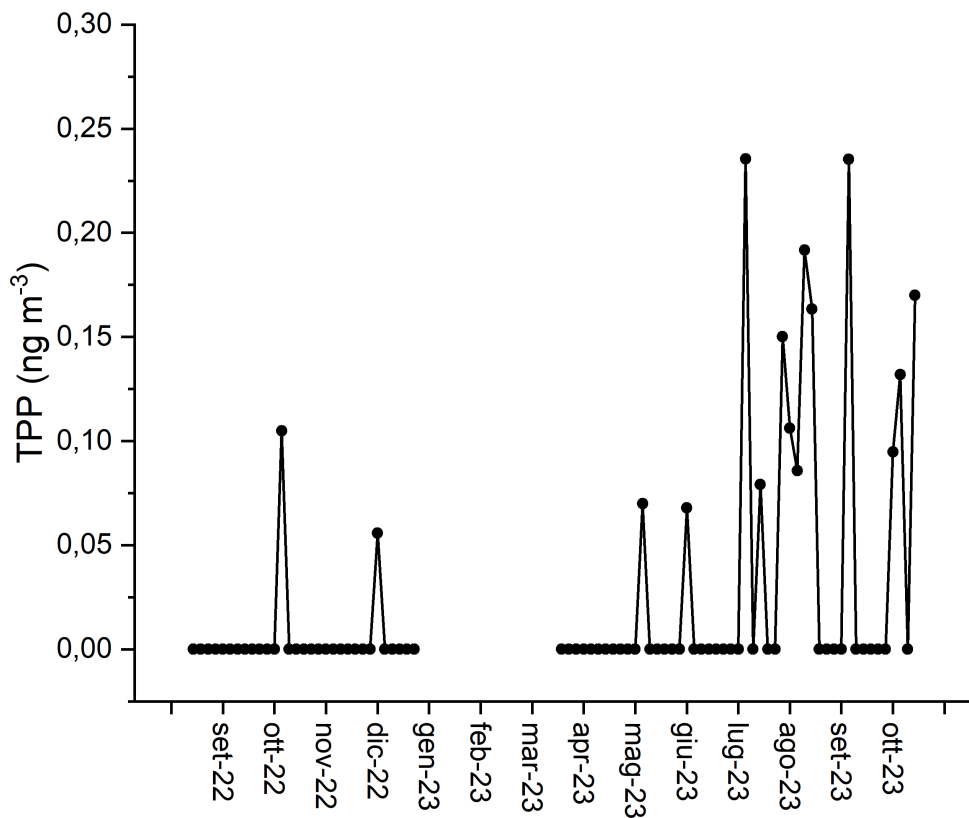


Figura A.4: Andamento TPP dal 07/09/2022 al 29/10/2023

Riferimenti bibliografici

- [1] J. Prospero, R. Charlson, V. Mohnen, R. Jaenicke, A. Delany, J. Moyers, W. Zoller, and K. Rahn, “The atmospheric aerosol system: An overview,” *Reviews of Geophysics*, vol. 21, no. 7, pp. 1607–1629, 1983.
- [2] A. Marconi, “Materiale particellare aerodisperso: definizioni, effetti sanitari, misura e sintesi delle indagini ambientali effettuate a Roma,”
- [3] P. H. McMurry, “A review of atmospheric aerosol measurements,” *Atmospheric Environment*, vol. 34, no. 12-14, pp. 1959–1999, 2000.
- [4] W. Yang, D. Pudasainee, R. Gupta, W. Li, B. Wang, and L. Sun, “An overview of inorganic particulate matter emission from coal/biomass/msw combustion: Sampling and measurement, formation, distribution, inorganic composition and influencing factors,” *Fuel Processing Technology*, vol. 213, p. 106657, 2021.
- [5] K. R. Spurny, *Aerosol chemical processes in the environment*. CRC Press, 2000.
- [6] A. Calvo, C. Alves, A. Castro, V. Pont, A. Vicente, and R. Fraile, “Research on aerosol sources and chemical composition: Past, current and emerging issues,” *Atmospheric Research*, vol. 120, pp. 1–28, 2013.
- [7] “Ministero dell’ambiente e della tutela del territorio, allegto 5,” 2003.
- [8] B. J. Turpin and J. J. Huntzicker, “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*, vol. 25, no. 2, pp. 207–215, 1991.
- [9] R. Zhang, G. Wang, S. Guo, M. L. Zamora, Q. Ying, Y. Lin, W. Wang, M. Hu, and Y. Wang, “Formation of urban fine particulate matter,” *Chemical reviews*, vol. 115, no. 10, pp. 3803–3855, 2015.
- [10] R. Udisti, A. Bazzano, S. Becagli, E. Bolzacchini, L. Caiazzo, D. Cappelletti, L. Ferrero, D. Frosini, F. Giardi, M. Grotti, *et al.*, “Sulfate source apportionment in the ny-ålesund (svalbard islands) arctic aerosol,” *Rendiconti Lincei*, vol. 27, pp. 85–94, 2016.
- [11] M. Jiang, L. C. Marr, E. Dunlea, S. Herndon, J. T. Jayne, C. Kolb, W. Knighton, T. Rogers, M. Zavala, L. Molina, *et al.*, “Vehicle fleet emissions of black carbon, polycyclic aromatic hydrocarbons, and other pollutants measured by a mobile laboratory in mexico city,” *Atmospheric Chemistry and Physics*, vol. 5, no. 12, pp. 3377–3387, 2005.
- [12] L. M. Russell, R. Bahadur, and P. J. Ziemann, “Identifying organic aerosol sources by comparing functional group composition in chamber and atmospheric particles,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 108, no. 9, pp. 3516–3521, 2011.
- [13] S. Decesari, M. C. Facchini, S. Fuzzi, and E. Tagliavini, “Characterization of water-soluble organic compounds in atmospheric aerosol: A new approach,” *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, vol. 105, no. D1, pp. 1481–1489, 2000.

- [14] <https://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/aria/approfondimenti/inquinanti-atmosferici>.
- [15] K. C. Jones, “Persistent organic pollutants (pops) and related chemicals in the global environment: some personal reflections,” *Environmental Science & Technology*, vol. 55, no. 14, pp. 9400–9412, 2021.
- [16] C. Balducci, M. Perilli, P. Romagnoli, and A. Cecinato, “New developments on emerging organic pollutants in the atmosphere,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 19, pp. 1875–1884, 2012.
- [17] J. C. Chow, J. G. Watson, J. L. Mauderly, D. L. Costa, R. E. Wyzga, S. Vedal, G. M. Hidy, S. L. Altshuler, D. Marrack, J. M. Heuss, *et al.*, “Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect,” *Journal of the Air & Waste Management Association*, vol. 56, no. 10, pp. 1368–1380, 2006.
- [18] C. A. Pope III and D. W. Dockery, “Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect,” *Journal of the air & waste management association*, vol. 56, no. 6, pp. 709–742, 2006.
- [19] <https://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/aria/a-proposito-di-pollveri-atmosferiche>.
- [20] N. Jia, Y. Li, R. Chen, and H. Yang, “A review of global pm2.5 exposure research trends from 1992 to 2022,” *Sustainability*, vol. 15, no. 13, p. 10509, 2023.
- [21] D. K. Farmer, E. K. Boedicker, and H. M. DeBolt, “Dry deposition of atmospheric aerosols: Approaches, observations, and mechanisms,” *Annual review of physical chemistry*, vol. 72, no. 1, pp. 375–397, 2021.
- [22] K. Mohapatra and S. Biswal, “Effect of particulate matter (pm) on plants, climate, ecosystem and human health,” *Int J Adv Technol Eng Sci*, vol. 2, no. 4, pp. 2348–7550, 2014.
- [23] R. B. Stull, *An introduction to boundary layer meteorology*, vol. 13. Springer Science & Business Media, 2012.
- [24] <https://www.ilmeteo.it/notizie/avvezione-e-convezione-cosa-sono-meteo-didattic>.
- [25] A. A. Baklanov, B. Grisogono, R. Bornstein, L. Mahrt, S. S. Zilitinkevich, P. Taylor, S. E. Larsen, M. W. Rotach, and H. Fernando, “The nature, theory, and modeling of atmospheric planetary boundary layers,” *Bulletin of the American Meteorological Society*, vol. 92, no. 2, pp. 123–128, 2011.
- [26] G. L. Daly and F. Wania, “Organic contaminants in mountains,” *Environmental science & technology*, vol. 39, no. 2, pp. 385–398, 2005.
- [27] A. Gohm, F. Harnisch, J. Vergeiner, F. Obleitner, R. Schnitzhofer, A. Hansel, A. Fix, B. Neiningner, S. Emeis, and K. Schäfer, “Air pollution transport in an alpine valley: Results from airborne and ground-based observations,” *Boundary-layer meteorology*, vol. 131, pp. 441–463, 2009.

- [28] M. N. Lang, A. Gohm, and J. S. Wagner, “The impact of embedded valleys on daytime pollution transport over a mountain range,” *Atmospheric Chemistry and Physics*, vol. 15, no. 20, pp. 11981–11998, 2015.
- [29] B. Adler and N. Kalthoff, “Multi-scale transport processes observed in the boundary layer over a mountainous island,” *Boundary-layer meteorology*, vol. 153, pp. 515–537, 2014.
- [30] P. Tremolada, S. Villa, P. Bazzarin, E. Bizzotto, R. Comolli, and M. Vighi, “Pops in mountain soils from the alps and andes: suggestions for a ‘precipitation effect’ on altitudinal gradients,” *Water, air, and soil pollution*, vol. 188, pp. 93–109, 2008.
- [31] A. Khandual, “Flame retardants: An overview,” *Colourage*, vol. 61, p. 29, 2014.
- [32] E. Schramm, A. Leisewitz, and H. Kruse, *Substituting Environmentally Relevant Flame Retardants*. 2001.
- [33] O. D. Ekpe, G. Choo, D. Barceló, and J.-E. Oh, “Introduction of emerging halogenated flame retardants in the environment,” in *Comprehensive analytical chemistry*, vol. 88, pp. 1–39, Elsevier, 2020.
- [34] “Convenzione di stoccolma sugli inquinanti organici persistenti.” <https://www.fedlex.admin.ch/filestore/fedlex.data.admin.ch/eli/cc/2004/347/20231116/it/pdf-a/fedlex-data-admin-ch-eli-cc-2004-347-20231116-it-pdf-a.pdf>, 2008.
- [35] D. Klinčić, M. Dvorščak, K. Jagić, G. Mendaš, and S. Herceg Romanić, “Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in humans and environmental compartments: a comprehensive review of the last five years of research,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, pp. 5744–5758, 2020.
- [36] I. Pantelaki and D. Voutsas, “Organophosphate flame retardants (opfrs): a review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment,” *Science of the Total Environment*, vol. 649, pp. 247–263, 2019.
- [37] H.-C. Kung, Y.-K. Hsieh, B.-W. Huang, N. K. Cheruiyot, G.-P. Chang-Chien, *et al.*, “An overview: organophosphate flame retardants in the atmosphere,” *Aerosol and Air Quality Research*, vol. 22, no. 7, p. 220148, 2022.
- [38] X. Wang, Q. Zhu, X. Yan, Y. Wang, C. Liao, and G. Jiang, “A review of organophosphate flame retardants and plasticizers in the environment: analysis, occurrence and risk assessment,” *Science of the Total Environment*, vol. 731, p. 139071, 2020.
- [39] I. Van der Veen and J. de Boer, “Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis,” *Chemosphere*, vol. 88, no. 10, pp. 1119–1153, 2012.
- [40] J. Huang, L. Ye, M. Fang, and G. Su, “Industrial production of organophosphate flame retardants (opfrs): big knowledge gaps need to be filled?,” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 108, no. 5, pp. 809–818, 2022.
- [41] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

- [42] <https://www.lgcstandards.com/>.
- [43] “Provisional peer-reviewed toxicity values for trimethyl phosphate (casrn 512-56-1),” tech. rep., Superfund Health Risk Technical Support Center, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, 2012. EPA Document No. EPA/690/R-12/002F.
- [44] “Provisional peer-reviewed toxicity values for triethyl phosphate (casrn 78-40-0),” tech. rep., Superfund Health Risk Technical Support Center, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, 2012. EPA Document No. EPA/690/R-12/005F.
- [45] “Triphenyl phosphate and diphenyl phosphate - evaluation statement - 26 june 2023,” tech. rep., National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), 2023.
- [46] L. Sun, W. Xu, T. Peng, H. Chen, L. Ren, H. Tan, D. Xiao, H. Qian, and Z. Fu, “Developmental exposure of zebrafish larvae to organophosphate flame retardants causes neurotoxicity,” *Neurotoxicology and teratology*, vol. 55, pp. 16–22, 2016.
- [47] Z. Du, Y. Zhang, G. Wang, J. Peng, Z. Wang, and S. Gao, “Tphp exposure disturbs carbohydrate metabolism, lipid metabolism, and the dna damage repair system in zebrafish liver,” *Scientific reports*, vol. 6, no. 1, p. 21827, 2016.
- [48] G. Chen, Y. Jin, Y. Wu, L. Liu, and Z. Fu, “Exposure of male mice to two kinds of organophosphate flame retardants (opfrs) induced oxidative stress and endocrine disruption,” *Environmental toxicology and pharmacology*, vol. 40, no. 1, pp. 310–318, 2015.
- [49] H. S. Hendriks, R. G. van Kleef, and R. H. Westerink, “Modulation of human $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors by brominated and halogen-free flame retardants as a measure for in vitro neurotoxicity,” *Toxicology letters*, vol. 213, no. 2, pp. 266–274, 2012.
- [50] “Tris(2-chloro-1-methylethyl) phosphate (tcpp) cas no: 13674-84-5 einecs no: 237-158-7 summary risk assessment report,” 2008. Prepared by the European Chemicals Bureau as part of the Risk Assessment Report of TCPP under the EU Existing Substances Regulation (793/93/EEC).
- [51] W. H. Organization *et al.*, *Flame retardants: tris (chloropropyl) phosphate and tris (2-chloroethyl) phosphate*. World Health Organization, 1998.
- [52] <http://data.europa.eu/eli/dir/2014/79/oj,CommissionDirective2014/79/EUof20June2014amendingAppendixCofAnnexIItoDirective2009/48/ECoftheEuropeanParliamentandoftheCouncilonthesafetyoftoys,asregardsTCEP,TCPPandTDCPTextwithEEArelevance>, 2014.
- [53] Y. Wu, G. Su, S. Tang, W. Liu, Z. Ma, X. Zheng, H. Liu, and H. Yu, “The combination of in silico and in vivo approaches for the investigation of disrupting effects of tris (2-chloroethyl) phosphate (tcep) toward core receptors of zebrafish,” *Chemosphere*, vol. 168, pp. 122–130, 2017.

- [54] M. Negev, T. Berman, S. Reicher, S. Balan, A. Soehl, S. Goulden, R. Ardi, Y. Shammai, L. Hadar, A. Blum, *et al.*, “Regulation of chemicals in children’s products: How us and eu regulation impacts small markets,” *Science of the Total Environment*, vol. 616, pp. 462–471, 2018.
- [55] L. V. Dishaw, D. L. Hunter, B. Padnos, S. Padilla, and H. M. Stapleton, “Developmental exposure to organophosphate flame retardants elicits overt toxicity and alters behavior in early life stage zebrafish (*danio rerio*),” *Toxicological Sciences*, vol. 142, no. 2, pp. 445–454, 2014.
- [56] A. Farhat, D. Crump, S. Chiu, K. L. Williams, R. J. Letcher, L. T. Gauthier, and S. W. Kennedy, “In ovo effects of two organophosphate flame retardants—tccp and tdcpp—on pipping success, development, mrna expression, and thyroid hormone levels in chicken embryos,” *toxicological sciences*, vol. 134, no. 1, pp. 92–102, 2013.
- [57] Z. Percy, A. M. Vuong, Y. Xu, C. Xie, M. Ospina, A. M. Calafat, A. Hoofnagle, B. P. Lanphear, J. M. Braun, K. M. Cecil, *et al.*, “Maternal urinary organophosphate esters and alterations in maternal and neonatal thyroid hormones,” *American journal of epidemiology*, vol. 190, no. 9, pp. 1793–1802, 2021.
- [58] J. Yan, Z. Zhao, M. Xia, S. Chen, X. Wan, A. He, G. D. Sheng, X. Wang, Q. Qian, and H. Wang, “Induction of lipid metabolism dysfunction, oxidative stress and inflammation response by tris (1-chloro-2-propyl) phosphate in larval/adult zebrafish,” *Environment International*, vol. 160, p. 107081, 2022.
- [59] Q. Saquib, M. Siddiqui, and A. Al-Khedhairi, “Organophosphorus flame-retardant tris (1-chloro-2-propyl) phosphate is genotoxic and apoptotic inducer in human umbilical vein endothelial cells,” *Journal of Applied Toxicology*, vol. 41, no. 5, pp. 861–873, 2021.
- [60] Y. Kawagoshi, S. Nakamura, and I. Fukunaga, “Degradation of organophosphoric esters in leachate from a sea-based solid waste disposal site,” *Chemosphere*, vol. 48, no. 2, pp. 219–225, 2002.
- [61] V. W. Saeger, O. Hicks, R. G. Kaley, P. R. Michael, J. P. Mieure, and E. S. Tucker, “Environmental fate of selected phosphate esters,” *Environmental Science & Technology*, vol. 13, no. 7, pp. 840–844, 1979.
- [62] A. Naccarato, A. Tassone, S. Moretti, R. Elliani, F. Sprovieri, N. Pirrone, and A. Tagarelli, “A green approach for organophosphate ester determination in air-borne particulate matter: Microwave-assisted extraction using hydroalcoholic mixture coupled with solid-phase microextraction gas chromatography-tandem mass spectrometry,” *Talanta*, vol. 189, pp. 657–665, 2018.
- [63] M. Garcia, I. Rodríguez, and R. Cela, “Microwave-assisted extraction of organophosphate flame retardants and plasticizers from indoor dust samples,” *Journal of chromatography A*, vol. 1152, no. 1-2, pp. 280–286, 2007.
- [64] Y. Wang, Y. Yao, W. Li, H. Zhu, L. Wang, H. Sun, and K. Kannan, “A nationwide survey of 19 organophosphate esters in soils from china: spatial distribution and hazard assessment,” *Science of the Total Environment*, vol. 671, pp. 528–535, 2019.

- [65] M. García-López, I. Rodriguez, and R. Cela, “Development of a dispersive liquid–liquid microextraction method for organophosphorus flame retardants and plasticizers determination in water samples,” *Journal of Chromatography A*, vol. 1166, no. 1-2, pp. 9–15, 2007.
- [66] E. Martínez-Carballo, C. González-Barreiro, A. Sitka, S. Scharf, and O. Gans, “Determination of selected organophosphate esters in the aquatic environment of austria,” *Science of the total environment*, vol. 388, no. 1-3, pp. 290–299, 2007.
- [67] Z. Chen, C. An, M. Elektorowicz, and X. Tian, “Sources, behaviors, transformations, and environmental risks of organophosphate esters in the coastal environment: A review,” *Marine Pollution Bulletin*, vol. 180, p. 113779, 2022.
- [68] P. Ciccioli, A. Cecinato, E. Brancaleoni, M. Montagnoli, and I. Allegrini, “Chemical composition of particulate organic matter (pom) collected at terra nova bay in antarctica,” *International journal of environmental analytical chemistry*, vol. 55, no. 1-4, pp. 47–59, 1994.
- [69] L. Aston, J. Noda, J. Seiber, and C. Reece, “Organophosphate flame retardants in needles of pinus ponderosa in the sierra nevada foothills,” 1996.
- [70] A. Möller, Z. Xie, A. Caba, R. Sturm, and R. Ebinghaus, “Organophosphorus flame retardants and plasticizers in the atmosphere of the north sea,” *Environmental Pollution*, vol. 159, no. 12, pp. 3660–3665, 2011.
- [71] R. Suhring, M. L. Diamond, M. Scheringer, F. Wong, M. Pucko, G. Stern, A. Burt, H. Hung, P. Fellin, H. Li, *et al.*, “Organophosphate esters in canadian arctic air: occurrence, levels and trends,” *Environmental science & technology*, vol. 50, no. 14, pp. 7409–7415, 2016.
- [72] C. Rauert, J. K. Schuster, A. Eng, and T. Harner, “Global atmospheric concentrations of brominated and chlorinated flame retardants and organophosphate esters,” *Environmental science & technology*, vol. 52, no. 5, pp. 2777–2789, 2018.
- [73] T. M. S. U. Gunathilake, Y. C. Ching, and K. Kadokami, “An overview of organic contaminants in indoor dust, their health impact, geographical distribution and recent extraction/analysis methods,” *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 44, no. 3, pp. 677–713, 2022.
- [74] M. Tokumura, Y. Miyake, Q. Wang, H. Nakayama, T. Amagai, S. Ogo, K. Kume, T. Kobayashi, S. Takasu, and K. Ogawa, “Methods for the analysis of organophosphorus flame retardants—comparison of gc-ei-ms, gc-nci-ms, lc-esi-ms/ms, and lc-apci-ms/ms,” *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, vol. 53, no. 5, pp. 475–481, 2018.
- [75] T. G. Bekele, H. Zhao, J. Yang, R. G. Chegen, J. Chen, S. Mekonen, and A. Qadeer, “A review of environmental occurrence, analysis, bioaccumulation, and toxicity of organophosphate esters,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, no. 36, pp. 49507–49528, 2021.
- [76] <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline>.

- [77] J. B. Quintana, R. Rodil, T. Reemtsma, M. García-López, and I. Rodríguez, “Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air ii. analytical methodology,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 27, no. 10, pp. 904–915, 2008.
- [78] <https://statweb.provincia.tn.it/movturistico/data>.
- [79] S. H. Brandsma, J. de Boer, M. J. van Velzen, and P. E. Leonards, “Organophosphorus flame retardants (pfrs) and plasticizers in house and car dust and the influence of electronic equipment,” *Chemosphere*, vol. 116, pp. 3–9, 2014.
- [80] C. Christia, G. Poma, A. Basis, C. Samara, and A. Covaci, “Legacy and emerging organophosphorus flame retardants in car dust from greece: Implications for human exposure,” *Chemosphere*, vol. 196, pp. 231–239, 2018.
- [81] C. F. Estill, J. Slone, A. C. Mayer, K. Phillips, J. Lu, I.-C. Chen, A. Christianson, R. Streicher, M. J. L. Guardia, N. Jayatilaka, *et al.*, “Assessment of spray polyurethane foam worker exposure to organophosphate flame retardants through measures in air, hand wipes, and urine,” *Journal of occupational and environmental hygiene*, vol. 16, no. 7, pp. 477–488, 2019.
- [82] R. D. Wood, “Center for the polyurethanes industry summary of unpublished industrial hygiene studies related to the evaluation of emissions of spray polyurethane foam insulation,” *Journal of occupational and environmental hygiene*, vol. 14, no. 9, pp. 681–693, 2017.
- [83] A. Bello, C. C. Carignan, Y. Xue, H. M. Stapleton, and D. Bello, “Exposure to organophosphate flame retardants in spray polyurethane foam applicators: Role of dermal exposure,” *Environment international*, vol. 113, pp. 55–65, 2018.
- [84] H. M. Stapleton, S. Klosterhaus, S. Eagle, J. Fuh, J. D. Meeker, A. Blum, and T. F. Webster, “Detection of organophosphate flame retardants in furniture foam and us house dust,” *Environmental science & technology*, vol. 43, no. 19, pp. 7490–7495, 2009.
- [85] S. Harrad, M. Sharkey, W. A. Stubbings, M. Alghamdi, H. Berresheim, M. Coggins, A. H. Rosa, and D. Drage, “Chlorinated organophosphate esters in irish waste foams and fabrics: Concentrations, preliminary assessment of temporal trends and evaluation of the impact of a concentration limit value,” *Science of the Total Environment*, vol. 859, p. 160250, 2023.
- [86] A. Marklund, B. Andersson, and P. Haglund, “Organophosphorus flame retardants and plasticizers in air from various indoor environments,” *Journal of environmental monitoring*, vol. 7, no. 8, pp. 814–819, 2005.
- [87] Y. Wang, A. Peris, M. R. Rifat, S. I. Ahmed, N. Aich, L. V. Nguyen, J. Urík, E. Eljarrat, B. Vrana, L. M. Jantunen, *et al.*, “Measuring exposure of e-waste dismantlers in dhaka bangladesh to organophosphate esters and halogenated flame retardants using silicone wristbands and t-shirts,” *Science of The Total Environment*, vol. 720, p. 137480, 2020.

- [88] W. A. Stubbings, L. V. Nguyen, K. Romanak, L. Jantunen, L. Melymuk, V. Arrandale, M. L. Diamond, and M. Venier, “Flame retardants and plasticizers in a canadian waste electrical and electronic equipment (weee) dismantling facility,” *Science of The Total Environment*, vol. 675, pp. 594–603, 2019.
- [89] H. Zhu, M. M. Al-Bazi, T. A. Kumosani, and K. Kannan, “Occurrence and profiles of organophosphate esters in infant clothing and raw textiles collected from the united states,” *Environmental Science & Technology Letters*, vol. 7, no. 6, pp. 415–420, 2020.
- [90] A. Saini, C. Thaysen, L. Jantunen, R. H. McQueen, and M. L. Diamond, “From clothing to laundry water: investigating the fate of phthalates, brominated flame retardants, and organophosphate esters,” *Environmental Science & Technology*, vol. 50, no. 17, pp. 9289–9297, 2016.
- [91] E. Bernardo and M. Montagnin, “Studio dei materiali impiegati nella costruzione di sci,” *Università degli studi di Padova, Facoltà di Ingegneria*, 2005.
- [92] <https://www.leitner.com/it/azienda/da-sapere/componenti-degli-impianti-a-fune/>.
- [93] P. Seibert, H. Kromp-Kolb, A. Kasper, M. Kalina, H. Puxbaum, D. T. Jost, M. Schwikowski, and U. Baltensperger, “Transport of polluted boundary layer air from the po valley to high-alpine sites,” *Atmospheric Environment*, vol. 32, no. 23, pp. 3953–3965, 1998.
- [94] H. Diémoz, G. P. Gobbi, T. Magri, G. Pession, S. Pittavino, I. K. Tombolato, M. Campanelli, and F. Barnaba, “Transport of po valley aerosol pollution to the northwestern alps—part 2: Long-term impact on air quality,” *Atmospheric Chemistry and Physics*, vol. 19, no. 15, pp. 10129–10160, 2019.
- [95] M. Malandrino, M. Di Martino, G. Ghiotti, F. Geobaldo, M. M. Grosa, A. Giacomino, and O. Abollino, “Inter-annual and seasonal variability in pm10 samples monitored in the city of turin (italy) from 2002 to 2005,” *Microchemical Journal*, vol. 107, pp. 76–85, 2013.
- [96] <https://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/meteo/metodologia/meteorologia-ambientale>.
- [97] https://www.arpa.veneto.it/dati-ambientali/dati-storici/meteo-idro-nivo/ultimi_anni.