



Geologia e Salute

Geologia Medica: un'opportunità per il futuro

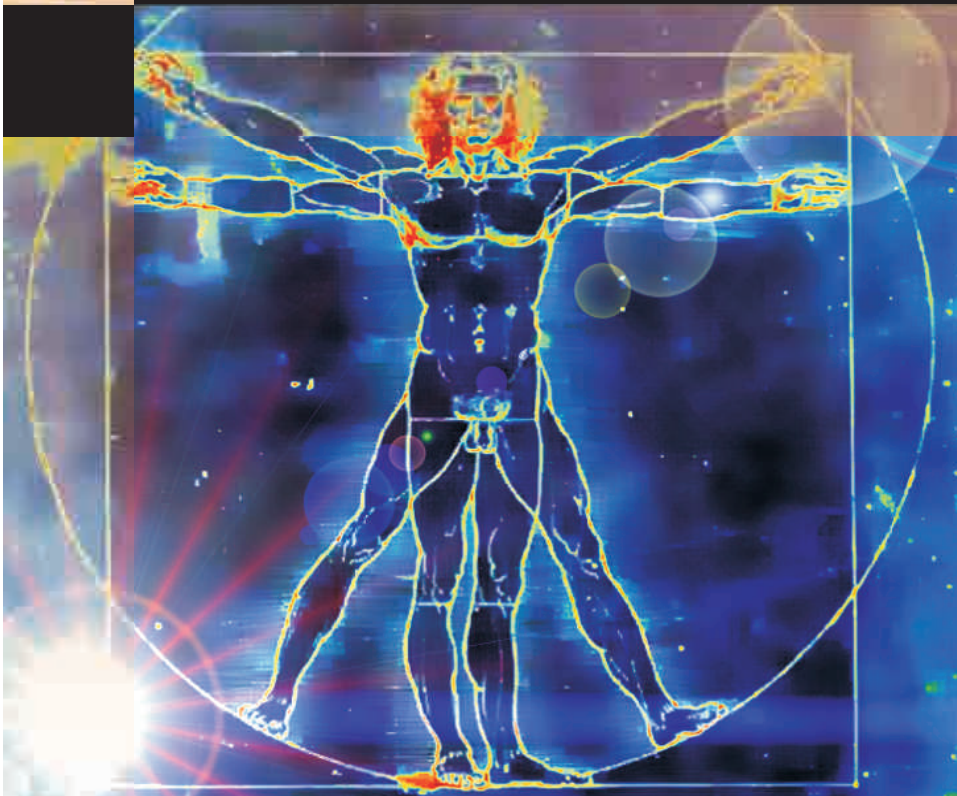
Geology and Health

Medical Geology: an opportunity for the future

Atti della Sessione "Geologia e Salute"
Proceedings of Session "Geology and Health"

Geoitalia 2007
Sesto Forum Italiano di Scienze della Terra
Rimini 12-14 settembre 2007

a cura di Rodolfo Coccioni e Fabio Tateo



**Quaderni del Centro di Geobiologia
Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"**

5/2008

Quaderni del Centro di Geobiologia dell'Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

1. **Rodolfo Coccioni** (a cura di), 2003. *Verso la gestione integrata della costa del Monte San Bartolo: risultati di un progetto pilota*, 163 pp.
2. **Erika Roccatò**, 2004. *I Parchi Regionali delle Marche tra sostenibilità ambientale e valorizzazione paesistica*, 110 pp.
3. **Rodolfo Coccioni** (a cura di), 2005. *La dinamica evolutiva della fascia costiera tra le foci dei fiumi Foglia e Metauro: verso la gestione integrata di una costa di elevato pregio ambientale*, 95 pp.
4. **Rodolfo Coccioni e Fabio Tateo** (a cura di), 2006. *Geologia & Salute: fattori geologico-ambientali e salute negli esseri viventi. Atti del 1° Seminario Nazionale di Studio, Pesaro, 7 maggio 2005*, 97 pp.

**Atti della Sessione “Geologia e Salute”
Geoitalia 2007
Sesto Forum Italiano di Scienze della Terra
Rimini 12-14 settembre 2007**

Geologia e Salute
Geologia Medica: un’opportunità per il futuro

Geology and Health
Medical Geology: an opportunity for the future

a cura di Rodolfo Coccioni e Fabio Tateo

I Quaderni del Centro sono editi a cura di

Rodolfo Coccioni

Istituto di Geologia e Centro di Geobiologia

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

Campus Scientifico

Località Crocicchia

61029 Urbino

Grafica e impaginazione testi

Andrea Marsili

Istituto di Geologia e Centro di Geobiologia

Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"

INDICE

GEOLOGIA E SALUTE

GEOLOGIA MEDICA: UN'OPPORTUNITÀ PER IL FUTURO

GEOLOGY AND HEALTH

MEDICAL GEOLOGY: AN OPPORTUNITY FOR THE FUTURE

9. R. Coccioni e F. Tateo

GEOCHIMICA E SALUTE: INQUINAMENTO DA METALLI PESANTI E EPIDEMIOLOGIA NELLA REGIONE CAMPANIA

TOXIC METALS DISTRIBUTION NATURAL RADIOACTIVITY AND EPIDEMIOLOGY IN THE CAMPANIA REGION (ITALY)

13. S. Albanese, M.L. De Luca, B. De Vivo, A. Lima, G. Grezzi

RECENTI SVILUPPI SUL RISCHIO OCCUPAZIONALE DA SILICE: LA SITUAZIONE ITALIANA

RECENT DEVELOPMENTS ON OCCUPATIONAL QUARTZ HAZARD: THE ITALIAN SITUATION

23. R. Bevilacqua, M. Cocchioni

SIMULAZIONE DEL TRASPORTO IN FALDA DI METALLI PESANTI E SOLFATI NELL'AREA DEL DEPOSITO DI CENERI DELLA CENTRALE TERMO-ELETTRICA "NIKOLA TESLA B" (OBRENOVAC, SERBIA)

SIMULATION OF HEAVY METAL AND SULPHATE TRANSPORT IN GROUNDWATER FROM THE FLY-ASH DEPOSIT IN THE AREA OF THE "NIKOLA TESLA B" THERMO-POWERPLANT, (OBRENOVAC, SERBIA)

33. G. Ciotoli, M. Moroni, Z.S. Žunić, I. Čeliković, S. Lombardi

APPLICAZIONI DELL'INDAGINE MORFOCHIMICA IN MICROSCOPIA ELETTRONICA A PROBLEMATICHE DI IGIENE INDUSTRIALE

MORPHOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF FINE PARTICULATE MATTER USING ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUES: SOME INDUSTRIAL HYGIENE APPLICATIONS

49. E. Della Penda, B. Moroni

STUDIO EPIDEMIOLOGICO SULLA CALCOLOSI IN BASILICATA (ITALIA): INFLUENZA DEI FATTORI AMBIENTALI

BASILICATA (ITALY) EPIDEMIOLOGICAL UROLITHIASIS PROJECT: CORRELATION TO ENVIRONMENTAL RISKS FACTORS

59. M.L. Giannossi, G. Mongelli, V. Summa, F. Tateo

**TERRITORIO, RADIOATTIVITÀ NATURALE E SALUTE IN ALCUNE AREE DELLA SARDEGNA.
PRIME OSSERVAZIONI ED AFFINAMENTO DELLE TECNICHE**

TERRITORY, NATURAL RADIOACTIVITY AND HEALTH IN SOME PLACES OF SARDINIA

67. A. Lumbau, D. Carboni, S. Ginesu, L. Schinocca, S. Sias, G. Chessa

FONTI NATURALI E ANTROPICHE DI INQUINANTI PARTICELLARI NEI CONTESTI URBANI DI PERUGIA E TERNI (UMBRIA)

GEOLOGICAL VS ANTHROPOGENIC INPUTS OF PARTICULATE POLLUTANTS IN DIFFERENT URBAN CONTEXTS IN UMBRIA

81. B. Moroni, L. Barcherini, F. Scardazza, D. Cappelletti, F. Vecchiocattivi

CORRELAZIONE TRA METALLI PESANTI E SALUTE UMANA IN SARDEGNA: STUDIO PRELIMINARE

RELATIONSHIP BETWEEN HEAVY METALS AND HEALTH IN SARDINIA: A PRELIMINARY STUDY

91. E. Muntoni, P. Valera, A. Deiana, Se. Muntoni, Sa. Muntoni

IL SILICIO NEL CORPO UMANO E LA PRESENZA DI MICROCRISTALLI DI SILICE IN LIQUIDI SINOVIALI PATOLOGICI

SILICON IN THE HUMAN BODY AND THE ODD OCCURRENCE OF SILICA MICROCRYSTALS IN PATHOLOGICAL SYNOVIAL FLUIDS

101. L. Peruzzo, F. Oliviero, P. Frallonardo, L. Tauro, P. Sfriso, A. Scanu, R. Ramonda, L. Punzi

CONDENSAZIONE PREFERENZIALE E CAMBIAMENTO CONFORMAZIONALE SPONTANEO DEL DNA SU SUPERFICI DI FILLOSILICATI

DNA CONDENSATION, ORDERING AND SPONTANEOUS CONFORMATIONAL CHANGES ONTO LAYER SILICATES

111. G. Valdrè

GEOLOGIA E SALUTE
GEOLOGIA MEDICA: UN'OPPORTUNITÀ PER IL FUTURO

GEOLOGY AND HEALTH
MEDICAL GEOLOGY: AN OPPORTUNITY FOR THE FUTURE

Rodolfo Coccioni¹, Fabio Tateo²

¹Istituto di Geologia e Centro di Geobiologia dell'Università degli Studi "Carlo Bo", Campus Scientifico, Località Crocicchia, 61029 Urbino. E-mail: cron@info-net.it

²Istituto di Geoscienze e Georisorse, CNR, c/o Dipartimento di Geoscienze, Università degli Studi di Padova, Via Giotto 1, 35137 Padova. E-mail: tateo@igg.cnr.it

Abstract

The new discipline "Medical Geology" is rapidly developing. The variety of the topics presented within the thematic Session in Rimini clearly shows the extent of the involved issues. Here is presented a framework of national and international editorial activities including the digital information widely employed in this context.

Geologia Medica: una disciplina emergente

Le relazioni tra "Geologia" e "Salute" sono innumerevoli e molti esempi sono noti e documentati da tempo. Ciononostante, una disciplina scientifica autonoma, mirata esplicitamente agli aspetti geologici, si è sviluppata solo di recente. E' possibile considerare come riferimento l'introduzione del termine "Medical Geology" in occasione dell'insediamento nel 1998 del "Working Group on Medical Geology" nell'ambito della Commissione IUGS "COGEOENVIRONMENT" (Geological Sciences for Environmental Planning). In precedenza, le stesse tematiche erano comprese nella "Geomedicina", un termine con significato più ampio e origini più antiche, introdotto da Zeiss nel 1931 (Låg, 1990) e legato alla distribuzione geografica delle patologie e delle loro cause.

La "Geomedicina", caratterizzata da un approccio multidisciplinare e da uno stretto legame con le scienze geografiche, si sviluppava necessariamente da basi mediche (rilevazione delle patologie), mentre "Medical Geology" intende considerare l'impatto dei

materiali e dei processi geologici sulla salute. Si tratta quindi di un approccio orientato decisamente verso le cause geologiche che determinano lo stato di salute (buono-cattivo) ed alle quali si può pervenire attraverso diversi strumenti, incluso quello geografico-cartografico.

Gli aspetti terminologici sono sempre scomodi da trattare, sia per le difficoltà intrinseche che per il generale disaccordo tra gli interessati. Senza aprire quindi una discussione in questo senso, non si può non sottolineare che "Geologia" e "Salute" sono termini piuttosto ambigui.

Il termine "Geologia" è comunemente riferito a sistemi non antropici; tuttavia, se si considerano le sue relazioni con la salute, le attività antropiche, alla stregua di un fattore geologico, possono sviluppare effetti con intensità simile a quella naturale. Anche il termine "Salute" può essere osservato da diversi punti di vista: alcuni ricercatori considerano esclusivamente la salute umana, altri includono anche quella degli animali (in questo caso la medicina veterinaria avrebbe un ruolo importantissimo), altri infine valutano l'ecosistema nella sua interezza con ricerche focalizzate su uomini, animali e piante.

Nonostante il debutto di "Geologia e Salute" sia piuttosto recente, si registrano già numerose iniziative in diverse parti del mondo. I primi anni del secolo (o del millennio, sarà forse questo un buon auspicio?) sono stati segnati dalla comparsa nel panorama scientifico internazionale di diverse pubblicazioni

e soprattutto di tre volumi: quello edito da Skinner & Berger (2003) raccoglie i contributi presentati da vari specialisti nell'ambito del convegno del "Working Group on Medical Geology" tenutosi ad Uppsala nel 2001; il libro di Komatina (2004) presenta un'ampia disamina delle problematiche geologico-sanitarie, in parte solo introduttive, ma anche con sezioni molto specifiche; il volume edito da Selinus et al. (2005), infine, rappresenta un significativo punto di riferimento poiché riunisce vari tipi di contributi, spesso molto specialistici. Oltre a queste opere di carattere monografico, sono state pubblicate numerose note introduttive, come quelle raccolte sul sito [http://www.medicalgeology.org \(/shortpapers.htm;/compilation_papers.html\)](http://www.medicalgeology.org(/shortpapers.htm;/compilation_papers.html)) e quelle di Brunell (2004), Dissanayake (2005) e Skinner (2007).

In aggiunta a queste importanti iniziative editoriali, sono da segnalare anche le attività della British Geological Society che nel 2001 ha dedicato un fascicolo di *Earthwise* a "Geology and health" e della Mineralogical Society of America che ha pubblicato "Medical Mineralogy and Geochemistry" nella serie "Review in Mineralogy & Geochemistry" (Sahai & Schoonen, 2006) ed anche riservato l'ultimo fascicolo del 2007 di *Elements* a "Medical Mineralogy and Geochemistry" (<http://www.elementsmagazine.org>).

La maggior parte delle pubblicazioni fin qui citate riguarda gli aspetti geochimici delle interazioni tra geologia e salute. In passato questi contributi confluivano sotto l'ombrello delle tematiche ambientali, ma non per questo hanno meno impatto sullo stato di salute degli esseri viventi.

Anche nel campo delle argille e dei minerali argillosi si sono sviluppate diverse specifiche attività editoriali, probabilmente in considerazione della notevole influenza che i materiali a grana molto fine (molto reattivi e dotati di proprietà catalitiche) possono esercitare sulla salute ed anche delle numerosissime applicazioni dei minerali argillosi in campo terapeutico, sia di tipo tradizionale (per esempio la fangoterapia), che di tipo avanzato (per esempio il rilascio controllato di farmaci o le

interazioni con acidi nucleici).

Le più recenti pubblicazioni rivolte specificamente alla salute comprendono un volume speciale di "Applied Clay Science" ("Clays and Health - Clays in Pharmacy, Cosmetics, Pelotherapy, and Environment Protection") edito da Carretero & Lagaly (2007), alcuni capitoli del volume "Handbook of Clay Science" (Carretero et al., 2006; Droy-Lefaix & Tateo, 2006) e un volume nel quale vengono trattati prevalentemente gli aspetti storici (Reinbacher, 2003).

Alcuni siti internet rappresentano altri interessanti punti di riferimento:

<http://health.usgs.gov>, sito della sezione "Human Health" dell'"United States Geological Survey" dal quale è possibile consultare anche la newsletter (Geohealth);

<http://www.medicalgeology.org>, il sito dell'"International Medical Geology Association" (IMGA), nata dall'attività del "Working Group on Medical Geology", contiene numerose informazioni;

<http://serc.carleton.edu/NAGTWorkshops/health/index.html>, sito dedicato a "Geology and Human Health"; ha finalità didattiche ed è gestito dal Carleton College (Minnesota) nell'ambito del progetto "On the Cutting Edge".

In Italia, il primo passo verso "Geologia e Salute" si è realizzato con la pubblicazione di una una specifica nota in forma digitale (Correcci, 2004):

http://www.igg.cnr.it/Geologia_e/GeologiaeSaluteText.htm.

Nel 2005 si è tenuto a Pesaro il 1° Seminario Nazionale di Studio "Geologia & Salute – fattori geologico-ambientali e salute negli esseri viventi", con la successiva pubblicazione degli atti (Coccioni e Tateo, 2006). Nel 2006, ancora a Pesaro, si è svolto il 1° Congresso Nazionale "Geologia e Salute" e nel 2007, a Rimini, una specifica sessione tematica di Geoitalia 2007-VI Forum Italiano di Scienze della Terra è stata dedicata a "Geologia e Salute".

Nell'ambito dei diversi appuntamenti nazionali ed internazionali sono stati trattati numerosi argomenti, anche se deve essere sottolineato che la maggior parte dei contributi

presentati ha riguardato aspetti geochimici e mineralogici già ben sviluppati, come la geo-chimica ambientale e il particolato aereodisperso. Un ampio contributo proviene anche dalle ricerche sui minerali argillosi che hanno spesso carattere trasversale a diverse discipline. Non mancano anche studi di carattere originale, sempre molto apprezzati e stimolanti. Tra questi si possono segnalare a titolo di esempio: la messa in evidenza di processi di decalcificazione delle ossa attraverso l'analisi isotopica delle urine; infatti il Ca è frazionato durante la biomineralizzazione anche a seguito di episodi brevi (giorni), contrariamente agli indicatori biochimici che manifestano solo processi di durata superiore (Skulan et al., 1997, 2007); ii) l'aumento dei casi di coccidioidomicosi o "febbre della valle", alcuni con esiti fatali, nella zona di Los Angeles (USA), a seguito delle frane che si sono sviluppate per un forte terremoto (magnitudo 6-7) e che hanno disperso nell'aria il suolo contenente le spore fungine, causa della malattia (Bowmann et al., 2003); iii) l'utilizzazione dei foraminiferi bentonici come bioindicatori in ambiente marino dell'inquinamento antropico da metalli pesanti sulla base dello sviluppo di malformazioni del guscio (Coccioni, 2006); iv) le relazioni tra superfici dei minerali argillosi e aggregazione spontanea + concentrazione + preservazione + dispersione di nucleotidi e polinucleotidi (Gallori et al., 2006).

Al di là degli aspetti disciplinari, gli studi di "Geologia e Salute" procedono generalmente seguendo due percorsi: il primo verso l'individuazione delle relazioni di causa-effetto tra salute e materiali o condizioni geologiche e il secondo verso l'applicazione delle metodologie geologiche alle problematiche sanitarie. In considerazione del rilevante numero di argomenti geologici che hanno relazioni con la salute, non sorprende che diverse tematiche siano ancora poco sviluppate (ad esempio sono rarissimi i contributi della geofisica circa i campi elettromagnetici naturali e le loro variazioni). Tuttavia, quello che sembra veramente mancare in modo sistematico è la significativa "discesa in campo" delle

scienze mediche. I dati epidemiologici, almeno in Italia, sono spesso inaccessibili e raccolti su basi amministrative (Comuni, Province, ASL) senza un'esatta localizzazione sul territorio. Allo stato attuale, le principali difficoltà sembrano essere rappresentate proprio dalle barriere multidisciplinari (soprattutto rispetto ai medici, mentre biologi e farmacisti si dimostrano più disponibili) e la scarsa attenzione da parte delle amministrazioni pubbliche nei confronti dell'importante ruolo che la geologia può svolgere in ambito sanitario.

I numerosi ed interessanti contributi presentati a Rimini nella sessione tematica "Geologia e Salute", e in parte raccolti in questo volume, dimostrano che il ruolo dell'ambiente naturale, e in particolare quello della geologia, non può e non deve essere ignorato. Questo volume testimonia che "Geologia Medica" è una straordinaria opportunità per ricomporre un corretto rapporto tra ambiente, società ed economia.

Referenze

- Bowman, C.A., Bobrowsky, P.T., Selinus O., 2003. Medical geology: new relevance in the earth sciences. *Episodes*, 26, 270-278.
- Brunnell, J.E., 2004. Medical Geology: Emergin Discipline on the Ecosystem-Human Health Interface. *EcoHealth*, 1, 15-18.
- Carretero, M.I., Gomes, C.S.F., Tateo, F., 2006. Clays and human health. In: Bergaya, F., Theng, B.K.G. and Lagaly, G. (eds), *Handbook of Clay Science. Developments in Clay Science*, Vol. 1, Chapter 11.5, 717-741, Elsevier.
- Carretero, M.I., Lagaly, G., 2007. Clays and Health - Clays in Pharmacy, Cosmetics, Pe-lotherapy, and Environment Protection. *Applied Clay Science*, 36, 1-3, 220 pp., Elsevier.
- Coccioni, R. 2006. Anomalie e deformazioni morfologiche negli organismi prodotte da inquinamento da elementi in traccia e stress ambientale. In: Coccioni, R., Tateo, F. (eds), *Geologia & Salute-Atti del 1° Seminario Nazionale di Studio*, 7 maggio 2005, Pesaro. Quaderni del Centro di Geobiologia, Univer-

- sità degli Studi di Urbino "Carlo Bo", 4, 35-41, Aracne Editrice, Roma.
- Coccioni, R., Tateo, F. (eds) 2006. Atti del 1° Seminario Nazionale di Studio "Geologia & Salute, fattori geologico-ambientali e salute negli esseri viventi", Pesaro 7 maggio 2005, Quaderni del Centro di Geobiologia, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", 4, 97 pp.
- Cortecci, G., 2004. GEOLOGIA E... SALUTE. http://www.igg.cnr.it/Geologia_e/GeologiaeSaluteText.htm.
- Dissanayake, C., 2005. Of Stones and Health: Medical Geology in Sri Lanka. *Science*, 308, 883-885.
- Droy-Lefaix, M.T., Tateo, F., 2006. Clays and clay minerals as drugs. In: Bergaya, F., Theng, B.K.G. and Lagaly, G. (eds), *Handbook of Clay Science. Developments in Clay Science, Vol. 1, Chapter 11.5, 743-752*, Elsevier.
- Gallori, E., Biondi, E., Branciamore, S., 2006. Looking for the Primordial Genetic Honeycomb. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 36, 493-499.
- Komatina, M.M., 2004. *Medical Geology: Effects of Geological Environments on Human Health*. Elsevier, 488 pp.
- Låg, J., 1990. *Geomedicine*. CRC Press, 288 pp., Boca Raton, USA.
- Reinbacher, W.R., 2003. *Healing Earths: The Third Leg of Medicine. A History of Minerals in Medicine*. 1st Books Library, 244 pp., Bloomington, USA.
- Sahai, N., Schoonen, M.A.A. (eds), 2006. *Medical Mineralogy and Geochemistry. Reviews in Mineralogy & Geochemistry*, 64, pp. 332
- Selinus, O., Alloway, B., Centeno, J.A., Finkelman, R.B., Fuge, R., Lindh, U., Smedley, P. (eds), 2005. *Essentials of Medical Geology: Impacts of the Natural Environment on Public Health*, 832 pp., Elsevier/Academic.
- Skinner, H.C.W., 2007. *The Earth, Source of Health and Hazards: An Introduction to Medical Geology*. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, doi: 10.1146/annurev.earth.34.031405.125005.
- Skinner, H.C.W., Berger, A.R. (eds), 2003. *Geology and Health: Closing the Gap*. Oxford Univ. Press, 192 pp., New York.
- Skulan, J., Bullen, T., Anbar, A.D., Puzas, J.E., Shackelford, L., LeBlanc, A., Smith, S.M., 2007. Natural Calcium Isotopic Composition of Urine as a Marker of Bone Mineral Balance. *Clinical Chemistry*, 53(6), 1155-1158.
- Skulan, J., DePaolo, D.J., Owens, T.L., 1997. Biological control of calcium isotopic abundances in the global calcium cycle. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61, 2205-2210.
- Zeiss, H., 1931. *Geomedizin (geographische Medizin) oder medizinische Geographie?* *Munchener med. Wochenschr.*, n.5, 98.

GEOCHIMICA E SALUTE: INQUINAMENTO DA METALLI PESANTI E EPIDEMIOLOGIA NELLA REGIONE CAMPANIA

TOXIC METALS DISTRIBUTION NATURAL RADIOACTIVITY AND EPIDEMIOLOGY IN THE CAMPANIA REGION (ITALY)

Stefano Albanese, Maria Luisa De Luca, Benedetto De Vivo,
Annamaria Lima, Giuseppe Grezzi

Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via Mezzocannone 8, 80134 Napoli. E-mail: stefano_albanese@hotmail.com

Abstract

We report geochemical and epidemiological data as maps representing the patterns of toxic metal concentrations and some, potentially, related pathologies in the Campania region of Italy. The comparison of a particular element distribution with specific pathologies, at regional scale, has been carried out taking into account previous epidemiological works, that demonstrated the existence of relationships between anomalous concentrations of some metals and incidence of some pathologies. This study shows that some types of cancer are found in Campania, in areas characterized by relative high concentration of heavy metals, though, in epidemiology, correlation does not imply automatically causation. For instance, Zn-Cd-rich areas overlap with areas of high prostate-cancer mortality; bladder and pancreatic cancer are correlated with Pb-Sb-rich areas, whereas, bronchial-tracheal-lung cancer is correlated with As, Cd and Pb-rich areas.

Premessa

Di seguito vengono riportati i dati geochimici ed epidemiologici sotto forma di mappe rappresentanti i patterns di distribuzione di metalli tossici potenzialmente relazionabili a patologie tumorali nella regione Campania. Il confronto tra la distribuzione spaziale degli elementi chimici considerati con determinate patologie, a scala regionale, è stato realizzato prendendo in considerazione studi epidemiologici preesistenti che già hanno dimo-

strano l'esistenza di una relazione potenziale di tipo causa-effetto tra concentrazioni anomale di alcuni metalli nell'ambiente e l'incidenza di alcune patologie tumorali.

Questo studio mostra che esiste in Campania una relazione spaziale tra l'incidenza locale di alcune tipologie di neoplasmi ed alte concentrazioni di metalli pesanti anche se, in epidemiologia, una correlazione non implica necessariamente una causalità. Si è osservato, infatti, che in aree ricche in Zn e Cd vi è un'alta mortalità per cancro al pancreas; così come in aree caratterizzate da alti tenori di Pb e Sb, l'incidenza di tumori alla vescica e alla prostata risulta aumentata rispetto ai trend regionali; inoltre, tumori a bronchi, trachea e polmone sono spesso spazialmente correlati con la presenza di alte concentrazioni di As, Cd e Pb nei suoli e nei sedimenti.

Introduzione

Un elemento di ricerca fondamentale che permette la correlazione tra dati epidemiologici e la presenza di metalli potenzialmente tossici in ambiente superficiale è, senza dubbio, la disponibilità di mappe riportanti la distribuzione spaziale sia di metalli e composti organici sia di patologie tumorali.

La cartografia diventa uno strumento fondamentale per favorire l'individuazione di eventuali interrelazioni esistenti tra la distribuzione degli elementi nelle rocce, nei suoli e nell'acqua e le condizioni di salute degli esseri umani e di altri organismi viventi che vivono

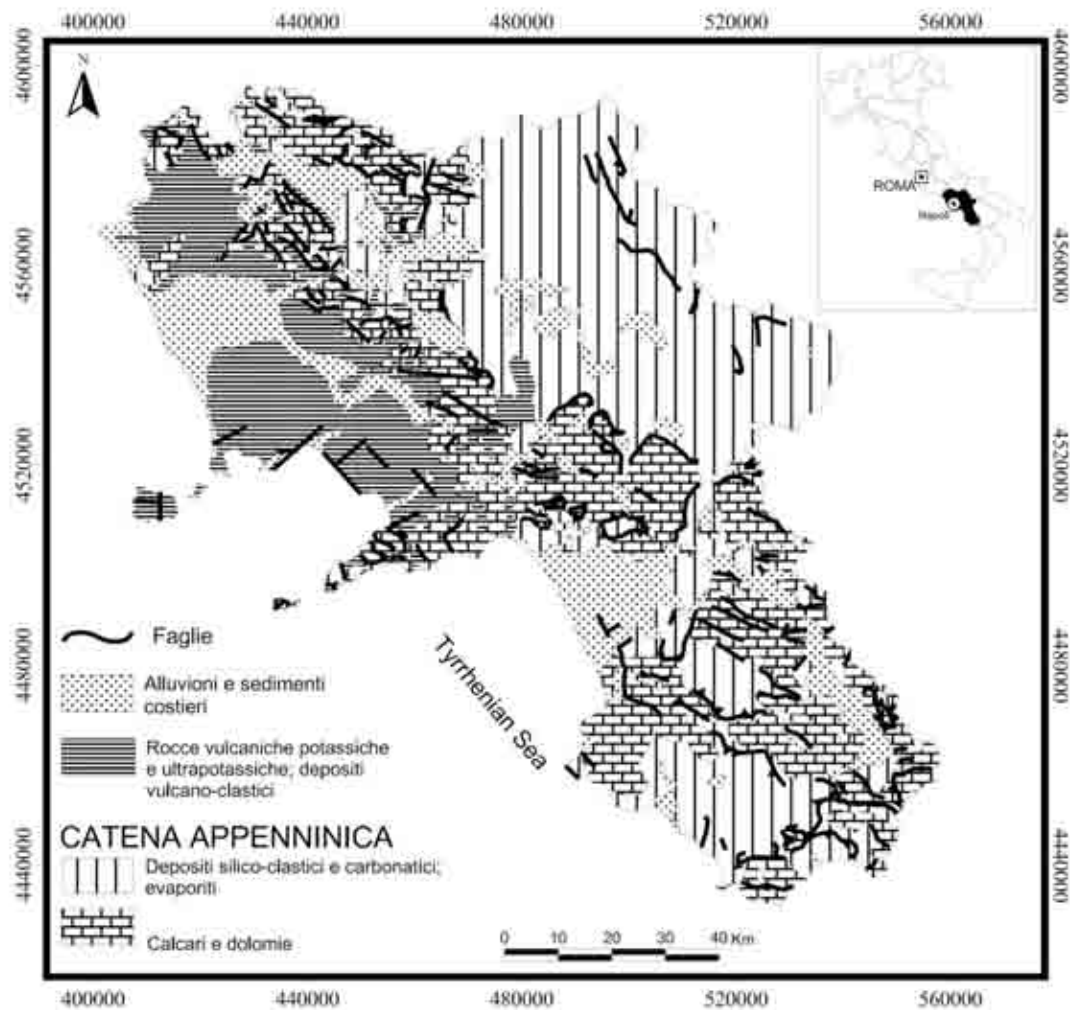


Figura 1. Carta geologica semplificata della regione Campania.

in un dato contesto ambientale (Berger, 2003).

La storia e l'evoluzione delle malattie riflette spesso la storia delle modificazioni che sono occorse nell'ambiente circostante l'uomo e gli organismi viventi in genere. L'inquinamento ambientale ha subito un forte incremento in seguito al moderno sviluppo tecnologico e, come conseguenza, anche l'incidenza di malattie legate alla contaminazione ambientale ha sofferto di un aumento; spesso, tuttavia, risulta non agevole dimostrare una relazione di tipo causa-effetto tra i due fenomeni.

Generalmente la presenza di una correlazio-

ne spaziale tra altre concentrazioni di alcuni elementi tossici (ad esempio: As, Pb, Cd) nei suoli e nei sedimenti e la particolare incidenza di alcune malattie non implica a priori che gli elementi chimici in eccesso abbiano avuto un ruolo nel processo di sviluppo di un'infermità o che vi sia un'aumentata probabilità che uno specifico metallo tossico sia causa dell'insorgenza di un tumore.

Da qualche anno la geo-medicina, che può essere considerata come una branca accessoria della medicina ambientale (Möller 2000) e che è nata dalla sinergia tra medicina e geologia (Bolviken 1998), studia l'influenza dei fattori ambientali sulla distribuzio-

ne geografica di patologie umane e animali. Gli elementi in traccia presenti in natura, metalli e non metalli, sono fondamentali nei processi di nutrizione degli esseri umani anche se gli stessi elementi possono avere effetti negativi sulla salute umana se ingeriti in quantità anomale (sia in eccesso che in difetto).

L'obiettivo di questo lavoro, in particolare, è di valutare le possibili interazioni esistenti tra la presenza di concentrazioni anomale di metalli tossici e l'incidenza di determinate patologie nel territorio della regione Campania.

Allo stato attuale la Campania è, con la Sardegna (De Vivo et al., 1997, 2001, 2006), l'unica regione italiana ad essere dotata di una cartografia geochemica su scala regionale basata su un campionamento sistematico di suoli e sedimenti fluviali

Geologia, dati geochemici e dati sulla mortalità per cancro nella regione Campania

Dal punto di vista litologico la regione Campania può essere raggruppata in 3 domini principali:

1) il settore montuoso rappresentato dall' Appennino Campano, costituito principalmente da Calcari e classificato come un edificio di Falda Neogenica;

2) il settore di piana costituito da una struttura a graben, che forma la Piana Campana ed altre strutture secondarie con evidenze di processi di sedimentazione di tipo pre- sin- e post-orogenici (principalmente coaratterizzati dalla deposizione di sedimenti a grana fine);

3) il settore vulcanico formato dai vulcani della Provincia Potassica Napoletana (Somma Vesuvio, Campi Flegrei, Ischia e Roccamonfina).

I dati geochemici utilizzati per la realizzazione di questo studio provengono dalle analisi chimiche di campioni di suoli e sedimenti fluviali prelevati omogeneamente su l'intero territorio della regione Campania (Albanese et al., 2007; De Vivo et al., 2006a, b).

L'Atlante Geochemico della Regione Campania (De Vivo et al. 2006) e l'Atlante Geochemico

dell'Area Urbana e Provinciale di Napoli (De Vivo et al. 2006) presentano la cartografia geochemica ottenuta dall'elaborazione dei dati chimici relativi a 2389 campioni di sedimenti fluviali e 982 campioni di suolo. I campioni sono stati analizzati con la finalità di determinarne i tenori di concentrazione per 37 elementi chimici: Ag, Al, As, Au, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Hg, K, La, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Sc, Se, Sr, Te, Th, Ti, Tl, U, V, W e Zn . Le analisi realizzate per mezzo di ICP-MS e ICP-ES (Induced Coupled Plasma Mass Spectrometry and Emission Spectrometry) sono state prodotte dai Laboratori Analitici ACME di Vancouver (Canada).

Nello specifico, per ogni campione sottoposto ad analisi, 15 grammi di polpa sono stati disciolti in 45 ml di Aqua Regia (parti uguali di HCl, HNO₃ e acqua distillata) ad una temperatura di 90° C per un'ora. Successivamente la soluzione portata ad un volume finale di 300ml con una concentrazione di HCl al 5% in volume è stata aspirata in uno Spettrometro ICP-ES Jarrel Ash Atomcomp 975 o, alternativamente, in uno Spettrometro ICP-MS Perkin Elmer Elan 6000.

La precisione delle analisi è stata calcolata utilizzando tre replicati della stessa ACME e due duplicati nascosti sottomessi dagli stessi autori. L'accuratezza è stata determinata utilizzando lo standard di riferimento DS2 fornito dalla stessa ACME (HMTRI, 1997) (Tabella 1).

In ogni sito di campionamento è stata misurata la radioattività naturale mediante uno scintillometro portatile Scintrex GRS500 (Lima et al. 2005).

I dati geochemici e radiometrici, organizzati in un database, sono stati rielaborati al fine di ottenere diversi tipi di cartografia geochemica:

- Carte della distribuzione puntuale
- Carte dei tenori di fondo attuali (*baseline*)
- Carte delle associazioni fattoriali
- Carte di rischio
- Carte della radioattività totale e parziale.

Tabella 1. Limiti di rilevabilità strumentale, Accuratezza e Precisione. RPD = Differenza Relativa Percentuale.

Elementi	Unità	Limite di Rilevabilità Strumentale (DL)	Accuratezza (%)	Precisione (%RPD)
Al	%	0.01	0	1.8
Ca	%	0.01	3.9	2.2
Fe	%	0.01	0.7	1.3
K	%	0.01	6.3	5.3
Mg	%	0.01	0	1.5
Na	%	0.001	3.6	2.9
P	‰	0.001	0	3.6
S	%	0.02	30	11.9
Ti	%	0.001	0	5.7
As	mg/kg	0.1	0.3	3
B	mg/kg	1	0	11
Ba	mg/kg	0.5	0.3	1.5
Bi	mg/kg	0.02	1.8	3.2
Cd	mg/kg	0.01	1.4	5.6
Co	mg/kg	0.1	0	2.7
Cr	mg/kg	0.5	1.5	3.2
Cu	mg/kg	0.01	1.6	3.7
Ga	mg/kg	0.1	3.2	2.2
La	mg/kg	0.5	3.5	3.4
Mn	mg/kg	1	0.5	1.9
Mo	mg/kg	0.01	1.2	3.1
Ni	mg/kg	0.1	0.6	1.7
Pb	mg/kg	0.01	0.6	3.5
Sb	mg/kg	0.02	1.2	3.1
Sc	mg/kg	0.1	0	4.4
Se	mg/kg	0.1	0	28
Sr	mg/kg	0.5	5.3	2.4
Te	mg/kg	0.02	0.9	8.4
Th	mg/kg	0.1	5.1	3.6
Tl	mg/kg	0.02	1	3.6
U	mg/kg	0.1	1.6	3.7
V	mg/kg	2	1.3	2.4
W	mg/kg	0.2	2.7	4.4
Zn	mg/kg	0.1	0.5	2.6
Ag	mg/kg	2	0.4	7.9
Au	mg/kg	0.2	4.8	28.9
Hg	mg/kg	5	0	8

Tabella 2. Per ciascuna ASL e ciascuna tipologia tumorale considerata, suddivisi per sesso, il numero di morti osservate (MO), di morti attese (MA), il Rapporto Standardizzato di Mortalità Regionale (SMR REG) ed il valore dell'Errore Standard di SMR REG (SE).

UOMINI																
ASL	Trachea, bronchi e polmoni				Prostata				Vesova				Pancreas			
	MO	MA	SMR REG	SE	MO	MA	SMR REG	SE	MO	MA	SMR REG	SE	MO	MA	SMR REG	SE
NA.1	1947	1505	129.4	2.9	508	499	119.8	4.9	591	310	126.1	6.4	156	129	120.9	9.7
NA.2	520	427	124.1	5.1	138	148	93.2	7.9	116	81	138.1	12.0	33	37	89.2	15.6
NA.3	434	348	124.7	6.0	100	101	96.2	9.8	89	65	136.9	14.1	37	30	123.3	20.5
NA.4	536	551	97.3	4.9	147	171	86.0	6.9	140	119	138.4	10.9	49	47	89.4	14.7
NA.5	989	871	110.9	3.6	287	288	99.7	5.9	201	177	113.6	8.0	73	75	97.3	11.1
CE.1	432	479	90.2	4.9	223	200	111.5	7.4	81	103	84.5	9.1	44	41	82.9	14.1
CE.2	644	609	106.4	4.9	187	111	168.5	7.6	190	192	98.4	9.0	56	53	107.7	14.4
SA.1	591	405	97.3	1.9	159	165	96.4	7.6	68	82	82.9	10.0	28	32	80.0	15.2
SA.2	671	750	89.5	5.5	223	250	88.7	5.9	126	160	78.8	7.0	67	69	103.1	12.6
SA.3	368	551	66.8	3.5	195	230	84.8	6.1	81	132	61.4	6.8	41	49	83.7	13.1
AV.1	208	373	55.8	3.9	153	165	92.7	7.5	56	90	62.2	8.3	30	33	90.9	16.6
AV.2	439	433	77.8	4.4	134	108	79.8	6.9	66	95	69.9	8.5	35	37	67.6	14.9
BN	391	562	69.6	3.5	261	234	111.5	6.9	119	130	91.3	8.1	32	49	116.3	15.3
CAMPANIA	7853	7851	100.0	-	2809	2749	102.6	-	1609	1600	100.0	-	699	679	100.0	-

DONNE												
ASL	Trachea, bronchi e polmoni				Vescica				Pancreas			
	MO	MA	SMR REG	SE	MO	MA	SMR REG	SE	MO	MA	SMR REG	SE
NA.1	514	376	136.9	7.9	88	63	139.7	14.8	158	174	127.4	10.1
NA.2	70	57	122.8	14.6	14	15	93.3	21.9	39	30	130.0	20.8
NA.3	44	48	91.7	13.9	7	12	58.3	23.3	27	24	112.5	21.4
NA.4	63	71	85.1	10.8	20	19	105.3	23.3	38	39	97.4	13.9
NA.5	128	119	107.6	9.5	40	33	121.2	19.4	63	64	98.4	12.4
CE.1	63	64	98.4	13.4	15	18	83.3	7.9	37	35	77.1	14.9
CE.2	91	82	111.0	11.6	22	22	100.0	21.3	42	41	95.5	14.8
SA.1	50	55	90.9	13.0	13	15	86.7	24.5	32	29	110.3	19.3
SA.2	86	98	87.8	9.3	24	28	85.7	17.7	34	34	100.0	13.7
SA.3	48	59	69.6	10.1	13	21	61.9	16.5	32	39	82.1	11.3
AV.1	24	48	50.0	10.3	10	15	66.7	21.3	19	28	67.9	15.8
AV.2	33	38	91.4	12.6	10	17	58.8	18.4	22	32	68.8	14.4
BN	16	74	48.6	8.1	24	23	104.3	21.7	32	42	76.2	13.4
CAMPANIA	1069	1069	100.0	-	300	300	100.0	-	585	585	100.0	-

I dati di mortalità per quattro tipi di cancro, raggruppati per ASL (Aziende Sanitarie Locali) sono stati utilizzati per la realizzazione di questo studio e sono stati estratti dall'Atlante della Mortalità per Cancro nella regione Campania nel periodo 1989-1992 (Montella et al., 1996). Siccome l'area di influenza di ciascuna ASL è stabilita sulla base della densità di popolazione, il territorio della regione Campania risulta suddiviso in 14 ASL, 5 delle quali appartenenti alla provincia di Napoli. Per ciascuna ASL, i dati della mortalità sono stati espressi come Rapporto di Mortalità Standardizzato Regionale (SMR-REG). Il rapporto SMR-REG, espresso come percentuale, rappresenta il rapporto tra il numero di morti osservate per una specifica causa di mortalità in ciascuna ASL considerata ed il numero di morti attese (Exp. Death REG) calcolato sulla base della popolazione suddivisa in classi di età per ciascuna ASL ed i valori di mortalità età-specifici regionali (Tabel-

la 2). Per calcolare il numero di morti attese per ciascuna ASL è stata applicata la formula seguente:

$$\text{Exp. Deaths REG} = \sum_i Tr_i * p_i$$

dove:

Tr_i = Valore di mortalità regionale età-specifico calcolato per 100000 unità di popolazione per la classe di età i-esima, riferito ai cinque anni di riferimento considerati (1998-2001)

P_i = Popolazione dell'ASL nella i-esima classe di età

Al fine di considerare l'incertezza dei dati di mortalità, un intervallo di confidenza al 95% (CI) è stato calcolato per ciascun SMR-REG per mezzo della formula seguente:

$$CI = SMR \pm 1.96 SE$$

dove:

SE = Errore Standard del SMR = Radice quadrata di $[SMR * (1 - SMR)] / P$

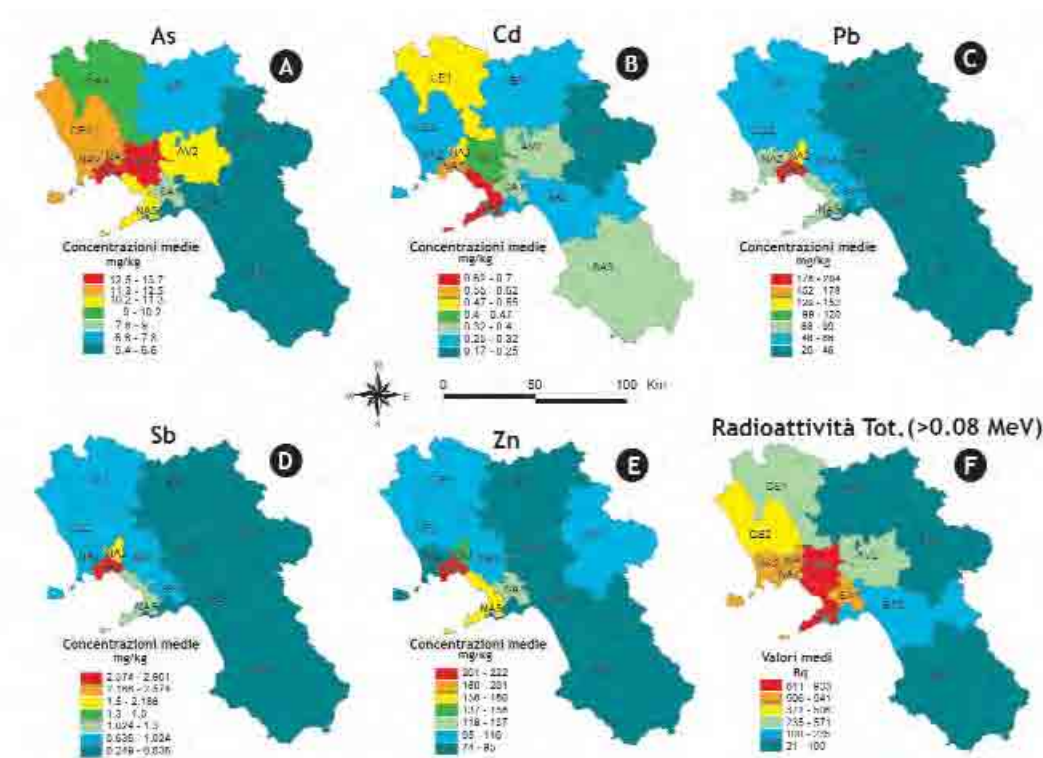


Figura 2. Mappe della distribuzione delle concentrazioni medie nei territori delle varie ASL campane per As (A), Cd (B), Pb (C), Sb (D), Zn (E) and della Radioattività Totale (MeV>0.08) (E).

P = Popolazione totale dell' ASL

I valori di SMR inclusi all'interno del limite inferiore e superiore del CI sono stati considerati uguali.

In conseguenza di ciò, se il valore 100 è incluso nel CI, non vi è una differenza significativa tra il numero di morti osservate e il numero di morti attese in una determinata ASL. Se, invece, il limite inferiore o superiore del CI sono rispettivamente al disotto o al disopra di 100, vi è una probabilità del 95% che il numero delle morti osservate sia significativamente minore o maggiore del numero di morte attese.

Metodi

Al fine di confrontare i dati epidemiologici con la distribuzione dei metalli tossici nell'area di studio, i dati geochimici per 13 elementi tossici (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Sb, Ti, V e Zn), estratti dal database geochimico di De Vivo et al. (2006 a and b), so-

no stati raggruppati e sono stati calcolati i valori di concentrazione media per il territorio di ciascuna ASL della Campania.

I valori di concentrazione media degli elementi chimici considerati e di SMR-REG per diversi tipologie di cancro sono stati cartografati mediante mappe vettoriali, elaborate con software GIS, rappresentando l'estensione areale di ciascuna ASL per mezzo di poligoni.

Basicamente, per ciascun elemento, la relativa cartografia geochimica è stata prodotta riclassificando i poligoni delle ASL sulla base dei rispettivi valori medi di concentrazione mentre, per ciascuna tipologia di cancro, le mappe della mortalità sono state realizzate classificando i poligoni sulla base dei rispettivi SMR-REG. In aggiunta, mediante gli stessi criteri di elaborazione, sono state compilate carte della radioattività parziale (K40, Th232, U238) e totale.

Siccome per le 5 ASL del territorio provincia-

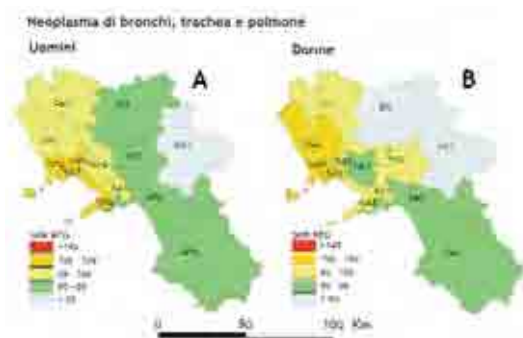


Figura 3. Mappe della distribuzione del SMR-REG (Rapporto Standardizzato di Mortalità Regionale) per ciascuna ASL della regione Campania riferite al tumore della trachea, dei bronchi e del polmone negli uomini (A) nelle donne (B). I prefissi NA, AV, BN, CE e SA nelle etichette sulle mappe indicano la pertinenza delle ASL ai diversi territori provinciali. (NA = Napoli, AV = Avellino, BN = Benevento, CE = Caserta, SA = Salerno).

le di Napoli, le concentrazioni medie degli elementi considerati sono state calcolate esclusivamente su campioni di suolo mentre i sedimenti fluviali sono serviti a determinare i valori di concentrazione media del rimanente territorio regionale, durante le fasi dell'analisi statistica le due tipologie di dati sono state trattate separatamente.

Discussione dei risultati

Tumore della trachea, bronchi e polmone

In Campania, i tumori della trachea, dei bronchi e del polmone provocano numerosi decessi sia negli uomini che nelle donne. Essi rappresentano la prima causa di mortalità maschile e la terza causa di mortalità femminile dopo il tumore al seno.

La carta riportante i valori di SMR-REG per gli uomini (Fig. 3A) mostra che la mortalità per questo tipo di tumore è significativamente più alta rispetto alla media regionale in 4 ASL della provincia di Napoli mentre nelle ASL delle province di Avellino, Benevento, Salerno e Caserta si riscontra un numero di decessi uguale o minore di quello statisticamente atteso.

Le mappe di SMR-REG per le donne (Fig. 3B) mostrano un incremento di mortalità per la sola ASL NA1 (corrispondente al territorio urbano della città di Napoli) e valori di SMR-

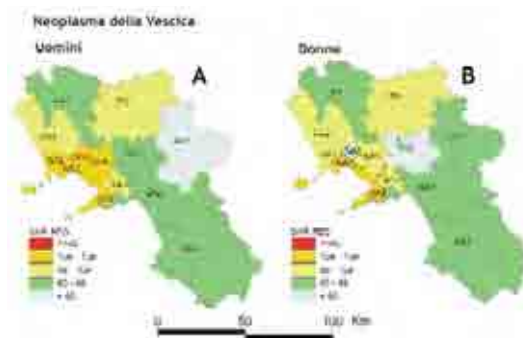


Figura 4. Mappe della distribuzione del SMR-REG (Rapporto Standardizzato di Mortalità Regionale) per ciascuna ASL della regione Campania riferite al tumore della vescica negli uomini (A) nelle donne (B). Per l'interpretazione delle etichette sulle mappe si veda Fig. 3.

REG significativamente più bassi della media regionale nelle ASL AV1, BN and SA3.

Gli elementi tossici distribuiti nell'ambiente che sono in relazione con questo tipo di tumore sono As, Cd, Cr, Ni e Pb (Watterson 1998).

Le carte delle concentrazioni medie di As e Cd (Figs. 2A, 2B) mostrano i valori più elevati di questi elementi nelle ASL dei territori provinciali di Napoli e Caserta, mentre ciò non si verifica per Cr e Ni. Il Pb presenta valori elevati solo nella provincia di Napoli, specialmente in corrispondenza dell'ASL NA1 dove si registrano anche i valori più alti di SMR-REG per tumori della trachea, dei bronchi e del polmone.

Il Pb presente nell'area urbana del capoluogo campano è stato messo ampiamente in relazione con l'inquinamento provocato dal traffico veicolare (Cicchella et al. 2005; De Vivo et al. 2006 b).

La corrispondenza tra elevati valori di SMR-REG ed elevati valori anomali di As, Cd e Pb principalmente nel territorio provinciale di Napoli rappresenta la probabilità che una relazione causa-effetto tra l'insorgenza di neoplasmi alla trachea, ai bronchi ed al polmoni e l'inquinamento ambientale da parte di Cd e Pb possa esistere (Goyer 1993; Boyd et al. 1970).

Questa ipotesi dovrebbe essere testata biomonitorando campioni di sangue ed urina provenienti da cittadini residenti in tutta la re-

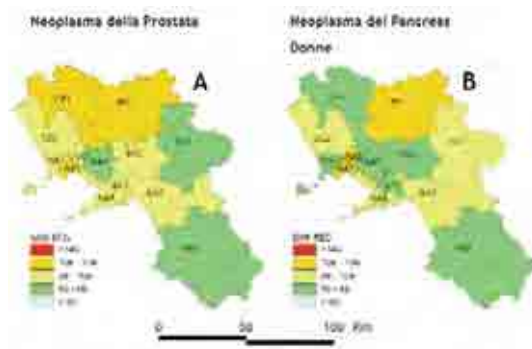


Figura 5. Mappe della distribuzione del SMR-REG (Rapporto Standardizzato di Mortalità Regionale) per ciascuna ASL della regione Campania riferite al tumore della prostata (A) e al tumore del pancreas nelle donne (B). Per l'interpretazione delle etichette sulle mappe si veda Fig. 3.

gione Campania. Inoltre, in Campania, è possibile individuare un'approssimativa corrispondenza spaziale tra i valori elevati del SMR-REG per il tumore ai polmoni (nelle province di Napoli e Caserta) ed elevati livelli di radiazioni gamma prodotti dai depositi e dalle rocce vulcaniche alcaline della Provincia Magmatica Napoletana (Fig. 2F). Una delle cose più interessanti per la tutela della salute nella Regione Campania, è il rischio potenziale rappresentato da Rn. Siccome il gas Rn, ampiamente riconosciuto come una delle cause di insorgenza del tumore al polmone (Field et al. 2000) è un prodotto diretto del processo di decadimento dell' U^{238} , nelle province di Napoli e Caserta, la radioattività naturale può essere considerata una causa potenziale dell'incremento di mortalità per questo tumore.

Tumore alla prostata

La prostata è una ghiandola presente solo negli uomini, che produce il liquido prostatico. I fattori che influenzano l'emergere di questo tumore sono l'età, gli ormoni, l'attività sessuale, virus, fattori genetici ed esposizione cronica a Zn e Cd (Dinse 1999; Plant & Davis 2003; Smith 1999).

I valori più elevati del SMR-REG sono stati trovati nella Provincia di Napoli (ASL NA1), nella Provincia di Caserta (ASL CE1) ed in quella di Benevento (ASL BN1) (Fig. 5A).

Lo Zn è un elemento fortemente correlato con le funzioni della prostata perché è naturalmente presente nella ghiandola prostatica al fine di mantenerne l'equilibrio funzionale; lo Zn può determinare un indebolimento del sistema immunitario ed un antagonismo con Se e Cu, aumentando il rischio di tumore (Bertholf 1981). La carta di concentrazione dello Zn (Fig. 2E) mostra i valori di concentrazione più elevati per l'elemento in corrispondenza dell'area urbana di Napoli, dove si riscontrano pure i valori più elevati di SMR-REG per il tumore alla prostata.

La mappa di concentrazione del Cd (Fig. 2B), come lo Zn, presenta i valori più elevati in corrispondenza del territorio provinciale di Napoli (specialmente nei territori di pertinenza dell'ASL NA5 e NA1) e solo subordinatamente nella provincia di Caserta (ASL CE1).

Tumore della Vescica e del Pancreas

La vescica è un organo che accumula le urine provenienti dai reni. Per il tumore della vescica esistono diversi fattori di rischio, come il fumo, l'esposizione per motivi professionali ad agenti tossici, l'assunzione di particolari medicine ed infezioni batteriche.

Il pancreas è una ghiandola che produce insulina e altri enzimi necessari alla digestione. Fattori di rischio sono il fumo, l'esposizione per motivi professionali a solventi industriali e agricoli e l'esposizione a derivati del petrolio. Entrambi questi tumori possono essere connessi a concentrazioni anomale di Pb e Sb. Valori elevati di SMR-REG per entrambi i tumori (Figs. 4A, 4B, 5B), sono localizzati principalmente sul territorio urbano (ASL NA1) e provinciale di Napoli.

Il tumore al pancreas mostra valori elevati di mortalità anche in corrispondenza della provincia di Benevento (ASL BN1).

I maggiori valori di origine antropica di Pb e Sb (Fig. 2C, 2D) sono specialmente concentrati nel territorio urbano della città di Napoli (ASL NA1).

Conclusioni

Le carte dei dati geochimici ed epidemiologici della Regione Campania indicano la pre-

senza corrispondenze spaziali tra le concentrazioni di alcuni metalli tossici e specifiche patologie i cui SMR-REG sono superiore ai valori standard regionali.

Le corrispondenze più evidenti si riscontrano nell'area urbana e provinciale di Napoli dove è stato registrato il maggior numero di decessi per tutte le patologie e dove è anche presente un elevato inquinamento da metalli tossici di origine antropica.

Quest'ultimo fattore è confermato dal fatto che specifiche patologie sono localizzate principalmente nelle aree a maggior urbanizzazione di Napoli (tumori alla trachea, bronchi e polmoni). Nelle aree meno urbanizzate, il numero di decessi è uguale o di molto inferiore alla media regionale.

Per la regione Campania è possibile affermare che, in alcune aree, una buona corrispondenza spaziale esiste tra valori elevati di mortalità ed alcune tipologie di cancro.

Nella fattispecie è stato possibile evidenziare una discreta correlazione tra tumori a bronchi, trachea e polmone e concentrazioni anomale di As, Cd e Pb; tra tumore alla prostata e concentrazioni anomale di Zn e Cd; e tra tumori alla vescica e al pancreas e concentrazioni anomale di Pb e Sb.

Questo studio preliminare, con tutte le limitazioni dell'approccio epidemiologico, seppur non in grado di stabilire e dimostrare una relazione diretta di causa-effetto tra l'inquinamento ambientale e l'insorgenza di patologie tumorali, pone in evidenza che un ambiente compromesso come quello delle aree urbane e provinciali di Napoli ha un effetto fortemente deleterio sulla salute umana.

I risultati riportati in questo studio potrebbero essere presi in debito conto dalle autorità ambientali e sanitarie locali e nazionali, al fine di migliorare la qualità ambientale principalmente nelle aree fortemente urbanizzate della regione Campania.

Referenze

Albanese, S., De Vivo, B., Lima, A. & Cicchella, D. 2007. Geochemical background and baseline values of toxic elements in stream sediments of Campania region (Italy).

Journal of Geochemical Exploration, 93, 21-34.

Assessorato alla Sanità, Area Assistenza Sanitaria. La mortalità a livello comunale in Campania. Sistema di accesso e consultazione dei dati di mortalità per causa di fonte istat nel periodo 1998-2001.

Berger, A.R., 2003. Linking health to geology. In: Skinner, H.C. & Berger, A.R. (eds), geology and health. Closing the gap, Oxford University Press, New York, 5-11.

Bertholf, L. A., 1981. Zinc. Handbook on toxicity of inorganic compounds. Marcel Dekker, New York, 787-800.

Bølviken, B., 1998. Geomedisin. (Geomedicine - in Norwegian with an English summary). In: Aase, A. (Ed.), Geographisk epidemiologi. Norsk Journal of Epidemiology, 8/1, 29-39.

Boyd, J.T. , Doll, R. , Foulds, J.S. & Leiper, J., 1970. Cancer of lung in iron ore (haematite) miners. British Journal of Industrial Medicine, 27, 97-103.

Cicchella, D., De Vivo, B. & Lima, A., 2005. Background and baseline concentration values of elements harmful to human health in the volcanic soils of the metropolitan and provincial areas of Napoli (Italy). Geochemistry: Exploration-Environment-Analysis, 5, 29-40.

Dinse, G.E., Umbach, D.M., Sasco, A.J., Hoel, D.G. & Davis, D.L., 1999. Unexplained increased in cancer incidence in the united states from 1975 to 1994: possible sentinel health indicators? Annual Review of Public Health, 20, 173-209.

De Vivo, B., Boni, M., Marcello, A., Di Bonito, M. & Russo, A., 1997. Baseline geochemical mapping of Sardinia (Italy). Journal Geochemical Exploration, 60, 77-90.

De Vivo, B., Boni, M. & Costabile, S., 2001. Cartografia geochemica ambientale della Sardegna. Carte di intervento per l'uso del territorio. In: De Vivo, B. & Boni, M. (eds), Monografia Memorie Descrittive della Carta Geologica d'Italia. Servizio Geologico Nazionale, LVII, 7-32.

De Vivo, B., Boni, M., Lima, A., Marcello, A., Pretti, S., Costabile, S., Gasparrini, M., la-

- chetta, A. & Tarzia, M., 2006. Cartografia geochimica ambientale e carte di intervento per l'uso del territorio del Foglio Cagliari, Sardegna Meridionale. In: De Vivo, B. (Ed.), *Monografia Memorie Descrittive della Carta Geologica d'Italia*. APAT-Servizio Geologico Nazionale, LXIX, 5-40.
- De Vivo, B., Lima, A., Albanese, S. & Cicchella, D., 2006a. *Atlante geochimico-ambientale della Regione Campania*. Aracne Editrice, Roma. ISBN 88-548-0819-9, 216 pp.
- De Vivo, B., Cicchella, D., Lima, A. & Albanese, S., 2006b. *Atlante geochimico-ambientale dei suoli dell'area urbana e della provincia di Napoli*. Aracne Editrice, Roma. ISBN 88-548-0563-7, 324 pp.
- Field, R.W., Steck, D.J., Smith, B.J., Brus, C.P., Fisher, E.L., Neuberger, J.S., Platz, C.E., Robinson, R.A., Woolson, R.F. & Lynch, C.F., 2000. Residential Radon Gas Exposure and Lung Cancer. The Iowa Radon Lung Cancer Study. *American Journal of Epidemiology*, 151, 1091-1102.
- Goyer, R.A., 1993. Lead toxicity : current concerns. *Environ health perspect*, 100, 177-187.
- HMTRI (Hazardous Materials Training and Research Institute), 1997. *Site Characterization: Sampling and Analysis*. Van Nostrand Reinhold, New York, U.S.A. 336 pp.
- Lima, A., Albanese, S. & Cicchella, D., 2005. Geochemical baselines for the radioelements K, U, and Th in the Campania region, Italy: a comparison of stream-sediment geochemistry and gamma-ray surveys. *Applied Geochemistry*, 20, 611-625.
- Möller, L. (Ed.) 2000. *Environmental Medicine*, Joint industrial Safety Council, 333.
- Montella, M., Bidoli, E., De Marco, M.R., Redivo A. & Francesci, S., 1996. *Atlante della mortalità per tumori nella Regione campania, 1998-92*. Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori, Istituto nazionale tumori, Napoli, 136 pp.
- Peccerillo, A., 2005. *Plio-Quaternary volcanism in Italy*. Springer-Verlag, Berlin, 361 pp.
- Plant, J.A. & Davis, D.L., 2003. Breast and prostate cancer: sources and pathways of endocrine- disrupting chemicals (ECS). In: Skinner, H.C. & Berger, A.R. (eds), *Geology and Health. Closing the gap*, Oxford University Press, New York, 95-98.
- Smith, S.K., 1999. Cadmium. In : Marshall, C.P. & Fairbridge, R.W. (eds), *Encyclopedia of Geochemistry*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 656 pp.

RECENTI SVILUPPI SUL RISCHIO OCCUPAZIONALE DA SILICE: LA SITUAZIONE ITALIANA

RECENT DEVELOPMENTS ON OCCUPATIONAL QUARTZ HAZARD: THE ITALIAN SITUATION

Rosanna Bevilacqua, Mario Cocchioni

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Camerino, Via Madonna delle Carceri, 62032 Camerino (MC).

Abstract

Silica is widely diffused in nature, both amorphous and crystalline: its airborne dusts often occur in workplaces, where are generated and dispersed in air during operations like the cracking, grinding of rocks, sand, etc.. Free crystalline silica (not combined with other chemical elements), like quartz and cristobalite, breathed through inhalation of airborne dust, is the causal agent of silicosis, a preventable fibrogenic lung disease, for which no effective treatment is available. In 1997 IARC (International Agency for Research on Cancer), evaluated as sufficiently evident the carcinogenicity for respirable crystalline silica (quartz and cristobalite). Both toxicity and cellular response depend on the character, origin and state of the particulate silica minerals and their surface properties and on the contamination with other substances that may activate the cancer process. Dust concentrations today, when measured, still show high levels during many industrial activities and expose workers to the risk of silicosis, which is considered only an initial stage of the disease that may evolve into lung cancer and autoimmune pathologies. To eliminate silicosis, the main focus has to be on prevention, that has a long history in the ILO (International Labour Organization) and WHO (World Health Organization): their aim is to promote the advancement of National programs for the Elimination of Silicosis to reduce its incidence by 2015, and have it as a public health problem eliminated by 2030. The only way to prevent the negative health effects of silica is to limit

air diffusion of dust and its inhalation, reducing air concentration of respirable dust. In 2006 the American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) fixed 0,025 mg/m³ of quartz in respirable dust as the TLV – TWA for crystalline silica, while the European Union still recommends 0,05 mg/m³. In countries like the US and in Europe, where appropriate measures have been taken, the incidence of silicosis has decreased dramatically, nevertheless in many developing countries silicosis is widely spread. Data from the Italian Workers' Compensation Authority show a decline in silicosis occurrence since the early 1970s. In the last five years, almost 500 hundred new cases of silicosis have been compensated. The results of analytical surveys on occupational exposure to airborne respirable silica dust both in the Marche region and throughout Italy, conducted among workmen in factories using air sampling instruments, show a great variety of occupational exposure levels; high concentrations of airborne silica dust and a high occurrence and incidence of silicosis were observed in some provinces in central and northern Italy, specialized in industrial productions such as mining, quarrying, stone dressing and cutting, foundries, the ceramic and pottery production and jeweller's art.

Introduzione

L'inquinamento da polveri costituisce un problema sia ambientale, sia occupazionale. Alcune particelle aerodisperse, se inalate, riescono a penetrare negli alveoli polmonari e rappresentano uno dei maggiori pericoli per

la salute negli ambienti di lavoro. La natura chimico-mineralogica delle particelle influenza gli effetti dannosi sull'organismo. Di particolare rilievo sono le patologie causate dall'inhalazione di polveri contenenti silice libera cristallina (d'ora in avanti SLC), che comporta l'insorgenza di varie patologie, polmonari ed extrapolmonari. Il rilevamento e la valutazione del rischio di esposizione alle polveri respirabili di SLC rappresenta un tema attuale e di grande interesse scientifico e sociale a livello mondiale, dato che si tratta di un agente patogeno presente in una grande varietà di prodotti naturali ed artificiali impiegati in molte lavorazioni, con importanti ripercussioni sulla salute di milioni di lavoratori esposti per gli effetti potenzialmente invalidanti, nonché per i suoi possibili effetti cancerogeni: nella letteratura scientifica vanno crescendo le evidenze relative all'associazione tra esposizione a silice, silicosi e tumore polmonare.

Vari gruppi e commissioni tecniche italiane ed estere sono oggi impegnati a vario titolo nell'individuare metodi standard condivisi per le analisi e per il *risk assessment* della SLC aerodispersa da fonti occupazionali.

Recenti sviluppi nella valutazione del rischio di esposizione a silice libera cristallina

Il termine silice libera è riferito alle fasi cristalline e amorfe del biossido di silicio (SiO_2), non combinato con altri elementi per formare composti, ed è proprio dell'igiene industriale per distinguere l'agente patogeno della silicosi dalla silice, risultato del dosaggio analitico del silicio totale inteso come ossido.

La silice è largamente diffusa in natura (circa il 12 % in volume di tutta la crosta terrestre) e polimorfa, presentandosi sia in forma amorfa (opale e vetro vulcanico), sia cristallina, nelle fasi del minerale *quarzo* (α e β) e della sua varietà microcristallina *calcedonio*, della *tridimite* e della *cristobalite* (fasi di alta temperatura), della *coesite* e della *stishovite* (fasi di alta pressione), della *moganite* e della *melanoflogite*. Il quarzo in particolare è considerato sinonimo di SLC, perché ne è la

forma più comune e diffusa, presente in tutti gli ambienti litogenetici. Sia per le varietà cristalline, sia per quelle amorfe, sono stati stabiliti dalla ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*) dei valori limite di esposizione, poiché esiste un rischio nell'impiego di questa sostanze. L'importanza del prelievo della frazione respirabile delle polveri nei monitoraggi ambientali è determinata dalle evidenze scientifiche, che suggeriscono una serie di effetti sanitari negativi da parte delle particelle con dimensioni aerodinamiche al di sotto di 10 micrometri (WHO, 2000). Le ridotte dimensioni delle particelle fanno sì che atomi e ioni si trovino con legami spezzati in alcune direzioni e presentino quindi delle insaturazioni a livello elettrostatico che possono renderli particolarmente reattivi. La tossicità del quarzo a livello cellulare può essere infatti causata o dall'interazione fra il legame idrogeno dei gruppi silanolic (Si-OH), che si trovano sulla superficie della SLC in presenza di acqua, con alcuni componenti cellulari, o attraverso la formazione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) sulla stessa superficie. Eliminando l'acqua con il riscaldamento, i radicali reattivi possono essere eliminati. La presenza di contaminanti può modificare le reazioni a contatto con l'organismo. Gli ioni dei metalli di transizione possono essere molto attivi nel generare radicali liberi una volta a contatto con i fluidi biologici (Tomatis et al., 2002; Martra et al., 2003). Siti radicalici possono inoltre essere presenti sulla superficie di particelle di SLC macinate di fresco, in seguito alla rottura dei legami covalenti tra Si e O conseguente alla macinazione (Fubini e Hubbard, 2003), rendendo le polveri con superfici di rottura fresche più patogene rispetto a quelle con superfici generate da comminazione naturale. Le superfici a frattura fresca sono in grado di catalizzare la formazione di radicali liberi, sia a causa dei radicali di superficie, sia per la contaminazione con ioni di transizione, quali il ferro, che può avvenire nelle fasi di lavorazione della silice come la macinazione, nella quale il quarzo provoca un'abrasione del materiale metallico del

molino. La SLC contaminata con ferro è molto reattiva, mentre è poco reattiva se contaminata con alluminio o se le particelle sono ricoperte di argilla. L'attività biologica della SLC, inalata in particelle respirabili, è responsabile della silicosi, una nota patologia incurabile del polmone ed una delle prime malattie professionali riconosciute, dalle gravi conseguenze invalidanti; il rischio di contrarre la fibrosi polmonare cresce con l'aumentare della quantità di polveri inalate. La prevenzione della silicosi ha una lunga storia presso l'Organizzazione Internazionale del Lavoro (ILO) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), ma a dispetto di tutti gli sforzi per prevenirla, persiste ancora a livello mondiale, interessando decine di milioni di lavoratori. Dove la prevenzione ha avuto successo, il tasso di incidenza è diminuito ed il trend negativo è evidente in molti Paesi industrializzati; alcuni studi mostrano però che fino al 30 - 50 % dei lavoratori in industria nei Paesi in via di sviluppo potrebbero essere affetti da silicosi e per loro esiste un rischio maggiore di ammalarsi di tubercolosi. La silicosi polmonare è considerata ormai una malattia sistemica generalizzata che, originatasi nel polmone, spesso interessa altri organi e apparati, alterando la risposta immunitaria e aumentando la suscettibilità alle infezioni polmonari, in particolare alla tubercolosi: la silicotubercolosi è un problema comune in molti Paesi in via di sviluppo. Secondo le indicazioni dell'ILO, l'obiettivo della eradicazione della silicosi deve essere posto con forza anche in tali Paesi, perché ivi, come conseguenza della globalizzazione, tendono a concentrarsi oggi le situazioni a maggior rischio per l'esposizione a SLC. Nel 1995, il WHO e l'ILO hanno quindi avviato una campagna per eliminare la silicosi a livello mondiale: lo scopo del programma è di promuovere l'avanzamento di Programmi Nazionali per ridurre drasticamente l'incidenza entro il 2015 ed eliminare tale problema di salute pubblica entro il 2030. L'esposizione a polveri di SLC respirabile può determinare anche cancro al polmone e malattie autoimmuni: nel 1997 la International

Agency for Research on Cancer (IARC) addiviene alla decisione di valutare la SLC, inalata sottoforma di quarzo o cristobalite da fonti occupazionali, come cancerogeno certo per l'uomo (gruppo 1 degli agenti cancerogeni). Da allora è iniziato un periodo di rinnovato interesse scientifico e di attenzione alla prevenzione nei riguardi della SLC: malgrado una vasta mole di ricerche, il meccanismo molecolare di azione è ancora parzialmente oscuro ed è stata riscontrata una grande variabilità nel suo potenziale patogeno, che varia non solo da un polimorfo cristallino all'altro, ma anche tra polveri del medesimo polimorfo, cioè da una sorgente all'altra di polvere di silice (Fubini et al., 2006). La IARC nel 1997 aveva sottolineato che la cancerogenicità della SLC non era stata rilevata in tutte le realtà industriali esaminate (miniere di minerali metalliferi, cave e lavorazioni del granito ed altri lapidei, produzione di ceramica, sanitari, terraglia e mattoni refrattari, fonderie) e che ciò poteva essere dovuto alle caratteristiche specifiche della silice impiegata nei processi produttivi o da fattori esterni in grado di modificare l'attività biologica o la distribuzione dei suoi polimorfi. Una questione che rimane aperta è se l'eccesso di rischio di neoplasie polmonari sia presente solo tra i silicotici o se invece coinvolga tutti i lavoratori esposti a SLC (Checkoway, 2000), cioè se sia la SLC stessa ad esercitare un'azione cancerogena diretta o se la cancerogenesi sia necessariamente mediata dalla silicosi. L'associazione tra SLC e tumore polmonare è in genere più forte tra i silicotici che tra i non silicotici (Smith, 1995; Steenland, 1997; Kurihara, 2004), non è chiaro però se ciò sia causato dalla patologia silicotica o se sia dovuto al fatto che i livelli di esposizione a SLC nei silicotici sono in genere più alti di quelli degli altri lavoratori. Nel complesso, gli studi epidemiologici prodotti dal 1997 ad oggi rafforzano l'evidenza che la SLC abbia proprietà cancerogene, mentre l'associazione silicosi - tumore polmonare è supportata da evidenze ancora maggiori. Secondo Saffiotti (2006), l'induzione del cancro polmonare da parte della SLC è chiaramente

te provata sia con epidemiologia umana che con saggi a lunga durata su animali e con trasformazione neoplastica di cellule in cultura, tuttavia non vi sono dati che consentano di stabilire una soglia al di sotto della quale cessi il suo effetto cancerogeno.

Le evidenze osservate non permettono di identificare le tipologie professionali ed i settori industriali ove si verificherebbero condizioni di esposizione a SLC che non rappresentano un rischio cancerogeno per i lavoratori, a causa delle caratteristiche specifiche della silice impiegata nei processi produttivi o da fattori esterni in grado di modificare l'attività biologica o la distribuzione dei suoi polimorfi. L'Organizzazione Mondiale della Sanità nel 2000 ha specificato che non si può assumere che vi sia una soglia di effetto, ovvero una concentrazione tollerabile alla SLC, alla quale l'esposizione non comporti l'insorgenza di silicosi e/o di tumori polmonari, pertanto l'esposizione deve essere ridotta al minimo possibile. Appare quindi necessaria la completa eradicazione del rischio silicotigeno, tramite un maggior controllo delle esposizioni lavorative, per ottenere le più basse tecnicamente possibili. Il primo passo nel ridurre il rischio cancerogeno deve essere quindi la prevenzione: diminuendo il più possibile i livelli di esposizione, così da prevenire l'insorgenza della pneumoconiosi, si proteggono i lavoratori anche dal possibile sviluppo di neoplasie polmonari. L'unico modo per prevenire gli effetti sulla salute della SLC è individuare le attività lavorative che producono i particolati nocivi, eliminando o limitando la dispersione delle polveri e la loro inalazione e ciò può essere attuato attraverso indagini ambientali che comportino la determinazione della concentrazione della frazione respirabile di SLC nelle polveri aerodisperse. Nel tempo sono stati messi a punto campionatori e sistemi di monitoraggio della concentrazione di polveri di SLC nei luoghi di lavoro, mediante cattura su filtri della frazione respirabile tramite selettori; i metodi più accreditati prevedono l'utilizzo di campionatori personali con successiva analisi gravimetrica e caratterizzazione quali-quantitativa del-

le polveri raccolte (mediante DRX o FTIR). I campioni prelevati nella zona respiratoria con dispositivi personali, cioè applicati al corpo dei lavoratori, permettono di ottenere misure rappresentative dell'esposizione, che è influenzata da vari fattori: tipo di lavorazione, durata, frequenza, materie prime impiegate, sistemi di controllo/abbattimento degli agenti inquinanti. Occorre pertanto acquisire preventivamente dati sui processi produttivi da monitorare, al fine di avere una conoscenza preliminare delle materie prime impiegate e delle tecnologie utilizzate. I livelli di esposizione rilevati possono essere confrontati con i valori limite di esposizione, per la valutazione dell'esistenza di condizioni di rischio silicotigeno. In Italia attualmente non è in vigore un limite di legge per l'esposizione a polveri di SLC, pertanto occorre riferirsi ai valori raccomandati dalla comunità scientifica internazionale, che negli ultimi quarant'anni sono diminuiti numerose volte. Nel 2006 l'ACGIH, i cui valori limite di esposizione costituiscono attualmente i riferimenti più accreditati, ha ulteriormente ridotto il limite di esposizione per la polvere respirabile di quarzo e cristobalite, fissandolo a 0,025 mg/mc; si tratta di un "TLV-TWA", cioè un valore medio ponderato nel tempo per una giornata lavorativa di otto ore e per quaranta ore settimanali alla quale quasi tutti i lavoratori possono essere esposti, giorno dopo giorno, senza effetti negativi. Tale riduzione del valore limite di soglia ha reso necessario migliorare gli interventi di prevenzione, ma anche le prestazioni dei metodi di analisi, per ottenere misure dell'inquinamento da polveri di SLC che siano affette da un'incertezza accettabile.

La Commissione Europea, basandosi anche sull'autorevole parere dell'europeo SCOEL (*Scientific Committee on Occupational Exposure Limits*), non ha ritenuto di procedere a classificare la SLC come cancerogeno per l'uomo e attualmente non esiste un limite di esposizione a livello europeo, anche se lo SCOEL raccomanda un *Occupational Exposure Limit* (OEL) di 0,05 mg/mc per le polveri respirabili di quarzo e cristobalite. La ridu-

zione nel tempo dei livelli di concentrazione ammissibile nei luoghi di lavoro ha prodotto risultati molto positivi negli ultimi decenni, con riduzione della polverosità totale e con una evidente riduzione dei casi di silicosi, tuttavia ciò non deve comportare una riduzione del livello di attenzione allo specifico rischio professionale, in quanto lo stesso è ancora ampiamente presente.

La necessità di eradicare anche le forme più lievi di silicosi sollecita l'avvio di un processo tendente a migliorare ulteriormente, anche nei Paesi di vecchia industrializzazione, gli standard igienici per la protezione dei lavoratori: tale strategia potrebbe risultare efficace anche per il controllo degli effetti cancerogeni descritti, in particolare, tra i lavoratori affetti da silicosi. La tendenza attuale è di prevenirli non solo mediante il rispetto dei valori limite di esposizione, ma anche attraverso l'integrazione del monitoraggio dell'esposizione con l'adozione di buone pratiche di comportamento sul lavoro e con la sorveglianza sanitaria. Questi sono infatti i punti cardine del primo Accordo multi settore sulla protezione della salute dei lavoratori firmato a livello europeo da tutti i partner sociali, sotto l'egida della Commissione Europea, di cui la silice cristallina è stata protagonista nel 2006 e che vedrà impegnato il NEPSI (*Network Europeo per la Silice*) nei prossimi cinque anni.

Il rischio silicotigeno in Italia

Dall'analisi della letteratura tecnico-scientifica (in gran parte di fonte INAIL) riguardante i risultati di monitoraggi ambientali effettuati nell'ultimo decennio nelle realtà produttive italiane, relativi ai livelli di esposizione dei lavoratori a polveri aerodisperse di SLC, risulta che in Italia il rischio silicotigeno è presente più che altro nelle regioni centro-settentrionali: è segnalato con varia intensità, per alcune mansioni, nelle fonderie, nella produzione ceramica, nella produzione di laterizi, nell'estrazione e lavorazione di lapidei, nelle vetrerie e in oreficeria (comparto della microfusione a cera persa), nello scavo di gallerie e nelle costruzioni. Anche nelle Marche, a seguito di indagini ambientali, sono emerse situazioni di rischio silicotigeno di varia entità per alcune mansioni nelle fonderie di metalli ferrosi, nella sabbiatura di tessuti con sabbia silicea, nella produzione ceramica, di laterizi, di cemento e calcestruzzo, nella lavorazione di lapidei, di inerti, nell'esecuzione di gallerie stradali. L'analisi di dati epidemiologici mostra che la silicosi in Italia è una patologia prevalentemente maschile, legata alle attività industriali, la cui incidenza si è andata riducendo dagli anni '70, grazie all'adozione di interventi di prevenzione, ma anche per la progressiva deindustrializzazione del Paese, che ha visto raddoppiato il numero di occupati nel settore terziario, a scapito dei

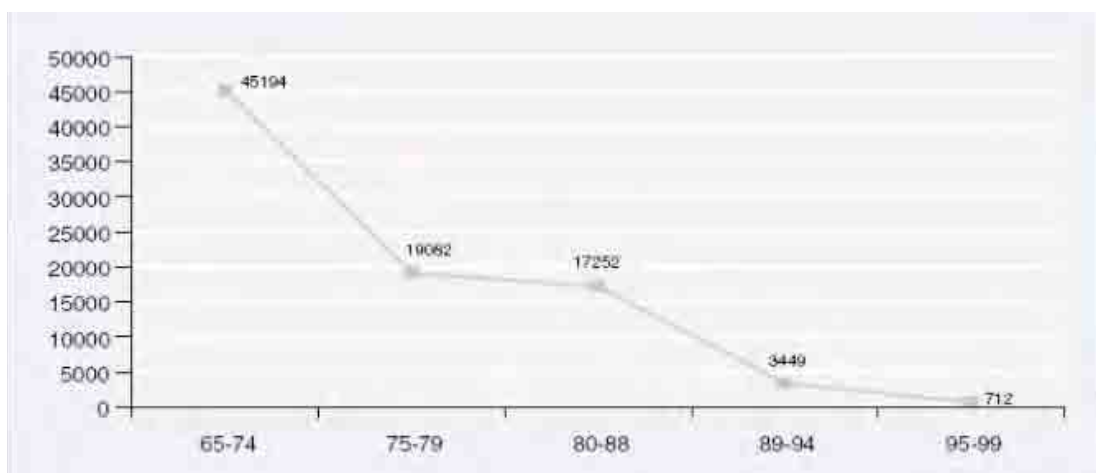


Figura 1. Serie storica dei casi riconosciuti di silicosi polmonare in Italia nella seconda metà del Novecento (da INAIL, 2000).

ANDAMENTO DELLA SILICOSI IN ITALIA ANNI 2001-2006 (in rosso i casi mortali)

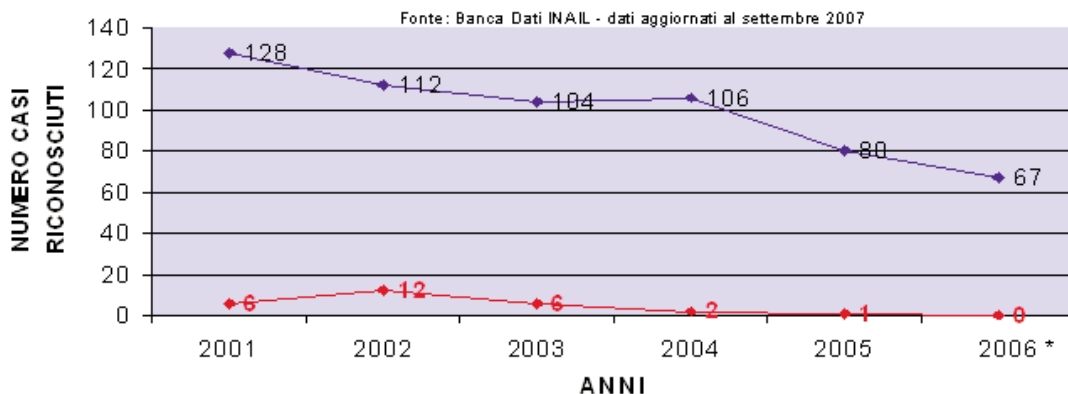


Figura 2. Andamento dei casi di silicosi riconosciuti in Italia nel periodo 2001-2006.

settori agricolo ed industriale. Il maggior numero di riconoscimenti per la silicosi da parte dell'INAIL si ebbe nel decennio 1965-1974, con 45.194 casi in dieci anni; ci fu poi una marcata flessione sino alla drastica riduzione nel periodo 1995-99, con un totale di 712 casi. L'incidenza della silicosi rispetto al complesso delle tecnopatie, quindi, è scesa da circa il 60 %, rilevato nel decennio fino al 1974, a poco più del 4 % dell'ultimo quinquennio del XX secolo. L'andamento è stato caratterizzato da un trend negativo a partire dalla metà degli anni '60. Agli inizi degli anni '70 si ammalava di silicosi ogni anno in media 1 italiano ogni 12.500 abitanti, mentre oggi è 1 italiano su 600.000 a contrarre ogni anno la patologia silicotica. La figura 2 mostra i casi di silicosi riconosciuti in Italia nel periodo 2001-2006: è stata elaborata sulla base dei dati ricavati dalla Banca Dati INAIL nel settembre 2007 (aggiornati ai casi definiti al 30 aprile 2007). E' ancora evidente il trend negativo dei casi riconosciuti, con diminuzione progressiva degli stessi e dei casi mortali: in totale sono stati riconosciuti 597 casi in sei anni (2001-2006) di cui 551 relativi a soggetti di sesso maschile e 27 mortali (26 maschi). Si tratta quindi di una tecnopatia prevalentemente maschile (92 % dei casi), la cui incidenza negli ultimi anni si va at-

testando intorno a 1,2 % delle tecnopatie complessivamente riconosciute in Italia, interessando in media meno di un lavoratore su 200.000 ogni anno. I casi si sono verificati esclusivamente nella gestione Industria e servizi, che raggruppa il settore dell'industria, dei servizi e l'artigianato, ma risulta che le aziende nelle quali è stata contratta la tecnopatia sono a carattere artigianale solo nel 13 % dei casi. Di seguito sono riportati i risultati di elaborazioni basate su dati tratti dalle Banche Dati INAIL e ISPESL disponibili sul web, aggiornati al settembre 2007, riferiti alla base territoriale. Sono stati ricavati due indicatori statistici: il numero assoluto di eventi osservati (casi di silicosi riconosciuti dall'Istituto Assicuratore) nel quinquennio 2002-2006 e il tasso grezzo di incidenza della silicosi sul totale dei lavoratori addetti all'Industria e servizi nell'anno 2004, mediano del periodo in esame. La regione col maggior numero di eventi in assoluto è la Lombardia, seguita dal Piemonte e dalla Toscana (oltre 60 casi riconosciuti nel periodo 2002-2006). In una fascia intermedia si collocano nell'ordine Liguria, Sardegna e Lazio con oltre 40 casi. In Piemonte ed in Lombardia, nel periodo 2002-2006, si è avuto il maggior numero di morti per silicosi, con la Sardegna che si colloca al terzo posto (figura 3).

Casi mortali di silicosi nelle province italiane (2002-2006)



Figura 3. Casi mortali di silicosi nelle province italiane.

Se si considera l'incidenza della silicosi sul totale degli occupati in industria, si nota che la Sardegna è la regione con la massima incidenza, seguita dalla Liguria. Entrambe le regioni presentano un tasso molto superiore alla media nazionale.

La silicosi oggi è una tecnopatia che interessa soprattutto il centro e il nord d'Italia essendo legata alle attività industriali, maggiormente sviluppate in tali aree. In particolare in sette regioni su venti (nell'ordine Lombardia, Piemonte, Toscana, Liguria, Sardegna, Lazio e Veneto), nel quinquennio 2002-2006 sono stati registrati nuovi casi di silicosi in numero superiore alla media nazionale (pari a 23), essendo stati riconosciuti 314 casi su un totale di 469. Ciò significa che nel 35 % delle regioni italiane si concentra il 67 % dei casi di silicosi e ben il 76 % dei casi mortali nell'ultimo quinquennio. Nelle regioni prima dette, e cioè proprio in quelle centro-settentrionali del versante occidentale, si evidenziano anche le province in cui si concentrano in prevalenza gli eventi morbosi osservati ed i casi mortali riconosciuti.

In definitiva, nel quinquennio in esame, in Italia hanno contratto la silicosi in media poco meno di tre lavoratori su 100.000 addetti all'Industria e servizi. Sardegna, Liguria, Piemonte e Toscana sono le regioni in cui sono

stati registrati sia un numero elevato di eventi morbosi, sia un'elevata incidenza della silicosi fra gli addetti all'industria.

Considerando il numero assoluto di eventi osservati, si nota che in 16 province italiane (cioè nel 15 % del totale), si concentra oltre il 64 % dei casi di silicosi riconosciuti in Italia nell'ultimo quinquennio ed il 67 % dei casi mortali riconosciuti (fig. 4).

Per quanto riguarda l'incidenza della patologia fra gli addetti all'Industria (fig. 5), in 21 province su 103 tale indicatore statistico è oltre il doppio della media nazionale.

Confrontando i risultati fra i due indicatori, si nota che nove province in particolare hanno registrato, nel quinquennio in esame, sia un gran numero di eventi osservati (pari o superiore a 10) sia un'elevata incidenza fra gli occupati in industria (pari o superiore a 10): Viterbo, Sondrio, Arezzo, Verbania, Sassari, Cagliari, Savona, Genova e Pisa, che risultano, in base a tali indicatori, le prime 9 province italiane per il rischio silicotigeno.

L'analisi spaziale della distribuzione dei casi di silicosi riconosciuti dall'INAIL nel quinquennio 2002-2006, evidenzia pertanto degli eccessi statisticamente significativi dei due indicatori statistici calcolati (numero assoluto

Casi di silicosi dal 2002 al 2006 nelle province italiane

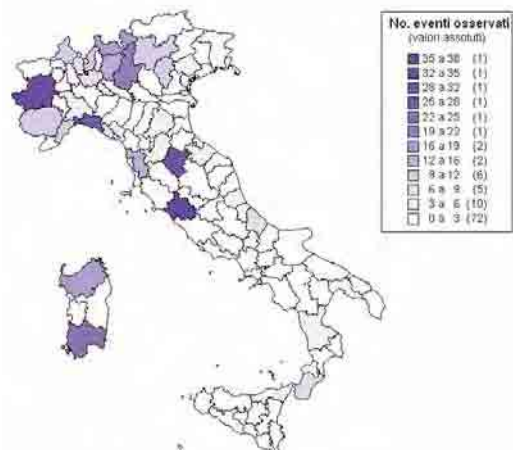


Figura 4. Casi di silicosi dal 2002 al 2006 nelle province.

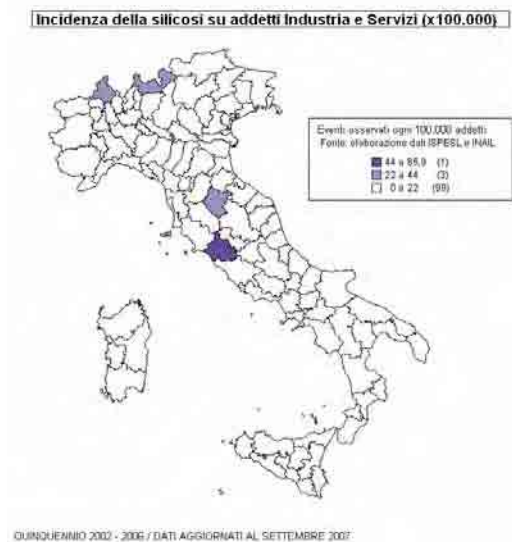


Figura 5. Incidenza della silicosi su addetti Industria e servizi (x 100.000).

di eventi osservati e tasso grezzo di incidenza della silicosi sul totale degli addetti all'industria e servizi) in alcuni precisi *clusters* territoriali. Viterbo è la provincia italiana in cui sono stati registrati sia il maggior numero di eventi osservati sia la maggiore incidenza di casi di silicosi fra gli addetti all'industria e servizi. In tale provincia, infatti, nel quinquennio 2002-2006, hanno contratto la silicosi quasi 66 lavoratori ogni 100.000 addetti all'industria, con un'incidenza della tecnopatia che è quasi 25 volte la media nazionale e che si distacca enormemente da quella di tutte le altre province italiane. Un quadro di massima che emerge dal confronto dei dati epidemiologici con i dati relativi alle misure di esposizione professionale a SLC respirabile, reperibili in letteratura, è sintetizzato nella figura 6, in cui sono riportati i settori produttivi prevalenti (presumibilmente) per il rischio silicotigeno nelle nove province prima dette.

Conclusioni

La silicosi, forse la più antica malattia professionale, continua ad essere anche oggi una delle più frequenti e gravi tecnopatie a livello mondiale, soprattutto nei Paesi in via di sviluppo. Anche in Italia i lavoratori corrono un serio rischio di contrarre la tecnopatia che



Figura 6. Gravità del rischio e specializzazione produttiva.

erroneamente molti considerano "in via d'estinzione": sono infatti le misure di prevenzione adottate per l'abbattimento delle polveri ad influenzare in modo determinante le condizioni di inquinamento nell'ambiente di lavoro. Lo studio effettuato intende fornire una base per la definizione di priorità e informazioni per una pianificazione e programmazione sanitaria, con la concertazione e la collaborazione tra istituzioni ed imprese. Una riduzione dei casi di silicosi nelle province ove è massima l'occorrenza e l'incidenza della tecnopatia, grazie ad adeguate misure di prevenzione e campagne mirate di vigilanza e sensibilizzazione volte alla riduzione del rischio silicotigeno nei comparti produttivi interessati, potrebbe comportare una significativa riduzione dei casi di silicosi che si registrano complessivamente in Italia e dei costi umani e socio-economici per il Paese. Un piano nazionale strategico di prevenzione basato sull'applicazione di buone pratiche, sul monitoraggio delle esposizioni e sulla sorveglianza sanitaria nei comparti produttivi che presentano situazioni di rischio, potrebbe condurre ad una significativa riduzione dell'incidenza della pneumoconiosi in Italia, in accordo col programma ILO/WHO che mira alla sua drastica riduzione entro il 2015 ed all'eradicazione della tecnopatia a livello mondiale entro il 2030.

Referenze

- (ACGIH) American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2007. Threshold limit values for chemical substances and physical agents – biological exposure indices. Cincinnati (OH).
- Bevilacqua, R., Compagnoni, R., 2005. Esposizione e rischi legati al quarzo: esperienze nella regione Marche e novità introdotte dal Network Italiano Silice. Atti del seminario regionale “Il rischio chimico occupazionale nelle Marche”, Abbazia di Fiastra, Tolentino, 20 dicembre 2005, Ed. INAIL, 47-69.
- Carnevale, F., Baldasseroni, A., 2005. A long-lasting pandemic: diseases caused by dust containing silica: Italy within the international context. *Med. Lav.* 96 (2), 169-76.
- Casciani, G., Ripanucci, G., Verdel, U., 1992. La silice libera in natura e nei prodotti artificiali. Guida al riconoscimento di alcune fonti di rischio di malattie professionali, Ed. INAIL, Milano, 111-214.
- Centers for Disease Control and Prevention, 2005. Silicosis Mortality, Prevention, and Control - United States, 1968-2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 54(16), 401-405.
- Checkoway, H., Franzblau, A., 2000. Is silicosis required for silica-associated lung cancer?. *Am. J. Ind. Med.*, 37 (3), 252-9.
- Di Prospero, P., Carnevale, F., Gaiani, W., Castellet y Ballarà, G., 2006. Considerazioni in tema di normativa. Silice Libera Cristallina nei Luoghi di Lavoro, Regione Toscana, Servizio Sanitario della Toscana, 47-63.
- Fubini, B., 2006. Risultati della sperimentazione in tema di cancerogenesi della SLC. Silice Libera Cristallina nei Luoghi di Lavoro, Regione Toscana, Servizio Sanitario della Toscana, 25-28.
- Fubini, B., Fenoglio I., 2001. Questioni aperte sulla cancerogenesi da quarzo dopo il giudizio della IARC: ruolo della chimica di superficie nella variabilità del rischio da silice cristallina. Atti del Seminario di studio “Patologie da silice: silicosi, cancro ed altre malattie”, Trento, 8 maggio 2001, 1-6.
- Fubini, B., Fenoglio, I., Chiazza, M., 2006. Aspetti chimici nelle patogenesi da silice. Rapporto annuale regionale 2005 INAIL Piemonte, 96-112.
- Fubini, B., Fenoglio, I., Tomatis, M., 2005. Effetti sulla salute dell'esposizione a polveri minerali. Atti 1° Seminario Nazionale di Studio “Geologia & salute – fattori geologico-ambientali e salute negli esseri viventi”, Pesaro, 7 maggio 2005.
- Fubini, B., Hubbard, A., 2003. Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. *Free Radical in Biology and Medicine*, 34, 1507-1516.
- Galloway, E., 2007. Elimination of Silicosis in the Americas, *GOHNET Newsletter of World Health Organization*, Issue no.12, 10-12.
- IARC, 1997. Silica, some silicates, coal dust and para-amid fibrils. International Agency for Research on Cancer, Monographs on evaluation of carcinogenic risk to humans, vol. 68, Lyon.
- INAIL, 2000. Rapporto Annuale 1999.
- Kurihara, N., Wada, O., 2004. Silicosis and smoking strongly increase lung cancer risk in silica exposed workers. *Ind. Health*, 42, 303-14.
- Martra, G., Tomatis, M., Fenoglio, I., Coluccia, S., Fubini, B., 2003. Ascorbic acid modifies the surface of asbestos: possibile implications in the molecular mechanism of toxicity. *Chemical Research and Toxicology*, 16, 328-335.
- NEPSI, 2006. Accordo sulla protezione dei lavoratori attraverso la corretta manipolazione ed utilizzo della silice cristallina e dei prodotti che la contengono. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea*, 17.11.2006.
- Network Italiano Silice/Coordinamento Regioni – Ispesl – ISS - Inail, 2005. Linee guida nell'esposizione professionale a silice libera cristallina, - documenti preparatori. Edizioni Regione Toscana, pp. 120.
- Rice, F.L., 2007. Silica-Related Diseases: It's not just silicosis. *GOHNET Newsletter of World Health Organization*, Issue no.12, 6-7.
- Ripanucci, G., 1992. Guida metodologica per l'accertamento del rischio di silicosi. INAIL, Milano, 1-52.
- Rovati, C., Comotti, C., 2001. La silice come

immunomodulatore e causa di malattie autoaggressive. Atti del Seminario di studio "Patologie da silice: silicosi, cancro ed altre malattie", Trento, 8 maggio 2001, 27-40.

Saffiotti, U., 2006. Silice cristallina e cancro polmonare. Silice Libera Cristallina nei Luoghi di Lavoro, Regione Toscana, Servizio Sanitario della Toscana, 205-215.

SCOEL/SUM/94-final, 2002. Recommendation from Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Silica, Cristalline (respirable dust). pp.7.

Smith, A.H., Lopipero, P.A., Barroga, V.R., 2006. Meta-analysis of studies of lung cancer among silicotics, *Epidemiol.*, 6. 617-24.

Steenland, K., Stayner, L., 1997. Silica, asbestos man-made mineral fibers, and cancer. *Cancer Causes Control*, 8, 491-503.

Tomatis, M., Prandi, L., Bodoardo, S., Fubini, B., 2002. Loss of surface reactivity upon heating amphibole asbestos. *Langmuir*, 18, 4345-4350.

Valentino, M., Amati, M., Santarelli, L., Governina, M., 2003. Risposte biologiche con diverse forme polimorfe di silice. *G. Ital. Med. Lav. Erg.*, 25 (3), 382-383.

WHO-CICAD, 2000. Crystalline silica, quartz. Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) n. 24, Ginevra, Svizzera, World Health Organization.

SIMULAZIONE DEL TRASPORTO IN FALDA DI METALLI PESANTI E SOLFATI NELL'AREA DEL DEPOSITO DI CENERI DELLA CENTRALE TERMO-ELETTRICA "NIKOLA TESLA B" (OBRENOVAC, SERBIA)

SIMULATION OF HEAVY METAL AND SULPHATE TRANSPORT IN GROUNDWATER FROM THE FLY-ASH DEPOSIT IN THE AREA OF THE "NIKOLA TESLA B" THERMO-POWERPLANT, (OBRENOVAC, SERBIA)

Giancarlo Ciotoli¹, Monica Moroni², Zora S. Žunić³, Igor Čeliković³,
Salvatore Lombardi¹

¹Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", P.le A. Moro 5, 00185 Roma. E-mail: giancarlo.ciotoli@uniroma1.it

²Dipartimento di Idraulica, Trasporti e Strade, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Via Eudossiana 18, 00184 Roma

³VINČA Institute of Nuclear Sciences, Belgrade

Abstract

The seepage of solutes from industrial waste disposals is of important environmental concern; examples include seepage from fly-ash deposits derived from coal burning power plants. The dominant mechanisms under study in these sites are the physical movement of solutes and their chemical behavior in groundwater. The investigation of transport mechanisms provides useful information for both groundwater protection and remediation. In particular, dispersion, diffusion, recharge to the aquifer, interaction with surface water bodies and chemical reactions as well as radioactive decay, should be taken into account to obtain reliable prediction on transport of radionuclides and of inorganic pollutants.

During coal combustion, the organic component becomes oxidized, while inorganic components mostly remain in the ashes. The multiplicity of inorganic constituents that may form is influenced by biological, hydrological and geochemical factors and their association forms govern their behavior and their impact. Of particular concern is the presence of metals in groundwater and soils which poses a significant threat to the health of human and ecological systems. The environmental impact of ashes is due to the leaching of mi-

croelements (including heavy metals such as Pb, Cr, Cd, Co, Cu, Zn, As, V), but also to major cations (Ca) and anions (SO₄) by atmospheric and surface waters. The chemical form assumed by the metal contaminant will influence its solubility, mobility, and toxicity in ground-water systems.

This work presents 3D reactive and non-reactive transport models of contaminants in groundwaters with MODFLOW and MT3D codes. Simulations have employed literature and field data collected in the area of the "Nikola Tesla B" thermo-power plant (TENT B) (Obrenovac, Serbia) in the framework of INTAILRISK CE project framework. The flow model solves the 3D partial differential flow equation by using a finite differences method while the transport model was built by solving the 3D Advection-Dispersion Equation.

The TENT B area is located on the bank of the Sava river, near the Obrenovac village, about 40 km upstream from Belgrade (Serbia & Montenegro). This plant is producing about 4.5x10⁹ kg of coal-ash per year. Ash is transported to the dump after being suspended in water taken from the Sava river (approximate ratio 1:10). The dump of the power plant "Nikola Tesla B" has an area of about 6 km².

The primary environmental concern associa-

ted with this disposal site is the potential groundwater contamination. Hydrochemical data of groundwater from field surveys highlights high mineralization (i.e. 1200 mg/l) and a high content of SO_4^{2-} (up to 450 mg/l) and Cl^- (up to 70 mg/l) contributing to the hypothesis of a potential pollution from the fly ash deposit.

In order to build the model, geological, hydrogeological and hydrochemical data from wells located both in the source area (fly ash deposit) and in the surrounding agricultural land were employed, as well as mineral springs located at the boundary of a fluvial terrace about 2 km south. In particular, the transport model was implemented by using reactive, soluble sulphates, as well as heavy metals as contaminants. The main goals of the study were: (i) to model groundwater flow in the TENT B area; (ii) to build a conceptual model describing transport of heavy metals within the groundwater assuming precipitation and adsorption reactions; (iii) to understand the impact of soluble compounds (sulphates) derived from fly ashes on the quality of groundwater assuming retardation due to the interaction with the soil.

Introduzione

La presenza di inquinanti nelle acque sotterranee può essere originata da sorgenti di contaminazione regionali, come ad esempio suoli agricoli, oppure da sorgenti locali come le discariche. All'interno degli acquiferi la migrazione dei contaminanti è influenzata da diversi meccanismi di trasporto, quali l'avvezione, la dispersione meccanica, la diffusione molecolare e, nel caso di inquinanti reattivi, da reazioni fisico-chimiche che possono causare variazioni tra le diverse fasi (solida e liquida) o trasformazioni chimiche da una specie all'altra. In particolare, la variazione di concentrazione dei contaminanti inorganici è causata principalmente dai meccanismi di adsorbimento, precipitazione, ossidazione e riduzione. Sulla base di questi presupposti, la simulazione del comportamento delle sostanze contaminanti nelle acque del sottosuolo dipende dalla corretta modellazione

degli effetti causati da ognuno di questi meccanismi. L'efficacia della modellazione di tali processi rappresenta quindi una misura della conoscenza dell'intero sistema. La prima fase del processo di modellazione ha l'obiettivo di produrre il modello concettuale del sito di studio, mentre la fase successiva prevede la messa a punto del modello matematico che implementato in appropriati software, consente di risolvere, in tutti i punti del dominio di interesse, le equazioni che governano il moto e il trasporto all'interno degli acquiferi.

Le problematiche associate allo stoccaggio delle ceneri di combustione ed alle sue conseguenze sono abbastanza conosciute nella letteratura internazionale. I depositi di ceneri sono abbastanza comuni per la relativa facilità di smaltimento di tali materiali originati dagli impianti termoelettrici a carbone. Nel processo di combustione la componente organica del carbone viene ossidata, mentre i composti inorganici sopravvivono nelle ceneri subendo l'influenza di fattori biologici, idrologici e geochimici; inoltre, le diverse forme di associazione di tali composti governano sia il loro comportamento che il loro impatto tecnologico ed ambientale. Il sito di stoccaggio è, inoltre, soggetto agli agenti atmosferici che possono causare la migrazione di ioni dal suolo alle acque del sottosuolo. L'impatto ambientale delle ceneri di combustione è principalmente originato dal rilascio ad opera degli agenti atmosferici e delle acque superficiali di microelementi (tra i quali i metalli pesanti come Pb, Cr, Cd, Co, Cu, Zn, As, V), ma anche alcuni cationi (Ca) e anioni (SO_4), e la speciazione influenza la loro solubilità, mobilità e tossicità. La presenza di inquinanti metallici nel suolo nelle acque del sottosuolo costituisce un grande rischio per la salute umana e per quella dei sistemi ecologici grazie all'estrema immobilità di questi elementi, quale risultato di reazioni di precipitazione e adsorbimento.

I principali meccanismi che agiscono nei siti di stoccaggio di ceneri di combustione sono il movimento del soluto ed il suo comportamento chimico nelle acque del sottosuolo. Lo

studio del trasporto nelle acque del sottosuolo di tali elementi e/o composti può fornire informazioni molto importanti sia per la protezione degli acquiferi e sia per il risanamento dei siti di stoccaggio delle ceneri. In particolare, al fine di ottenere un modello attendibile sulla previsione del trasporto dei contaminanti inorganici è necessario considerare la dispersione, la diffusione, la ricarica dell'acquifero e le reazioni chimiche, nonché il decadimento radioattivo.

Questo lavoro presenta i risultati relativi alla modellazione del trasporto in un acquifero superficiale di contaminanti reattivi e non reattivi attraverso l'utilizzo dei codici di calcolo MODFLOW e MT3D. Le simulazioni sono state effettuate considerando sia dati di letteratura che osservazioni dirette raccolte nell'area dove è situata la centrale termoelettrica "Nikola Tesla B" (TENT B) (Obrenovac, Serbia); il lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto CE INTAILRISK.

L'area della centrale TENT B è situata sulla sponda destra del fiume Sava nei pressi della cittadina di Obrenovac a circa 40 km da Belgrado (Serbia & Montenegro). La centrale produce circa 4.5×10^9 kg di cenere all'anno. Le ceneri sono miscelate con acqua in rapporto circa 1:10 e, attraverso una condotta di grande diametro, raggiungono un deposito a cielo aperto di circa 6 km² situato a circa 3-4 km dalla centrale.

L'impatto principale sull'ambiente riguarda principalmente la contaminazione delle acque superficiali e del sottosuolo a causa del rilascio di microelementi (tra cui metalli pesanti altamente pericolosi come Cr e Ni), ma anche cationi ed anioni maggiori (Polic et al., 1998; 1999). Per quanto riguarda le associazioni tra elementi in traccia, Ni e Cr sono particolarmente associati agli allumino-silicati magnesiaci, laddove Cu, As e Pb sono legati agli allumino-silicati sia di calcio che di magnesio (Popovic et al. 1998). Gli ossidi di Fe e Mn sembrano essere dominanti in presenza di un substrato arricchito in Cr e Ni (Polic et al. 1999, Popovic et al., 2000; 2001).

I dati idrochimici relativi ai campioni di acqua prelevati sia dai pozzi di controllo intorno al

deposito sia da pozzi per uso agricolo indicano un'acqua molto mineralizzata (i.e. 1200 mg/l) con un elevato contenuto in SO_4^{2-} (fino a 450 mg/l) e Cl^- (fino a 70 mg/l), tali valori contribuiscono a confermare l'ipotesi di inquinamento dell'acquifero superficiale da parte di acque di infiltrazione che hanno origine dal deposito di smaltimento delle ceneri. Al fine di costruire un modello preliminare coerente, la conoscenza delle condizioni al contorno è stata completata con la raccolta di informazioni geologiche, idrogeologiche e idrochimiche ottenute mediante due campagne di ricerca condotte nel 2005 e nel 2006. In particolare, il modello di trasporto è stato implementato considerando la presenza di componenti reattive e solubili come i solfati, e alcuni metalli pesanti. L'obiettivo principale è: (i) la modellazione del flusso idrico sotterraneo superficiale nell'area della centrale TENT B; (ii) l'elaborazione di un modello concettuale che descriva il trasporto in falda di metalli pesanti assumendo reazioni di precipitazione e adsorbimento; (iii) lo studio dell'impatto di un composto solubile (solfati) derivato dalle ceneri di combustione sulla qualità delle acque assumendo un coefficiente di ritardo causato dall'interazione con il suolo.

Inquadramento geologico e idrogeologico dell'area

La centrale termo-elettrica "Nikola Tesla B" è stata costruita a circa 15 km dalla cittadina di Obrenovac sui sedimenti quaternari argilloso-sabbiosi del terrazzo fluviale recente del fiume Sava che ricoprono una serie sedimentaria costituita da argille a matrice carbonatica e sabbie del Pliocene Inferiore (Pontiano) (Fig. 1). La serie sedimentaria è concordante e non presenta elementi tettonici riconoscibili in situ. L'unica struttura tettonica (con direzione E-NE) presente è stata riconosciuta mediante l'analisi di foto aeree e da satellite, ed è localizzata a sud della centrale tra i villaggi di Dren e Grabovac in corrispondenza della rottura di pendio originata dalla presenza di un terrazzo fluviale di ordine superiore.

Il profilo geologico e idrogeologico dell'area



Figura 1. Schema geologico semplificato dell'area della centrale TENT B area. Nel settore meridionale dell'area investigate, lungo la scarpata del terrazzo fluviale superiore, tra i villaggi di Dren e Grabovac si osservano alcune sorgenti mineralizzate alcune delle quali con risalita di gas. Legenda: 1. Sedimenti argilloso-siltosi del terrazzo fluviale inferiore; 2. Sedimenti sabbioso-ghiaiosi del terrazzo fluviale superiore.).

di Obrenovac mostra la presenza di un acquifero principale ghiaioso-sabbioso situato tra due formazioni impermeabili, quella superficiale costituita da sedimenti alluvionali argillosi, e quella più profonda costituita da marne argillose del Miocene (Fig. 2). Le informazioni ottenute dallo studio della stratigrafia di alcuni pozzi (fino a circa 30 m) perforati nell'area del villaggio di Dren (settore sud-occidentale dell'area investigata) indicano che i sedimenti argillosi sono dominanti fino ad una profondità di circa 23 m, mentre al di sotto sono presenti sedimenti sabbiosi a matrice quarzosa sede dell'acquifero superficiale con uno spessore che varia tra i 5-6 m.

La superficie piezometrica mostra una tendenza del flusso idrico sotterraneo in direzione NW verso il fiume Sava e nella piana alluvionale, nei pressi dei villaggi di Usce, Ske-

la, Grabovac, Ratari, la falda è molto più vicina alla superficie (0-4 m) rispetto all'area del terrazzo superiore (settore meridionale). La falda mostra caratteristiche di un acquifero confinato per la presenza di uno strato argilloso superficiale di 3-4 m di spessore, che tuttavia localmente può essere assente e dare quindi carattere di un acquifero freatico. La presenza dello strato argilloso nell'area del terrazzo fluviale inferiore produce uno scorrimento delle acque superficiali molto complesso con la formazione di numerose zone con pozze di acqua stagnante. Al contrario, nei periodi estivi, l'argilla superficiale presenta numerose fratture di disseccamento permettendo l'infiltrazione di una certa quantità d'acqua all'inizio del periodo più piovoso. Nei pressi dell'alveo del fiume Sava, il regime idrico sotterraneo è strettamente legato al regime del fiume stesso che causa oscillazioni del livello di falda maggiori che nel settore meridionale dell'area investigata. La composizione chimica delle acque sotterranee nei pressi dei villaggi di Usce, Skela, Grabovac e Ratari è tipica di acque molto mineralizzate (1.14 g/l) con un elevato contenuto in SO_4^{2-} (fino a 450 mg/l), mentre la mineralizzazione delle acque sotterranee nei pressi del fiume Sava scende a 0.72-0.83 g/l rendendo plausibile l'ipotesi di un apporto salino proveniente dal deposito di ceneri della centrale.

L'elaborazione del modello di flusso

Lo studio delle acque sotterranee prevede il controllo dei diversi aspetti legati al flusso idrico nel sottosuolo e alla distribuzione dei soluti, tali informazioni sono necessarie sia per la buona conoscenza del sito sia per gli eventuali aspetti decisionali (Fetter, 2001). Il campo di moto ed il trasporto di un inquinante passivo all'interno di una falda possono essere determinati mediante la costruzione di un modello, concettuale prima e matematico poi, capace di schematizzare il problema ai suoi soli tratti essenziali, senza per questo perdere le caratteristiche di rappresentatività e verosimiglianza con la realtà. Il modello può essere utilizzato come comple-

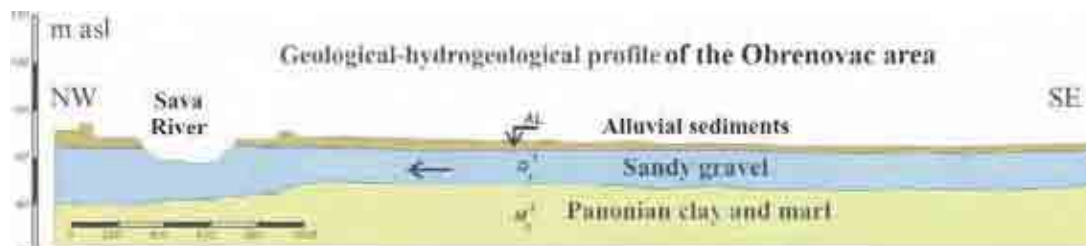


Figura 2. Profilo geologico-idrogeologico dell'area di Obrenovac. La freccia indica la direzione del flusso idrico sotterraneo verso il fiume Sava (Fig.1).

mento alle indagini di monitoraggio per la valutazione e la previsione del movimento delle acque sotterranee e del trasporto di soluti negli acquiferi. Mediante l'adozione di un modello matematico è possibile, con l'ausilio di strumenti numerici sviluppati in appropriati software, risolvere, in tutti i punti del dominio di interesse, le equazioni che governano il moto e il trasporto all'interno degli acquiferi. Naturalmente le caratteristiche geologiche del sottosuolo per le quali non può esistere una legge matematica che le rappresenti, quali ad esempio la stratigrafia, andranno ricostruite per interpolazione in tutto il dominio a partire da sondaggi puntuali.

Il processo di costruzione di un modello numerico prevede le seguenti fasi:

1. Raccolta ed interpretazione i dati

La qualità dei risultati forniti dal modello dipende soprattutto dalla validità del modello fisico e dalla natura dei dati di input; minore influenza hanno invece il codice numerico, la discretizzazione e il tempo scelto per la simulazione. Generalmente, i dati sperimentali non forniscono direttamente i parametri richiesti (i.e. la trasmissività o la ricarica) e queste grandezze devono essere estrapolate a partire dai dati di ingresso.

2. Comprensione del sistema naturale

Il sito analizzato deve essere correttamente caratterizzato dal punto di vista della geologia, dell'idrogeologia e delle condizioni al contorno. Si ha la necessità di conoscere sondaggi verticali che consentano la ricostruzione della stratigrafia in sezioni appartenenti all'area oggetto di studio. All'aumentare del numero di sondaggi e della profondità degli stessi aumenta il grado di conoscenza

della stratigrafia del sistema naturale. Di notevole importanza è anche l'ubicazione dei sondaggi dovendo gli stessi essere rappresentativi dell'intera zona esaminata.

3. Costruzione del modello concettuale

Questa fase consiste nel definire i confini del dominio di studio e la loro geometria, nell'individuare il regime di flusso e le formazioni geologiche con le stesse caratteristiche idrogeologiche e nel rappresentare tutti gli elementi naturali o antropici che si comportano come ricariche o perdite di portata nei confronti della falda.

4. Scelta del modello numerico

I metodi numerici applicabili sono diversi; tra questi si ricordano i metodi agli elementi finiti, in cui il dominio viene diviso in un numero finito di elementi di forma regolare, solitamente rettangoli o triangoli, oppure i metodi alle differenze finite, che si basano sulla sovrapposizione di un reticolo al dominio analizzato e sul considerare l'equazione da risolvere scritta su ogni nodo del reticolo stesso. Le derivate parziali che compaiono nell'equazione vengono approssimate con formule di derivazione numerica.

In ogni modello la scelta dello spazio e del tempo di discretizzazione controlla l'accuratezza dei risultati.

5. Calibrazione e validazione del modello

La fase di calibrazione e validazione del modello è necessaria per superare la mancanza di dati, ma anche per verificare le ipotesi alla base della semplificazione del sistema naturale. Durante la calibrazione i valori simulati dal modello, come la superficie piezometrica o le concentrazioni, vengono confrontati con valori misurati all'interno del do-

minio dello stesso. I parametri di ingresso del modello sono sottoposti a variazioni fino a quando i valori simulati ed osservati coincidono nel rispetto di una tolleranza prestabilita. La variazione può avvenire sia manualmente che automaticamente.

Nella validazione si confronta generalmente il modello con dati non utilizzati nella fase di calibrazione. Questa procedura è adottata quando le condizioni simulate differiscono significativamente da quelle usate nella calibrazione. Se il modello calibrato non riproduce accuratamente i dati di validazione, lo stesso deve essere nuovamente calibrato servendosi di entrambe le serie di dati.

6. Applicazione del modello

L'applicazione del modello è la fase principale della modellazione di un sistema di acque sotterranee perché consiste nell'esecuzione del modello stesso che porta al conseguimento della soluzione cercata. La Figura 3 mostra il diagramma di flusso caratteristico della modellazione.

7. Presentazione dei risultati

I risultati restituiti dai modelli numerici sono numeri, come per esempio altezze idrauliche in punti discreti del dominio in un dato tempo. Questi risultati vengono generalmente resi più facilmente e velocemente comprensibili anche a chi non conosce perfettamente il software utilizzato tramite presentazione grafica degli stessi in due o tre dimensioni. Nel caso in esame, il modello è stato costruito utilizzando il software MODFLOW insieme al codice MT3D. MODFLOW risolve l'equazione 3D del campo di moto alle derivate parziali utilizzando il metodo delle differenze finite:

$$\frac{\partial}{\partial x_i} \left(K_{ij} \frac{\partial h}{\partial x_j} \right) = S_s \frac{\partial h}{\partial t} + Q$$

dove:

S_s : coefficiente di immagazzinamento specifico

h : altezza piezometrica

K_{ij} : conducibilità idraulica

Q : pozzi e sorgenti esterne

i, j : direzioni principali 1, 2, 3

Il modello numerico implementato in Visual MODFLOW prevede:

- la discretizzazione orizzontale del dominio utilizzando griglie quadrate o rettangolari; la soluzione viene assegnata al nodo posto al centro di ciascuna cella;
- la scelta del numero di strato;
- la scelta del tipo di simulazione (in regime stazionario o transitorio) e delle condizioni iniziali;
- l'assegnazione dei parametri idrogeologici per ciascuna cella: conducibilità idraulica, porosità, coefficiente di immagazzinamento;
- l'assegnazione delle condizioni al contorno (i.e. altezza assegnata: $h = \text{cost}$; portata assegnata: $q = \text{cost}$ da utilizzare per i pozzi di pompaggio, ricarica, celle inattive per le quali si ha assenza di campo di moto; flusso variabile: flusso dipendente dall'altezza piezometrica nella cella).
- la calibrazione del modello attraverso la procedura di stima dei parametri (PEST) (Fig. 4)

Il software MT3D risolve l'equazione 3D di trasporto e dispersione:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{(1-n)}{n} \rho_s \frac{\partial c_a}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial x_i} (v_i c) + \frac{\partial}{\partial x_i} \left(D_{ij} \frac{\partial c}{\partial x_j} \right) - \lambda c - \sum Q_{cin}$$

1 2 3 4 5

dove:

c è la concentrazione al tempo t

c_0 è la concentrazione al tempo 0 (concentrazione iniziale o alla sorgente)

λ è la costante di reazione che caratterizza il decadimento

ρ_s è la densità della matrice solida

n è la porosità totale

c_a è la concentrazione dell'inquinante adsorbito

v_i è la componente della velocità nella direzione i

D_{ij} è la componente ij del tensore del coefficiente di dispersione

c_{in} è la concentrazione del pozzo o sorgente esterna

I vari termini nell'equazione indicano:

1. adsorbimento
2. trasporto

- 3. dispersione
- 4. decadimento
- 5. ricarica o estrazioni

MT3D utilizza i risultati di Modflow per il calcolo dei termini di trasporto e dispersione. I parametri di input richiesti sono: i coefficienti di dispersione in direzione orizzontale e verticale, la distribuzione iniziale della concentrazione e le condizioni al contorno (presenza di sorgenti a concentrazione nota o di celle inattive).

Il modello concettuale

I risultati ottenuti dalle analisi chimiche dei campioni d'acqua e dalle misure di piezometria effettuate in alcuni pozzi di controllo intorno al deposito e in altri pozzi ad uso agricolo presenti nell'area di studio sono stati utilizzati per definire le condizioni iniziali del modello. Inoltre, i parametri relativi all'adsorbimento e allo scambio ionico per le specie chimiche considerate (metalli pesanti e ioni principali) sono stati derivati sia da dati di letteratura che da informazioni specifiche in situ. Per poter valutare l'esistenza di un fenomeno di inquinamento originato dalla presenza del deposito di ceneri di combustione, il modello di trasporto è stato costruito utilizzando le seguenti informazioni:

Tabella 1. Parametri del modello.

Parametri	Valore
Strati (N)	1
Conducibilità idraulica orizzontale	$K_h = 86,4 \text{ m/s}$
Conducibilità idraulica Verticale	$K_v = 1/10 K_h = 8,64 \text{ m/s}$
Ricarica	Assenza di ricarica naturale
Altezza idraulica iniziale	72 m slm
Fiume Sava e il terrazzo Fluviale	Limite di altezza idraulica assegnata

- la concentrazione dei solfati disciolti nei campioni d'acqua prelevati (laddove questa è superiore al limite USEPA per le acque potabili pari a 250 mg/L), considerati come indicatori sensibili di contaminazione e come contaminanti reattivi con differenti coefficienti di ritardo, k_d , (compreso $k_d=0$, caratteristico di un contaminante passivo)
- la concentrazione di metalli pesanti per i quali sono stati considerate differenti coefficienti di ritardo (k_d) e il coefficiente di ossidoriduzione (k).

Il modello concettuale dell'acquifero è stato costruito considerando un acquifero monostrato confinato tra due formazioni argillose che fungono da "aquiclude". Il dominio è sta-

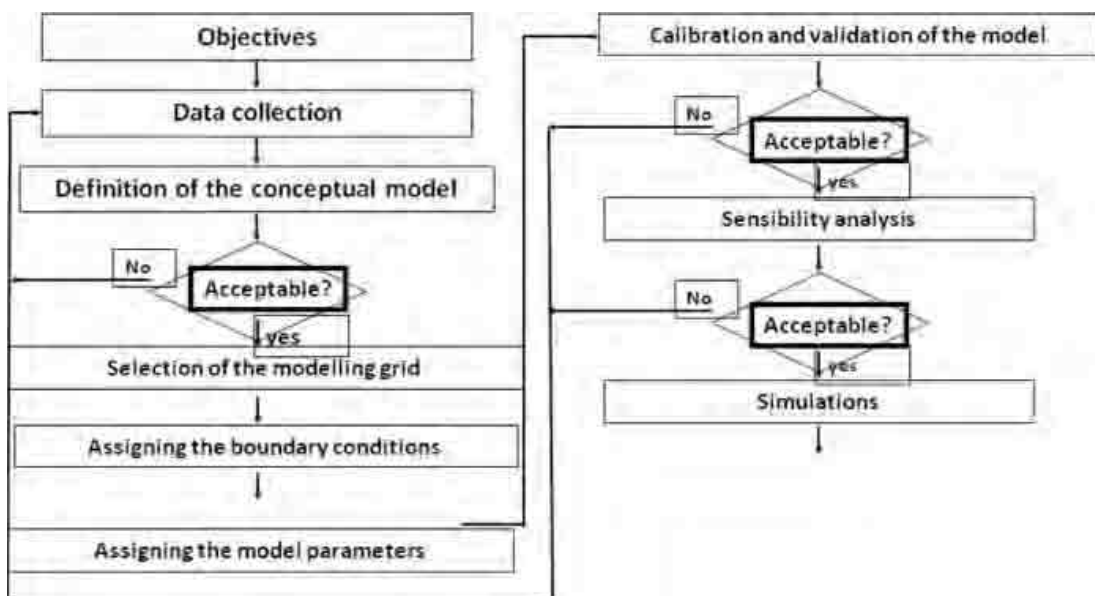


Figura 3. Diagramma di flusso dell'approccio seguito per la costruzione del modello idrogeologico.

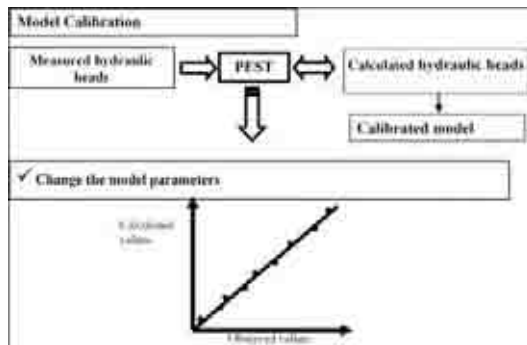


Figura 4. Diagramma di flusso relative alla calibrazione del modello.

to discretizzato mediante una griglia di 100 x 100 m (122 righe e 93 colonne) ed al modello sono state assegnate le seguenti condizioni al contorno:

- altezza piezometrica assegnata in corrispondenza del fiume Sava e della scarpata che separa i due terrazzi fluviali;
- due zone di flusso “nullo” localizzate lungo i bordi orientale e occidentale dell’area di studio, l’acquifero non è ricaricato da un flus-

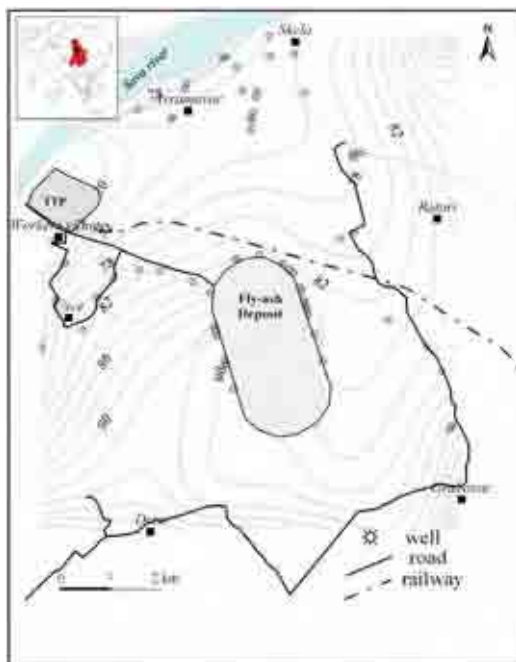


Figura 5. Superficie piezometrica calcolata utilizzando le misure del livello di falda misurate in alcuni pozzi presenti nell’area di studio; le misure sono state effettuate in pozzi con simile profondità del foro onde evitare l’intercettazione di altri acquiferi.

so proveniente da queste zone.

La conducibilità idraulica orizzontale (K_h) è stata posta uguale a $86.4 \text{ m/d} = 0.1 \text{ cm/s}$, mentre quella verticale (K_v) è un ordine di grandezza inferiore. La porosità efficace è del 15%. La tabella 1 riassume i principali parametri del modello.

La maggior parte dei pozzi da cui sono state tratte le informazioni di piezometria e chimismo sono localizzati nell’area del deposito e nei villaggi in vicinanza della centrale (Fig. 5). Tutti i pozzi campionati intercettano l’acquifero superficiale e sono stati utilizzati per calibrare il modello idrogeologico. La figura 5 mostra, inoltre, la mappa ad isolinee del livello piezometrico della falda superficiale nell’area della centrale. Come si può notare, ed in accordo con le informazioni idrogeologiche di letteratura, la falda mostra un andamento del flusso in direzione NNW verso il fiume Sava. Il grafico relativo alla calibrazione del modello idrogeologico mostra una discreta corrispondenza tra le altezze idrauliche osservate e quelle calcolate dal modello (Fig. 6).

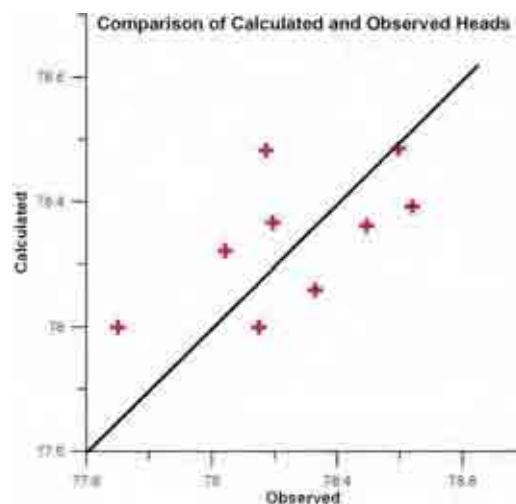


Figure 6. Il grafico tra le altezze piezometriche osservate vs le altezze piezometriche calcolate mostra una discreta calibrazione del modello di flusso utilizzato.

Modello di trasporto

Considerando l’estensione del deposito di smaltimento delle ceneri (6 km^2), l’interazio-

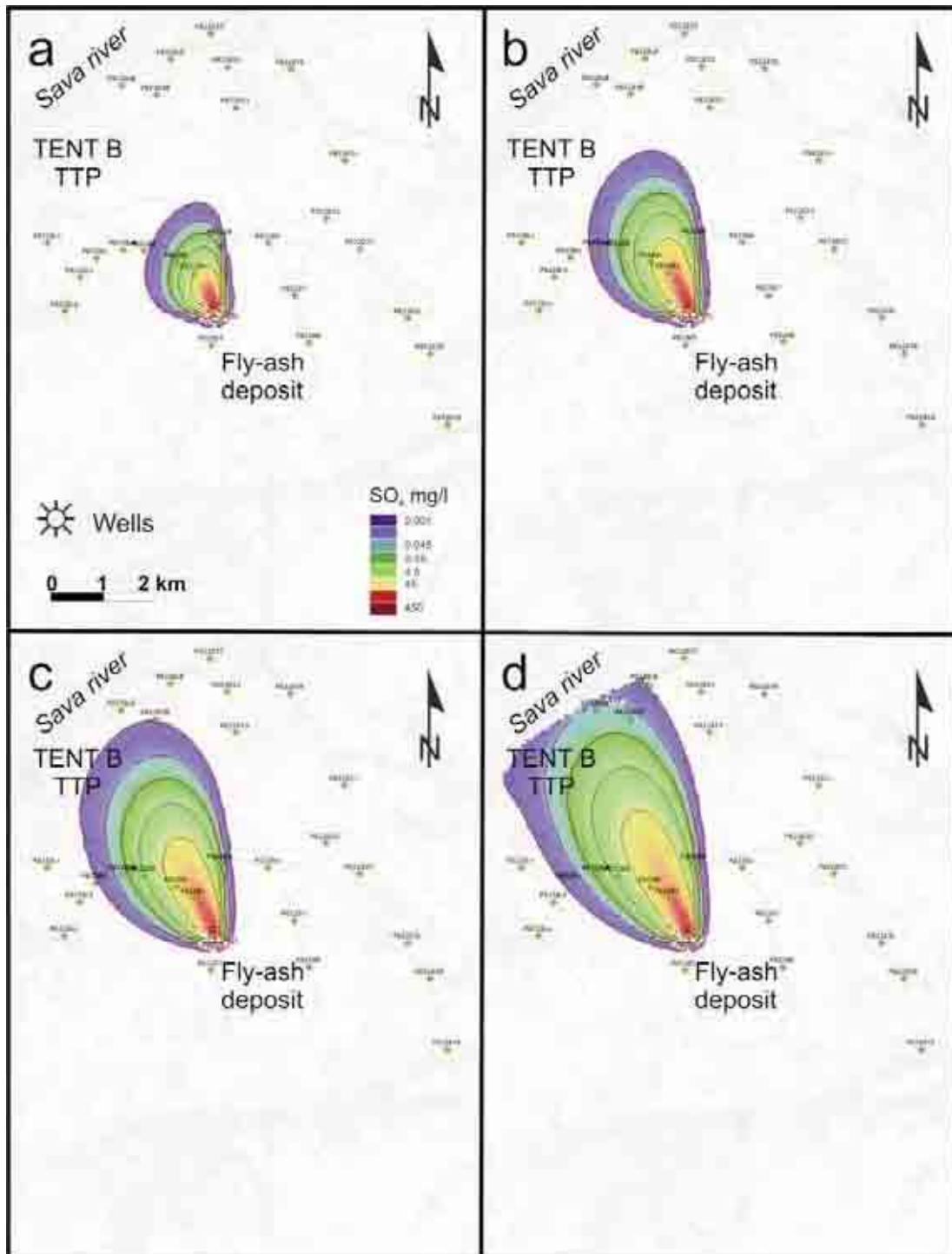


Figura 7. Simulazione del trasporto di solfati nell'acquifero superficiale considerati come contaminanti passivi $K_d = 0$ ml/g. Mappe ad isolinee di concentrazione per simulazioni a: a) 1 anno, b) 2 anni, c) 3 anni e d) 4 anni.

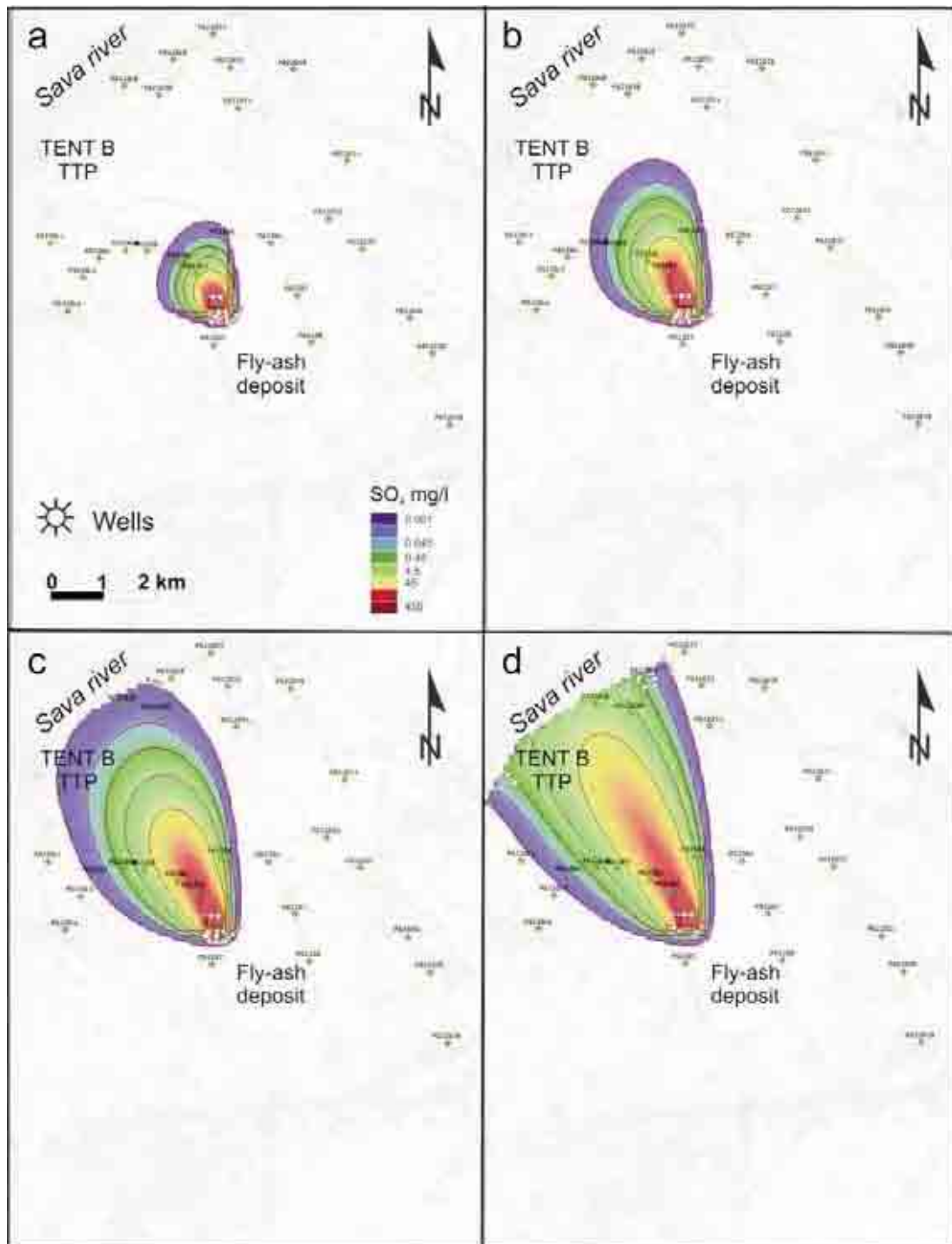


Figura 8. Simulazione del trasporto di solfati nell'acquifero superficiale considerati come contaminanti reattivi $K_{d1} = 0.2$ ml/g. Mappe ad isolinee di concentrazione per simulazioni a: a) 2 anni, b) 6 anni, c) 12 anni e d) 20 anni.

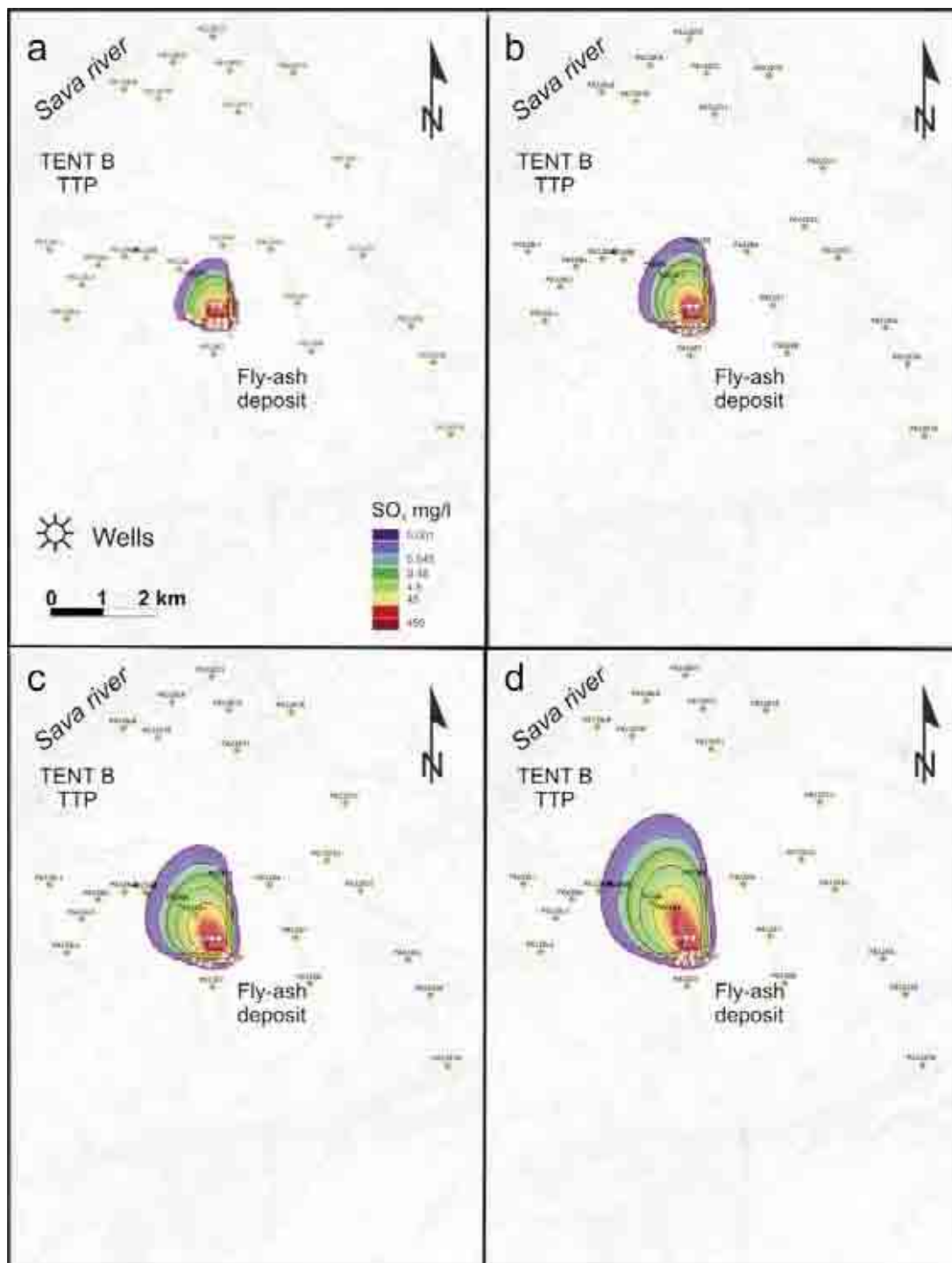


Figura 9. Simulazione del trasporto di solfati nell'acquifero superficiale considerati come contaminanti reattivi $K_{d2} = 1.0$ ml/g. Mappe ad isolinee di concentrazione per simulazioni a: a) 2 anni, b) 6 anni, c) 12 anni e d) 20 anni.

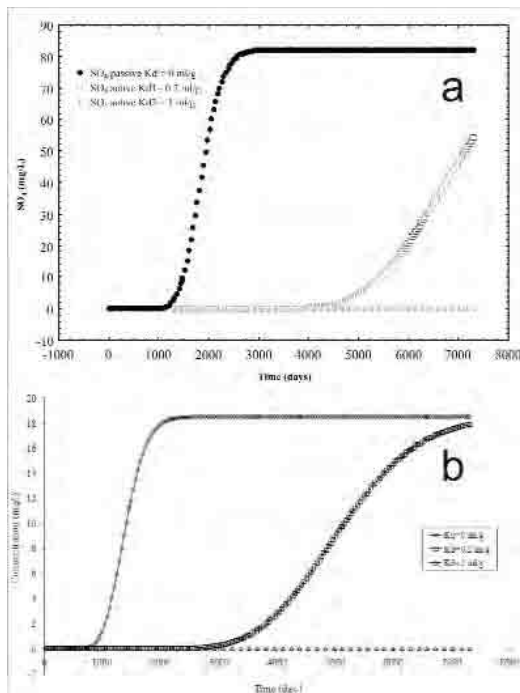


Figura 10. Curve di "breakthrough" relative alla simulazione per i solfati. Le curve sono state calcolate utilizzando due pozzi di controllo localizzati nella mappa di figura 5.

ne con la falda può considerarsi come il meccanismo più probabile di contaminazione dell'acquifero. La concentrazione di diversi composti (come i solfati e i metalli pesanti) misurata nei pozzi di controllo intorno al deposito è stata scelta come concentrazione iniziale alla sorgente. Le acque prelevate da tali pozzi sono arricchite in SO_4^{2-} (da 300 a 500 mg/L) e alcuni metalli pesanti (Cd fino a 70 $\mu\text{g/l}$, Cu 60 $\mu\text{g/l}$, Cr 90 $\mu\text{g/l}$, Ni 80 $\mu\text{g/l}$ e Co 50 $\mu\text{g/l}$). Per la modellazione del trasporto dei metalli pesanti sono stati utilizzati un coefficiente di dispersione di 3 m (Spitz and Moreno, 1996) e un coefficiente di diffusione molecolare uguale a 0. All'area di deposito è stata, inoltre, assegnata quale condizione al contorno una concentrazione costante.

I solfati con una concentrazione alla sorgente pari a 450 mg/l = 0.45 kg/m³ sono stati considerati come contaminanti reattivi (cioè, composti solubili con differenti coefficienti di ritardo) con un coefficiente di ritardo pari a $R=1+\rho_b / n^* K_d$, dove ρ_b è la densità, n^* è la

porosità e K_d il coefficiente di ripartizione. Poiché nella letteratura nazionale ed internazionale non sono stati trovati valori attendibili di K_d , la simulazione è stata condotta utilizzando diversi valori del K_d , 0 ml/g (contaminante passivo), 0.2 ml/g (K_{d1}) e 1 ml/g (K_{d2}), con una densità $\rho_b = 2000 \text{ kg/m}^3$.

Le mappe riportate nelle figure 7, 8 e 9 mostrano i risultati della simulazione relative ai solfati considerando i tre casi corrispondenti ad un contaminante passivo $K_d = 0 \text{ ml/g}$ e a un contaminante reattivo con coefficienti di ritardo pari a K_{d1} e K_{d2} ; la simulazione è stata condotta per tempi pari a 4 e 20 anni.

Le curve di "breakthrough" calcolate utilizzando un pozzo di osservazione mostrano come le concentrazioni nel "plume" di inquinante variano lungo la direzione della piezometrica dall'area della sorgente come evidenziato nelle mappe ad isolinee (Fig. 10).

La simulazione del trasporto di alcuni metalli pesanti è stata effettuata utilizzando diversi K_d , per il Cd $K_d = 0.17 \text{ ml/g}$, per il Cr K_d con valore molto basso e per il Cu $K_d = 0$, e un coefficiente di ossido-riduzione $k = 3.2 \cdot 10^{-5} \text{ 1/ora}$. Il cromo è stato simulato come contaminante passivo assegnando a K_d un valore molto basso, in questo modo è stato considerato lo scenario peggiore. La concentrazione alla sorgente è stata posta pari a 0.09 ppm = 0.09 mg/l. Il trasporto per il cadmio è stato simulato utilizzando un valore di concentrazione alla sorgente pari a 0.07 ppm = 0.07 mg/l, mentre per il rame un valore pari a 0.06 ppm = 0.06 mg/l. Le mappe ad isolinee di concentrazione riportate nelle figure 11 e 12 mostrano i risultati della simulazione.

Conclusioni

L'elaborazione del modello idrogeologico e del trasporto nell'area della centrale termoelettrica "Nikola Tesla B" è congruente con le ipotesi fatte sulla base dei risultati ottenuti da un campionamento dei gas del suolo e delle acque del sottosuolo. In particolare, i risultati della simulazione sono compatibili con:

1. la presenza di elevate concentrazioni di solfati provenienti dalla lisciviazione delle ce-

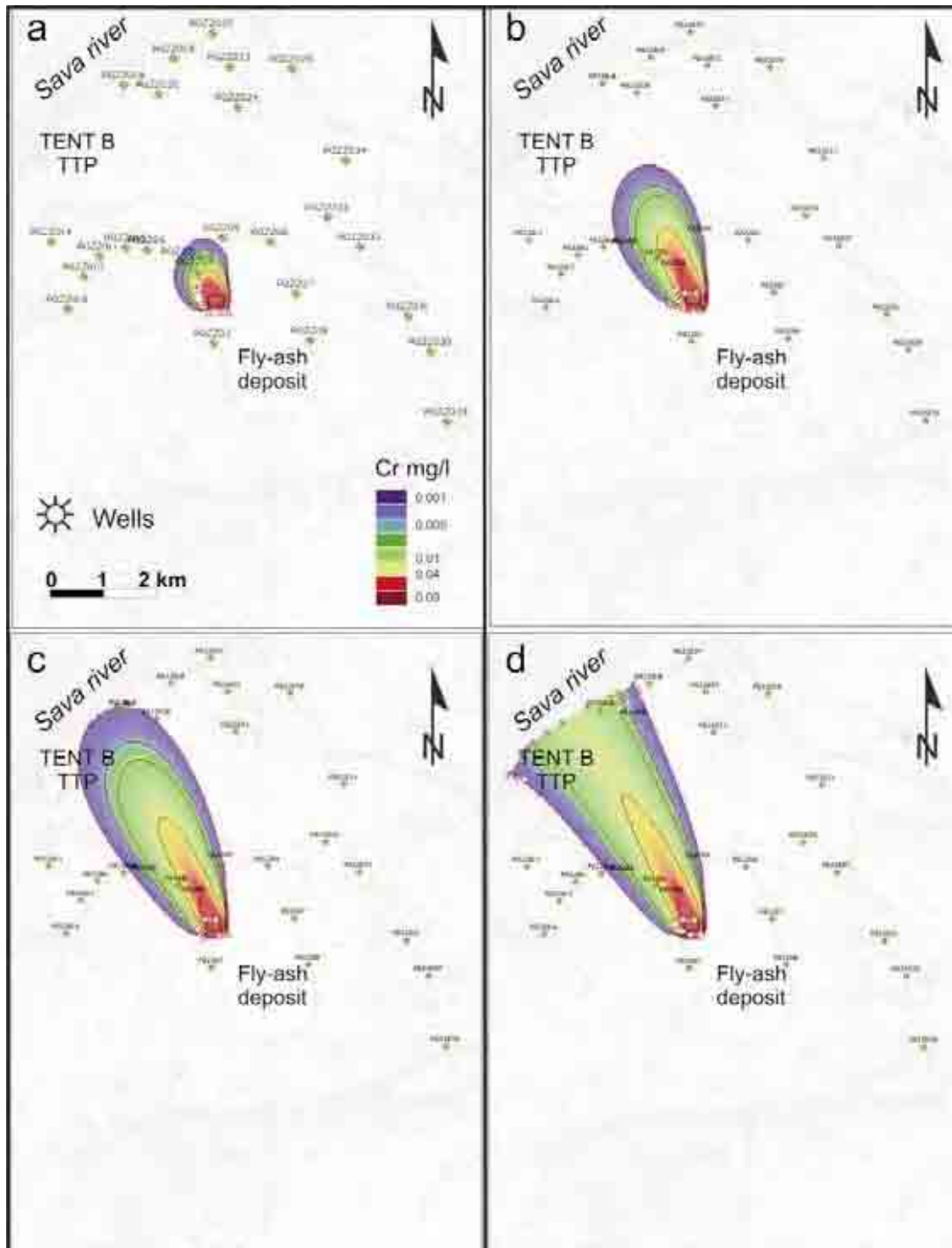


Figura 11. Mappe di simulazione relative al trasporto del Cr considerando un K_d molto basso e un coefficiente di ossido-riduzione, $k = 3.2 \cdot 10^{-5}$ 1/ora. Con questi parametri è stato considerato lo scenario peggiore.

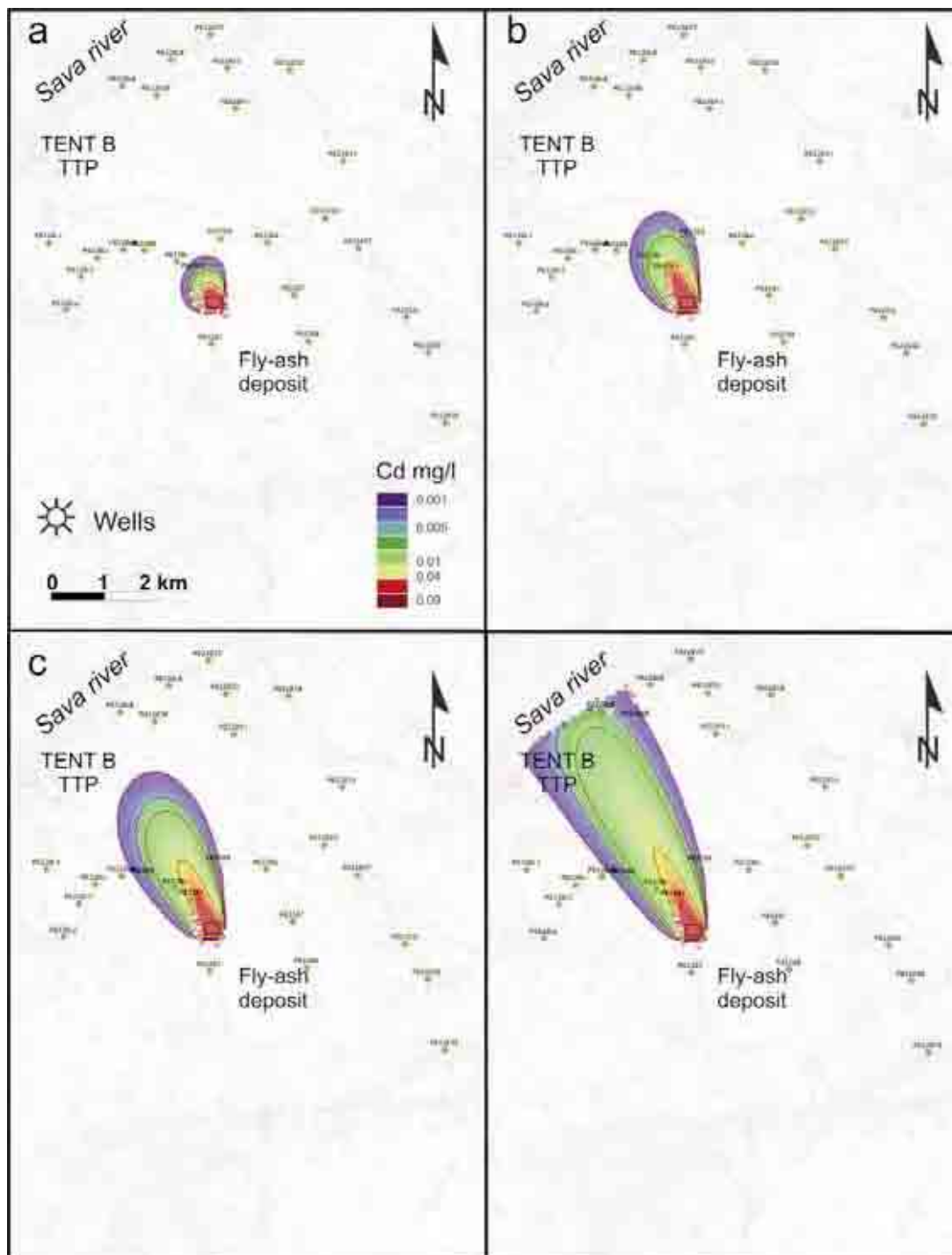


Figura 12. Mappe di simulazione relative al trasporto del Cr considerando un $K_d = 0.17$ ml/g e un coefficiente di ossido-riduzione, $k = 3.2 \cdot 10^{-5}$ 1/ora.

neri del deposito;

2. la presenza di concentrazioni significative di alcuni metalli pesanti che si arricchiscono nelle ceneri dopo il processo di combustione. L'applicazione del modello idrogeologico di flusso e di trasporto nel caso di un contaminante reattivo ha prodotto risultati compatibili con una possibile origine del contaminante dal deposito di ceneri. In particolare, considerando il pozzo di osservazione 2 (Fig. 10b) con K_d intermedio, la simulazione del trasporto per i solfati per un periodo di 20 anni riproduce concentrazioni confrontabili con quelle misurate e congruenti con il periodo di attività della centrale 1987-2006 all'epoca del campionamento. Inoltre, l'applicazione del modello e la simulazione del trasporto di metalli pesanti associati alle ceneri di combustione indica una dispersione nell'acquifero, ma una contaminazione limitata alle zone limitrofe il deposito.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano la Sig.ra Anna Bacconi (Tecnico del Laboratorio di Chimica dei Fluidi del Dipartimento di Scienze della Terra della Sapienza Università di Roma) per il prezioso supporto e la sua esperienza sia nelle indagini di campagna che per le analisi di laboratorio; ringraziamenti vanno anche ai ricercatori del Dipartimento di Scienze della Terra della Sapienza Università di Roma: Dott. Aldo Annunziatellis, Dott.ssa. Monia Coltella, Dott.ssa. Eveline Ricca e Dott.ssa. Flavia Pesciarelli per l'aiuto fornito durante le indagini di campagna in Serbia, e ai ricercatori del VINČA Institute of Nuclear Sciences, di Belgrado: Dott. Pedrag Ujic, Dott. Alexander Demajo, per il supporto scientifico e logistico durante la permanenza in Serbia. Un ringraziamento speciale per l'ospitalità e la gentilezza del Direttore Generale della centrale "Nikola TESLA B", Dott. Zoran Stojanović, e dei suoi collaboratori il Dott. Pavle Petrović (Mech. Eng.) e la Dott.ssa Mirjana Aleksic (Mech. Eng.). Un grazie speciale va al Ministro delle Scienze e Protezione Ambientale della Repubblica Serba, Dott. Alexander Popovic, che ha sostenuto questa la-

voro. La ricerca è stata svolta nell'ambito del progetto INTAILRISK Assessment of Environmental Risk for Use of Radioactively Contaminated Industrial Tailings (N. FP6-509214) finanziato dalla Comunità Europea.

Referenze

- Spitz, K., Moreno, J., 1996. A practical guide to Groundwater and Solute Transport Modeling. John Wiley & Sons.
- Fetter, C.W., 2001. Applied Hydrogeology, Prentice Hall.
- Igarashi, T., Mahara, Y., Shiozaki, I., 2000. "Introduction of Fundamental Approach for Groundwater Modeling" 4. Geochemical Modeling 4. 1 Groundwater chemistry, environmental isotopes, and tracers. Journal of Groundwater Hydrology, 42/3, 243-262.
- Polic, P.S., Grzetic, I.A., Popovic, A.R., Djordjevic, D.S., Kisic, D.M., Zbogar, Z.M., 1998. Microelements from coal ash: exchangeable fractions. Hem. Ind. 52, 12-18.
- Polic, P.S., Grzetic, I., Djordjevic, D., Popovic, A., Markovic, D., 1999. Association forms of heavy metals in fly ash from power plants. In: Borrell PM, Borrell P (eds) EUROTRAC-2, WIT Press, Southampton, volume 2, 296-300.
- Popovic, A., Djordjevic, D., Grzetic, I., Polic, P., 1998. Calcium and magnesium leaching and associated microelement pollution from coal ash. In: Proceedings of 16th River and Estuarine Pollution, Fossil Fuel and Environmental Quality Conference, Derby, United Kingdom
- Popovic, A., Djordjevic, D., Polic, P., 2000. Leaching of trace and major elements in coal ash dumps. Toxic Environ. Chem., 75, 141-150.
- Popovic, A., Djordjevic, D., Polic, P., 2001. Trace and major element pollution originating from coal ash suspension and transport processes. Environ. Int., 26, 251-255.

APPLICAZIONI DELL'INDAGINE MORFOCHIMICA IN MICROSCOPIA ELETTRONICA A PROBLEMATICHE DI IGIENE INDUSTRIALE

MORPHOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF FINE PARTICULATE MATTER USING ELECTRON MICROSCOPY TECHNIQUES: SOME INDUSTRIAL HYGIENE APPLICATIONS

Emma Della Penda¹, Beatrice Moroni²

¹INAIL - Direzione Regionale Umbria - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione, Via G. Battista Pontani 12, 06128 Perugia

²Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Perugia, Piazza Università, 06123 Perugia. E-mail: b.moroni@tiscali.it

Abstract

Investigation of the morphochemical characteristics of fine particulate matter involves a large number of industrial activities where the production and/or the manipulation of different, sometimes not well identified materials expose workers to the risk of occupational diseases. The mode of interaction and the degree of toxicity of the particles mostly depend on the chemistry and the surface reactivity which, on turn, are the result of the structure and texture of materials.

Electron microscopy techniques offer a wide range of applications to micro and nano-structural investigations of particulate matter. SEM and TEM imaging coupled with image analysis supply a wide range of morphological parameters on a statistical population of particles. SEM-EDS elemental mapping is a simple tool to distinguish chemical phases within a complex matrix, whereas SEM-EDS spot microanalysis allow detailed investigation of single phases at different analytical resolution.

In this paper some applications of SEM and TEM techniques to the study of a variety of industrial materials including welding fumes, crystalline silica dust and refractory ceramic fibers are reported and discussed.

Introduzione

L'esigenza di prevenire i rischi per la salute imputabili al materiale particellare prodotto in

specifici ambienti di lavoro ha motivato l'interesse verso studi e ricerche volti alla caratterizzazione chimico-fisica delle particelle e alla valutazione degli effetti di tossicità. In base agli studi degli ultimi trent'anni, le modalità di azione delle particelle dipenderebbero dalla natura, dalla concentrazione e dalle dimensioni delle particelle. Recenti linee di ricerca hanno inoltre indicato nelle proprietà morfochimiche e strutturali la causa della variabilità degli effetti sanitari del particolato prodotto in particolari cicli tecnologici (e.g. Voitkevich, 1995; Donaldson & Borm, 1998; Fubini, 1998; Ottaviani et al., 2000).

Un progetto di ricerca avviato da INAIL Con.T.A.R.P. Umbria in collaborazione con il Dipartimento di Scienze della Terra dell'Università di Perugia ha come obiettivo l'analisi delle caratteristiche morfochimiche e strutturali del particolato industriale in relazione alle proprietà di superficie delle particelle. Le tipologie di particolato oggetto dell'analisi, scelte per la loro rilevanza nel campo dell'igiene del lavoro, sono fumi di saldatura, silice libera cristallina e fibre ceramiche refrattarie.

In questo lavoro, dopo aver esaminato le principali connotazioni igienistiche di ciascuna tipologia di particelle, vengono illustrate alcune applicazioni della microscopia elettronica a scansione e in trasmissione alla caratterizzazione di diversi materiali particellari. I risultati vengono presentati nell'ottica di

fornire un contributo integrativo alle conoscenze ottenibili mediante le tecniche convenzionalmente utilizzate in ambito igienistico e sanitario con le informazioni ricavabili dall'impiego di tecniche di microscopia elettronica, che per le loro caratteristiche di elevata risoluzione spaziale ed analitica risultano particolarmente indicate nello studio morfochimico e strutturale di micro e nanofasi.

Aspetti igienistici e sanitari

Fumi di saldatura (WF)

Durante le attività di saldatura, le particolari condizioni termiche prodotte in prossimità della sorgente ad arco provocano lo sviluppo di una quantità significativa di fumi, composti da gas e vapori sviluppati o utilizzati durante la saldatura e da particelle metalliche, una parte delle quali può avere dimensioni tali da raggiungere le vie respiratorie del personale addetto. Il fenomeno della fumosità in saldatura è stato analizzato sia sperimentalmente che teoricamente. I parametri più studiati in quanto ritenuti fondamentali nell'influenzare lo sviluppo del fumo sono: natura e composizione dei gas, dinamica dell'arco e trasferimento metallico (e.g. Voitkevich, 1995). In particolare è stato rilevato come in alcune applicazioni della saldatura a filo continuo sotto protezione di gas la formazione del particolato sia legata a fenomeni di evaporazione-condensazione e allo sviluppo di particelle, alcune delle quali tendono ad aggregarsi formando aggregati multifase di varia morfologia (Zimmer & Biswas, 2001). La quantità e la composizione dei fumi e delle particelle dipendono dalla lega lavorata e dal processo di saldatura. La struttura delle particelle risulta invece fortemente condizionata dai fenomeni di ossidazione che si possono verificare nella zona dell'arco, quindi anche dal tipo di atmosfera in cui questo si sviluppa (Jenkins, 2003). Dal punto di vista degli effetti sull'organismo, sono stati registrati sia effetti acuti (febbre da fumi metallici, irritazione delle vie respiratorie, etc.), sia effetti a lungo termine (bronchite cronica, cancro polmonare, etc.; Antonini et al., 2003). Un aspetto di particolare rilevanza in ambito

igienistico è la cancerogenicità dei fumi di saldatura. L'attenzione è posta principalmente agli ossidi di nichel ed ai composti di cromo (VI). Questi composti possono essere presenti nei fumi quando acciai inossidabili vengono saldati ad arco. A questo riguardo la IARC (International Agency of Research on Cancer) classifica i fumi di saldatura come possibili cancerogeni per l'uomo (Gruppo 2B), inserendo però i composti del nichel e il cromo (VI) nel Gruppo 1 (evidenze certe di cancerogenicità nell'uomo), il nichel metallico nel Gruppo 2B, il cromo metallico e i composti del cromo (III) nel Gruppo 3 (non classificabile cancerogeno per l'uomo; IARC, 1997). In base alle raccomandazioni dell'ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), è necessario analizzare i composti presenti nei fumi, diversi in funzione della tecnica e del sistema di saldatura, e verificare se sono rispettati gli specifici livelli di soglia fissati per i vari elementi (Threshold Limit Value – Time Weighted Average; TLV-TWA; ACGIH, 2007). Oltre alla composizione e allo stato di ossidazione delle specie chimiche presenti, altre caratteristiche delle particelle costituenti i fumi sembrerebbero giocare un ruolo importante per quanto riguarda gli effetti sulla salute dei lavoratori esposti. Tali caratteristiche, da rilevare soprattutto nelle particelle ultrafini, sono il numero, la morfologia, l'area superficiale e la reattività.

Silice libera cristallina (SLC)

La silice libera cristallina (SLC), termine proprio dell'igiene del lavoro riferito alle fasi cristalline del biossido di silicio non combinato con altri elementi, è un composto estremamente diffuso in natura e presente in moltissime attività lavorative, in particolare nell'edilizia, nell'industria estrattiva, nell'industria siderurgica, nella manifattura dei prodotti ceramici. Gli effetti dell'esposizione lavorativa a SLC per via inalatoria sono provati da tempo, la silicosi polmonare è infatti una delle più note malattie professionali. In base alle attuali conoscenze i rischi per la salute possono essere ricondotti anche ad altre due tipo-

logie di malattie: il cancro polmonare e le malattie autoimmuni (Finkelstein, 2000; Park et al., 1999). La SLC, nella forma di quarzo e cristobalite, è stata classificata dalla IARC nel Gruppo 1 (cancerogeno per l'uomo; IARC, 1997). L'ACGIH raccomanda, per la frazione respirabile delle polveri di SLC, un valore limite di soglia, come TLV-TWA, pari a $0,025 \text{ mg/m}^3$ (ACGIH, 2007).

Il potenziale di tossicità della SLC è influenzato dalla concentrazione e dalle dimensioni delle particelle aerodisperse, la combinazione statistica di questi due fattori condiziona infatti la possibilità delle particelle di raggiungere gli alveoli polmonari. Nell'ultimo decennio, grazie alle evidenze epidemiologiche e ai risultati di studi sperimentali (Fubini et al., 2004), si sta facendo strada l'ipotesi che altre caratteristiche possano influenzare la patogenicità delle particelle di SLC poiché è stato osservato che la correlazione tra esposizione a particelle di silice e cancro polmonare non è così netta e non risultano chiari neanche i meccanismi di azione per quanto riguarda la silicosi. Non a caso in numerosi studi si parla di variabilità del rischio da silice (Donaldson & Borm, 1998; Fubini, 1998), riconducendone la causa alle proprietà chimico-fisiche di superficie delle polveri a loro volta condizionate dai trattamenti (termici, meccanici, in presenza/assenza di umidità) a cui viene sottoposto il materiale sorgente nel corso dei processi produttivi.

Fibre ceramiche refrattarie (FCR)

In base alla classificazione proposta dalla WHO (World Health Organization, 1988), le fibre ceramiche refrattarie sono una tipologia di fibre artificiali vetrose (MMVF, Man Made Vitreous Fibers), materiali inorganici fibrosi con struttura molecolare amorfa che si differenziano in base alla composizione, al metodo di produzione e al diametro delle fibre. Nell'ambito delle MMVF le FCR sono largamente utilizzate nel campo dell'isolamento termo-acustico, come materiali di rinforzo nei prodotti plastici e nell'industria tessile, e per la coibentazione degli impianti nei comparti in cui si svolgono cicli produttivi "a caldo".

Specialmente in questi comparti, sono state considerate come una valida alternativa all'amianto grazie alle loro proprietà di resistenza termica e di resistenza chimica, e per la minore tossicità a carico della salute.

Nel corso di studi sperimentali in vivo è stata, tuttavia, riscontrata l'insorgenza di effetti neoplastici a livello polmonare su animali da laboratorio sottoposti ad inalazione forzata di fibre artificiali. La pericolosità delle FCR si esplica particolarmente per via inalatoria ed è correlata alle caratteristiche dimensionali e alla composizione chimica delle fibre. La conformazione dimensionale discrimina la frazione respirabile delle fibre e condiziona la durata della loro permanenza nei polmoni, mentre la composizione chimica influenza la biopersistenza delle fibre nei liquidi biologici (NIOSH, 2006). Un ulteriore interessante aspetto dal punto di vista igienistico riguardante in particolare le FCR è rappresentato dai possibili processi di devettrificazione a carico di questi materiali durante l'esercizio a temperature generalmente superiori ai $1000\text{-}1200 \text{ }^\circ\text{C}$. Tali processi possono portare alla formazione, tra gli altri, di cristobalite (SiO_2) un minerale di cui, come si è detto, è noto l'effetto cancerogeno. I meccanismi di cristallizzazione risultano condizionati dalla temperatura, dal periodo di esercizio e dalla composizione chimica della miscela (Khoramy et al., 1987; Dyason et al., 1997). La IARC ha classificato le FCR nel Gruppo 2B (possibile cancerogeno per l'uomo), mentre per tutte le altre tipologie di MMVF ha espresso un giudizio più rassicurante (Gruppo 3 - non classificabile cancerogeno per l'uomo; IARC, 2002). Con la Direttiva della Commissione Europea 97/69/CE del 5 dicembre 1997, le MMVF sono state inserite fra le sostanze pericolose sottoposte ad obbligo di etichettatura e classificate in base alla composizione chimica ed alle caratteristiche dimensionali delle fibre. In Italia, il D.M. del 01/09/1998 ha recepito tale direttiva e con circolare n. 4 del 15/03/2000 il Ministero della Sanità ha sancito che il valore limite di esposizione occupazionale alle fibre aerodisperse (intesi come TLV-TWA), è pari 0.2 fibre/cm^3 per le FCR.

Materiali e metodi

Campionamento

Il campionamento ha riguardato, tra gli altri, polveri aerodisperse provenienti da distinti ambienti di lavoro nell'ambito dei diversi settori produttivi. Per la silice libera cristallina è stato adottato un sistema di campionamento mediante pompe aspiranti e cicloni preselettori che, in accordo con i criteri dettati dalla normativa (Norma UNI 481, 1994; Decreto L.vo 25/2002), consentisse di prelevare la frazione granulometrica delle polveri aerodisperse con un taglio aerodinamico mediano di 4 μm (cosiddetta frazione respirabile). Per i fumi di saldatura sono state utilizzate pompe aspiranti e campionatori a faccia aperta con modalità operative conformi ai requisiti della normativa tecnica (Metodo UNI 9751, 1991). In entrambi i casi la raccolta di particolato è stata effettuata utilizzando filtri in polycarbonato. Il campionamento delle fibre aerodisperse è stato condotto con le modalità e i parametri fissati dal Decreto L.vo 277/91 e dal D.M. 6/9/1994, che prevedono l'impiego di pompe aspiranti, di campionatori a faccia aperta e di filtri in esteri di cellulosa.

I campioni di fumi provengono da attività di saldatura ad arco elettrico del tipo TIG (Tungsten Inert Gas) e MIG (Metal -arc Inert Gas), riguardanti manufatti costituiti da acciaio inox e acciaio al carbonio con tenori di cromo e nichel pari rispettivamente al 18% e al 9% in peso, e manufatti in lega speciale con tenori di cromo e nichel pari al 20% e al 50% in peso.

I campioni contenenti SLC esaminati in questo lavoro provengono da diverse aree operative nell'ambito di opifici dediti alla produzione di laterizi. Nel corso del ciclo produttivo, documentato dai campioni di materiale aerodisperso, i laterizi vengono prodotti a partire da argille contenenti, per natura o aggiunta, sabbia quarzifera, carbonato di calcio, ossido di ferro, etc. La specifica tecnologia richiede impasti argillosi contenenti quarzo nel tenore minimo del 15–20 % in peso.

I campioni di FCR provengono dal comparto siderurgico dove il materiale si trova impiegato presso le aree di fusione e di tratta-

mento termico dell'acciaio. I prelievi hanno riguardato sia le polveri aerodisperse che materiale massivo usurato proveniente dallo smantellamento dei rivestimenti coibentanti dei coperchi di siviera.

Metodologie analitiche

Per l'osservazione al SEM dei campioni di polvere aerodispersa un frammento del filtro di campionamento è stato montato sull'apposito supporto in alluminio senza subire alcun trattamento preliminare. Per l'osservazione al TEM le particelle sono state estratte dal filtro di campionamento mediante bagno in etanolo con aggiunta, nel caso dei fumi, di una opportuna quantità di acido laurico quale mezzo disperdente (Jenkins, 2003), e successivamente depositate su apposita griglia in rame da TEM.

Le osservazioni e le analisi in microscopia elettronica sono state eseguite presso il Centro Universitario di Microscopia Elettronica di Perugia utilizzando un microscopio elettronico a scansione (SEM) Philips XL30 (Philips Electron Optics) in linea con sistema EDAX DX-4I di microanalisi e software di acquisizione ed elaborazione dati GENESIS (EDAX), e un microscopio elettronico in trasmissione (TEM) Philips Mod. 208. Il procedimento di lavoro è stato articolato in due fasi distinte, la prima di osservazione e raccolta delle immagini al SEM e al TEM, la seconda di microanalisi e di mappatura della composizione delle singole particelle al SEM. I parametri operativi adottati sono stati diversi nei due casi (tensione di accelerazione di 15 kV e di 20 kV; spot size di 4 e di 5). I tempi di conteggio per ogni punto analisi variano da 20 a 40 secondi in funzione delle dimensioni dei granuli da analizzare. In entrambi i casi la distanza di lavoro è stata fissata a 10 mm.

Le immagini raccolte (ingrandimento 5000x, risoluzione 4096x3200 pixel) sono state sottoposte ad un procedimento standardizzato di elaborazione mediante operazioni di filtraggio per migliorare la qualità dell'immagine (contrast enhancement, remove noise), seguito dall'applicazione di algoritmi punta-

li di soglia (threshold) per ottenere la binarizzazione dell'immagine. Tale fase preliminare di elaborazione è stata eseguita mediante il programma Corel Photo-Paint 11. Le immagini binarie così ottenute sono state analizzate mediante il programma di analisi di immagine Image Tool 3.0 (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>) ottenendo una serie di parametri morfometrici degli oggetti (Fig. 1). Al termine di questo procedimento tutte le particelle identificate in una immagine risultano caratterizzate mediante un corredo di dati quantitativi che le descrive dal punto di vista sia morfologico che morfometrico. La precisione analitica del metodo è intorno al 5%. I dati morfometrici ricavati dall'analisi di immagine possono essere elaborati mediante metodi statistici di analisi multivariata [SIMCA; Bisani et al., 1982a, b] per l'individuazione di cluster morfologici e/o di correlazioni tra variabili. Le mappe di distribuzione degli elementi possono essere trattate con una procedura di analisi statistica disponibile nel software GENESIS di elaborazione degli spettri EDS per la ricerca automatica e la stima quantitativa dell'abbondanza delle varie fasi nel campo visivo esaminato.

Applicazioni alle problematiche di igiene industriale

Fumi di saldatura (WF)

Le immagini raccolte al SEM e al TEM (Fig. 2) evidenziano particelle di dimensioni estre-

mamente variabili frequentemente costituite da un guscio esterno e da un cuore metallico interno. La superficie è liscia ma, nelle particelle più grossolane, può divenire irregolare fino a risultare suddivisa in zolle. Le dimensioni delle particelle, quali individuate dal compendio delle due tecniche microscopiche, si collocano in due classi ben distinte con massimi di frequenza per diametri inferiori al μm e al decimo di μm (Fig. 2). In letteratura queste due classi vengono tradizionalmente attribuite, rispettivamente, a regimi di accumulazione e di nucleazione di particelle, e pertanto interpretate quali indicatori della composizione dei vapori di saldatura a differenza delle particelle grossolane che, invece, riflettono più direttamente la composizione dell'elettrodo di fusione (Jenkins, 2003). Per questa ragione, e in considerazione della sostanziale omogeneità delle leghe lavorate, non sono state riscontrate relazioni significative tra dimensioni e composizione delle particelle nel range di dimensioni investigato al SEM-EDS, vale a dire che le particelle hanno composizioni analoghe indipendentemente dalle dimensioni. Ciò che si osserva è, in ogni caso, una correlazione negativa Fe-Mn e, a parte qualche eccezione, una analoga correlazione positiva del Fe con il Cr e il Ni.

Allo scopo di ricavare informazioni sulla natura chimico-mineralogica delle particelle i dati composizionali in ossidi ricavati all'analisi

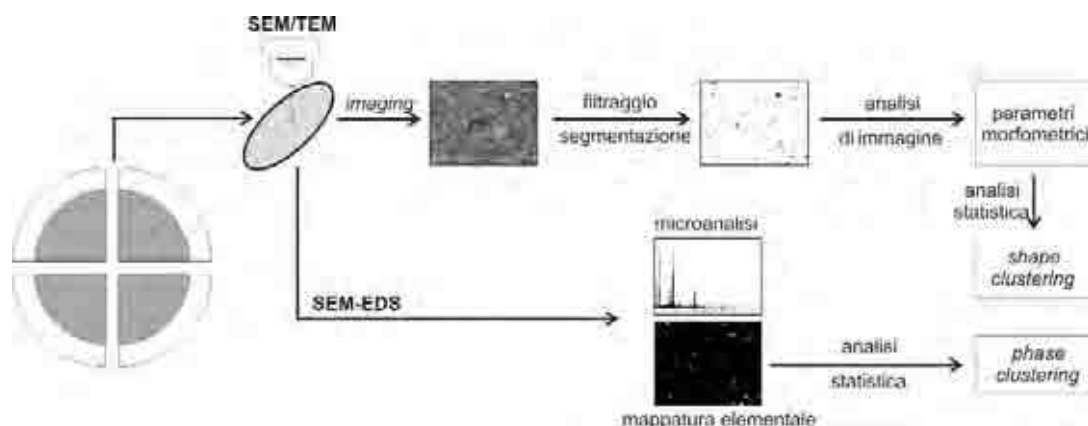


Figura 1. Schema della procedura analitica adottata. I parametri morfometrici di interesse sono i seguenti: area (A); perimetro (P); lunghezza degli assi (L, l); elongazione (L/l); arrotondamento ($4\pi/P$); diametro di Feret ($(4A/\pi)^{1/2}$); compattezza ($(4\pi A/L)^{1/2}$); fattore di forma ($P^2/4\pi A$).

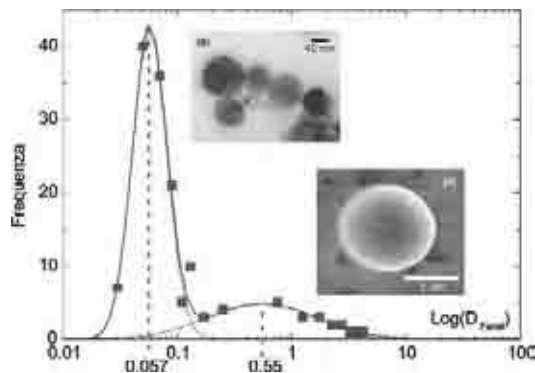


Figura 2. Curva della distribuzione delle dimensioni delle particelle in un campione di fumi di saldatura e relative immagini al SEM (a) e al TEM (b).

si SEM-EDS sono stati sottoposti ad un procedimento di ricalcolo su base stechiometrica per ricavare la formula dei minerali corrispondenti. Nel procedimento di ricalcolo si è assunto che le particelle avessero la struttura e la composizione degli spinelli, ossidi caratterizzati dalla formula A_2BO_4 , dove A è un elemento bivalente in coordinazione tetraedrica e B un elemento trivalente in coordinazione ottaedrica (spinello normale), oppure dalla formula AB_2O_4 dove A e B presentano valenza invertita (spinello inverso). I risultati del procedimento di ricalcolo, confermati da opportuna indagine diffrattometrica, hanno evidenziato una buona correlazione del dato con la formula ad indicare la corretta attribuzione a spinelli. Dal punto di vista della composizione è stata evidenziata la presenza prevalente di fasi appartenenti alle serie di soluzione solida magnetite-cromite e magnetite-jacobsite.

Silice libera cristallina (SLC)

Il procedimento di separazione adottato ha portato all'identificazione di una certa quantità di granuli silicei all'interno della matrice argillosa dei campioni massivi. Tali granuli mostrano dimensioni comprese tra 10 e 100 μm e morfologie da regolari ad estremamente irregolari e convolute.

Per l'esame delle polveri aerodisperse su filtro provenienti da diverse postazioni di lavo-

ro (caricamento, prelavazione, mattoniera), scelte tra le più polverose nell'ambito di un ciclo produttivo, decisivo si è rivelato il contributo della mappatura elementare. In pratica, utilizzando un procedimento sottrattivo di elaborazione degli spettri è stato possibile individuare, tra tutti i granuli presenti, quelli di silice.

I dati preliminari ottenuti evidenziano una sensibile modificazione dei parametri morfologici caratterizzanti i granuli di silice passando dalle operazioni di estrazione a quelle di prelavazione e formatura. In particolare è stata riscontrata una sostanziale diminuzione delle dimensioni dei granuli, efficacemente rappresentata dal diametro di Feret, contestualmente ad una sensibile diminuzione del fattore di forma (Fig. 3). Ciò significa che il processo di lavorazione riduce sensibilmente le dimensioni dei granuli di silice portandole da valori di qualche decina di μm a valori di 0.5-2 μm riducendo nel contempo il grado di complessità e di asimmetria dei granuli stessi.

Fibre ceramiche refrattarie (FCR)

Le indagini preliminari al SEM hanno evidenziato la presenza di due diversi raggruppamenti di fibre (Fig. 4). Il primo è caratterizzato da una lunghezza delle fibre inferiore a 50 μm , da un rapporto di elongazione compreso

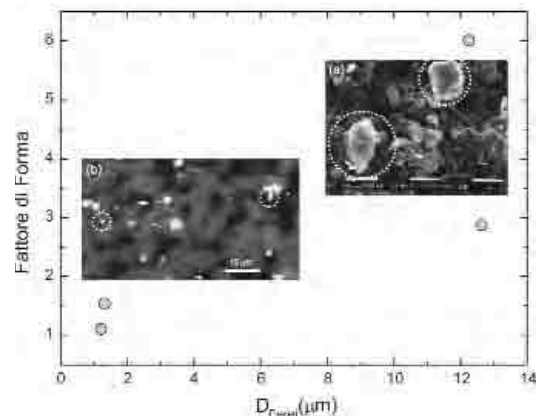


Figura 3. Grafico diametro di Feret – fattore di forma. Viene illustrata la sensibile modificazione dei parametri morfologici caratterizzanti i granuli di silice nella polvere aerodispersa passando dalle operazioni di estrazione (a) a quelle di prelavazione e formatura (b).

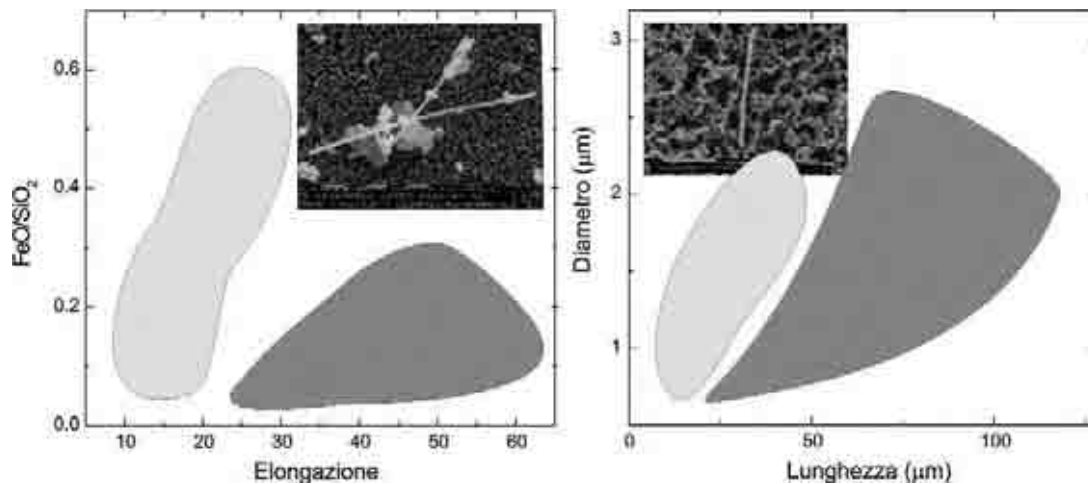


Figura 4. Raggruppamenti morfochimici (a, b) delle fibre nell'ambito dei campioni di FCR esaminati.

tra 10 e 30 e da un rapporto FeO/SiO_2 compreso tra 0.05 e 0.6. Il secondo è invece caratterizzato da una lunghezza delle fibre compresa tra 25 e 120 μm , da un rapporto di elongazione compreso tra 25 e 65 e da un rapporto FeO/SiO_2 minore di 0.3. In tutti i casi i dati morfologici denotano il carattere di inalabilità delle fibre. Nel materiale usurato la superficie delle fibre è spesso interessata dalla presenza di neoformazioni crostose di composizione diversa rispetto alla porzione sottostante delle fibre (Fig. 5).

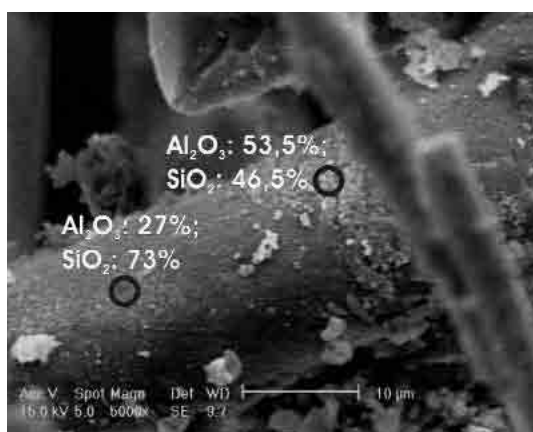


Figura 5. Neoformazioni crostose stratificate al di sopra di una fibra e relativa composizione chimica.

Conclusioni

Il quadro delle informazioni fin qui raccolte nei diversi settori di indagine apre la strada a ulteriori, necessari approfondimenti che richiederanno, ancora una volta, il contributo decisivo delle tecniche di microscopia elettronica. L'obiettivo è da un lato quello di raccogliere una maggiore quantità di dati morfologici sulle polveri aerodisperse mediante mappatura/analisi chimica elementare e morfometria al SEM, dall'altro quello di approfondire lo studio strutturale al TEM.

Le potenzialità delle metodologie da TEM in campo mineralogico sono state ampiamente dimostrate in letteratura (Buseck, 1992). In particolare, operando in diffrazione elettronica (elastic scattering) è possibile ottenere informazioni sia in merito ai parametri reticolari dei granuli a diversa scala di indagine passando dalla modalità SAED (selected area electron diffraction) alla modalità CBED (convergent beam electron diffraction), che in merito alle difettive reticolari e ad eventuali discontinuità presenti nel campione (modalità operative in contrasto di ampiezza e in contrasto di fase); sfruttando il segnale risultante dall'interazione con il campione (inelastic scattering) è inoltre possibile eseguire analisi chimiche ad alta risoluzione di ridottissimi volumi di materiale (TEM-EDS) ed, eventualmente, ricavare informazioni sullo stato di ossidazione e sulla coordinazione di

ciascun elemento.

Nel caso della silice, un ulteriore obiettivo è quello di approfondire l'esame del materiale massivo mediante catodoluminescenza da microscopia elettronica a scansione. Osservazioni preliminari in microscopia ottica sulle sabbie silicee utilizzate in fonderia nella fase di formatura hanno infatti evidenziato la presenza di particelle di quarzo caratterizzate da diversi segnali di catodoluminescenza e, come tali, riferibili a diversi ambienti geologici (Götze et al., 2001). Poiché la storia geologica delle particelle può riflettersi nelle caratteristiche strutturali delle particelle stesse inducendo difettive e dislocazioni evidenziate nel quarzo proprio dal segnale di catodoluminescenza, l'idea è quella di esaminare i campioni di quarzo utilizzando un SEM dotato di strumentazione di raccolta e di analisi degli spettri di catodoluminescenza. Ciò allo scopo di corredare le informazioni morfologiche in alta risoluzione con quelle morfochimiche e strutturali ottenibili con l'indagine in catodoluminescenza.

Tutte queste informazioni potranno integrarsi con quelle di natura più squisitamente chimica che, riferite al campione in massa, sono già disponibili per alcuni materiali (e.g. Ottaviani et al., 2000; Fubini et al., 2004). In ogni caso appare chiaro come lo sviluppo di tecniche analitiche, come quelle da microscopia elettronica, capaci di fornire informazioni di estremo dettaglio sulla struttura e l'intorno chimico delle particelle comporti l'esigenza crescente di una applicazione sempre più estesa (e magari standardizzata) allo studio delle problematiche di igiene industriale.

Referenze

ACGIH, 2007. Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents - Biological Exposure Indices 2007. Cincinnati.

Antonini, J.M., Lewis, A.B., Roberts, J.R., Whaley, D.A., 2003. Pulmonary effects of welding fumes: review of worker and experimental animal studies. *American Journal of Industrial Medicine*, 43, 350-360.

Bisani, M.L., Clementi, S., Wold, S., 1982a.

Elementi di chemiometria. I - L'analisi statistica multivariata in chimica. *La Chimica e l'Industria*, 64, 655-665.

Bisani, M.L., Clementi, S., Wold, S., 1982b. Elementi di chemiometria. II - Il metodo SIM-CA. *La Chimica e l'Industria*, 64, 727-741.

Buseck, P.R., 1992. Minerals and reactions at the atomic scale: transmission electron microscopy. *Reviews in Mineralogy*, vol. 27, The Mineralogical Society of America.

Circolare del Ministero della Sanità, 15.03.00 n.4 G.U. n.88 del 14.04.00, Serie Generale.

D.M. 01.09.98, Ministero della Sanità. G.U. n.271 del 19.11.98, Serie Generale.

Decreto L.vo 15.08.91 n. 277. G.U. n. 200 del 27.08.91, Serie Generale.

Decreto Legislativo del 02/02/2002 n.25. Attuazione della direttiva 98/24/CE sulla protezione della salute e della sicurezza dei lavoratori contro i rischi derivanti da agenti chimici durante il lavoro. G.U. n. 57 del del 08/03/2002, Serie Generale, Supplemento Ordinario.

Direttiva 97/69/CE della Commissione del 05.12.97 recante 23° adeguamento al progresso tecnico della direttiva 67/548/CEE. G.U. U.E. L343 del 13.12.97.

Donaldson, K., Borm, P.J.A., 1998. The quartz hazard: a variable entity. *Annals of occupational Hygiene*, 42, 287-294.

Dyason, D.J., Butler, M.A., Hughes, R.J., 1997. The de-vitrification of alumino-silicate ceramic fibre materials - the kinetics of the formation of different crystalline phases. *Annals of occupational Hygiene*, 41, 561-590.

Finkelstein, M., 2000. Silica, silicosis and lung cancer: a risk assessment. *American Journal of Industrial Medicine*, 38, 8 - 18.

Fubini, B., 1998. Surface chemistry and quartz hazard. *Annals of occupational Hygiene*, 42, 521-530.

Fubini, B., Fenoglio, I., Ceschino, R., Chiazza, M., Martra, G., Tomatis, M., Borm, P., Schino, R., Bruch, J., 2004. Relationship between the state of the surface of four commercial quartz flours and their biological activity in vitro and in vivo. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 207, 89-104.

- Götze, J., Plötze, M., Habermann, D., 2001. Origin, special characteristics and practical applications of the cathodoluminescence (CL) of quartz-a review. *Mineralogy and Petrology*, 71, 225-250.
- IARC, 1997. Chromium, Nickel and Welding. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 49, Lyon.
- IARC, 1997. Silica, some Silicates, Coal Dust and para Aramid Fibrils. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 68, Lyon.
- IARC, 2002. Man Made Vitreous Fibres. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 81, Lyon.
- Jenkins, N.T., 2003. Chemistry of airborne particles from metallurgical processing. Ph.D. Thesis, Massachusetts Institute of Technology.
- Khoramy, J., Lemieux, A., Dunnigan, J., 1987. Induced conversion of aluminium silicate fibers into mullite and cristobalite by elevated temperatures: a comparative study on two commercial products. *Thermochimica Acta*, 120, 1-7.
- UNI, 1991. Metodi di campionamento e di analisi dei fumi di saldatura (UNI 9751).
- NIOSH, 2006. Criteria for a recommended standard occupational exposure to refractory ceramic fibers. Publ. No. 2006-123, Cincinnati, Ohio.
- Norma Tecnica UNI EN n° 481 del 31/10/1994. Atmosfera nell'ambiente di lavoro - Definizione delle frazioni granulometriche per la misurazione delle particelle aerodisperse.
- Ottaviani, M.F., Tomatis, M., Fubini, B., 2000. Surface properties of vitreous fibers. *Journal of Colloid and Interface Science*, 224, 169-178.
- Parks, C.G., Conrad, K., Cooper, G.S., 1999. Occupational exposure to crystalline silica and autoimmune diseases. *Environmental Health Perspectives*, 107, 793 – 802.
- Voitkevich, V., 1995. Welding fumes: formation, properties and biological effects. Abington Publishing, Cambridge.
- WHO, 1988. Man-made mineral fibres. *Environmental Health Criteria*, no 77, Geneva.
- Zimmer, A.T., Biswas, P., 2001. Characterization of the aerosols resulting from arc welding processes. *Journal of Aerosol Science*, 32, 993-1008.

STUDIO EPIDEMIOLOGICO SULLA CALCOLOSI IN BASILICATA (ITALIA): INFLUENZA DEI FATTORI AMBIENTALI

BASILICATA (ITALY) EPIDEMIOLOGICAL UROLITHIASIS PROJECT: CORRELATION TO ENVIRONMENTAL RISKS FACTORS

Maria Luigia Giannossi¹, Giovanni Mongelli², Vito Summa¹, Fabio Tateo³

¹Istituto di Metodologie per l'Analisi Ambientale, CNR, 85050 Tito Scalo, Potenza. E-mail: giannossi@imaa.cnr.it

²Dipartimento di Scienze Geologiche, Università della Basilicata, 85100 Potenza

³Istituto di Geoscienze e Georisorse, CNR, c/o Dipartimento di Geoscienze, Università degli Studi di Padova, Via Giotto 1, 35137 Padova

Abstract

Epidemiological data on the occurrence of urolithiasis appears to be gradually increasing but it remains poorly defined. There are no population based data on the incidence or prevalence of kidney stones in Italy and in particular in Basilicata (southern Italy). The main purpose of our study is to acquire useful information on urolithiasis in Basilicata and to examine regional variation in the incidence rate of kidney stones and to determine epidemiological and environmental risk factors for stone formation. Study has been carried out in collaboration with doctors of Nephrology Department of "San Carlo" Potenza (Italy) Hospital, for multidisciplinary character of the research. The epidemiological analysis was based on data from regional institution of the Basilicata resident population that was hospitalized for urolithiasis in regional and external hospital structures. Additional data have been obtained from interviews of patients. Questionnaires include personal details and socio-economic data, medical history data, and eating habits.

Dietary habits, life-style, climate and socio-economic status, and also water chemistry, soil geochemistry and mineralogy, are peculiar epidemiological characteristics of renal stone formers, and represent critical factors to explain the geographic distribution of urolithiasis. An high prevalence of the disease plus than 12 of 1,000 inhabitants has been observed in some regional area; most pa-

tients are men and the peak age for the development of stones is between 40 and 60 years. The prevalence rate is significantly greater in the northern Apennine Basilicata zone and tend to decrease in the southern Basilicata Bradanic Foredeep. A number of environmental factors are under discussion as possible implicated in the aetiology of urolithiasis. On the basis of our own results, risk patterns for kidney stones in Basilicata were strongly associated (as statistical analysis show) with: low temperature, high altitude related to a diet high in protein and water hardness consuming. In view of the correlation between composition of patients stones and environmental factors, careful morphologic and constitutional analysis of stone should not be neglected.

Introduzione

La calcolosi urinaria è una delle malattie più diffuse nei paesi occidentali ben sviluppati. La sua grande diffusione non coincide però con una completa comprensione dei processi di formazione dei calcoli. Questo processo, noto come biomineralizzazione, viene controllato non solo dalle condizioni micro-ambientali del sito di mineralizzazione interno all'organismo, ma anche da tutta una serie di fattori geo-ambientali esterni (Daudon et al., 2004; Hesse et al., 2003; Ramello et al., 2000; Serio et al., 1999), alcuni dei quali sono riconosciuti da diversi autori (familiarietà, genere, età, peso corporeo, alimentazione).

ne ricca in proteine animali, quantità di Ca nell'acqua, quantità di liquidi assunti). Lo studio di questi molteplici fattori di rischio risulta essere un bisogno irrinunciabile che prevede una ricerca multidisciplinare che comprende settori quali la medicina, la biologia, la geologia, la fisica e la chimica.

Il presente studio, intende colmare le carenze attualmente esistenti in merito alla influenza che i fattori ambientali presenti in Basilicata, hanno sulla distribuzione geografica della prevalenza di calcolosi urinaria (in seguito indicata semplicemente come calcolosi).

I calcoli urinari ed i fattori di rischio associati

I calcoli sono rappresentati prevalentemente da cristalli poligenici che si aggregano a formare depositi in varie parti del corpo umano. I componenti più frequenti dei calcoli sono cristalli di ossalato di calcio (70-80%). La più usuale è la forma bi-idrata, la weddellite. La forma mono-idrata, invece, è la whewellite. Il tipico componente di calcoli dovuti ad infezioni urinarie, è la struvite (10-15%), un fosfato di ammonio e magnesio esaidrato. Altri componenti come acido urico, urato di ammonio e cistina hanno una frequenza più bassa (<15%). In generale, comunque, la maggioranza dei calcoli è costituita da due componenti, sono ristretti a pochi casi quelli puri (Ramello et al., 2000). Il maggior grado di benessere ha cambiato la tipologia fisico-chimica dei calcoli (Ramello et al., 2000). Mentre un tempo i più frequenti erano quelli legati alle infezioni urinarie (struvite), con il miglioramento delle condizioni socio-economiche è aumentata la prevalenza di quelli composti da ossalato di calcio; tutto questo suggerisce che si siano modificati i fattori predisponenti o scatenanti che ne stanno alla base.

Qualunque ne sia la natura, il meccanismo finale della formazione del calcolo è caratterizzato dalla sovrassaturazione urinaria per il soluto (cioè il costituente urinario disciolto); in pratica il soluto è diluito nelle urine e in condizioni normali non forma calcoli, aiutato

anche dalla presenza di sostanze "inibenti la cristallizzazione". Risulta invece molto comune nelle persone sane, la formazione di piccoli cristalli isolati che vengono espulsi con le urine. Quando il soluto aumenta oltre una certa concentrazione (dipendente dall'ambiente chimico e dal tipo di soluto), questi tende ad aggregarsi spontaneamente e formare calcoli (Elliot, 2002; Kavanagh, 1992). Il processo di biomineralizzazione dei calcoli nel corpo umano è complicato dalla coesistenza di molti fattori determinanti e/o influenzanti la malattia. La letteratura scientifica ne ha analizzato molti fornendo importanti indicazioni sui più diffusi.

È ben noto che la frequenza della calcolosi, oltre a variare sensibilmente a seconda della nazione, si presenta in maniera difforme nell'ambito dei distretti regionali al variare delle condizioni ambientali e per il modificarsi delle condizioni di familiarità, dell'alimentazione e così via. Tutto ciò da un lato porta a difficoltà negli interventi di prevenzione, dall'altro rende necessario calare nel contesto locale-regionale le ricerche epidemiologiche e la valutazione dei vari fattori di rischio, sia quelli riconosciuti a livello globale, che altri, tipici o addirittura unici, della zona considerata. La malattia è più diffusa tra gli uomini che tra le donne (Robertson et al., 1983; Serio et al., 1999) ed entro una fascia di età compresa tra i 30 ed i 60 anni (Johnson et al., 1979). L'ereditarietà della patologia è anche uno degli importanti fattori di predisposizione genetica alla calcolosi (Curhan et al., 1997a; Wasserstein et al., 1987).

Tutti i fattori citati sono definiti fattori di rischio demografico e rappresentano solo uno dei gruppi di determinanti la calcolosi. Nel tempo hanno assunto una grande importanza i fattori definiti ambientali e comportamentali (Schwille et al., 1992).

La prevalenza di calcolosi urinaria mostra considerevoli differenze in relazione alla posizione geografica (Hesse et al., 2003; Komatina, 2004). Da dati del 1993-1994, in Italia risulta un tasso di prevalenza più elevato nel meridione e nelle isole, nella media per la parte centrale e valori molto più bassi per il

settentrione (circa la metà del tasso corrispondente al meridione) (Serio et al., 1999). Una più alta temperatura media registrata nelle regioni meridionali porta ad una sensibile diminuzione del volume delle urine. In più una maggiore esposizione ai raggi solari porta ad una maggiore produzione di vitamina D con il risultato di avere un incremento dell'assorbimento di calcio nel tratto gastrointestinale ed un aumento nelle urine (Curhan et al., 1994; Parry et al., 1975).

Tra i fattori di rischio comportamentali rientrano le abitudini alimentari (Goldfarb et al., 2005). Il ruolo del calcio nella formazione dei calcoli è stato da sempre oggetto di numerosi studi e ricerche. In passato era particolarmente diffusa la convinzione che una dieta priva o estremamente povera di latte e derivati fosse una valida arma nei confronti delle recidive (Bellizzi et al., 1999); oggi si è giunti alla conclusione che una dieta ricca di calcio non solo non predispone alla calcolosi delle vie urinarie ma la previene riducendo l'assorbimento di ossalato di calcio (Curhan et al., 1993, 1997a).

Un eccesso di ossalato si è invece dimostrato particolarmente dannoso in quanto fattore predisponente alla formazione di calcoli (specie se accompagnato ad un ridotto consumo di liquidi). L'ossalato è ubiquitario, ma alcuni alimenti ne sono particolarmente ricchi: cioccolata, nocciole, bevande gassate, piselli, asparagi, spinaci etc. (Brinkley et al., 1990). Gli ossalati sono acidi grassi che si legano ai sali minerali, soprattutto al calcio, impedendone l'assorbimento e formando composti insolubili (gli ossalati di calcio, appunto) che tendono ad accumularsi (Borsatti, 1991; Curhan et al., 1993).

Tutta la letteratura scientifica è concorde nel ritenere che è importante valutare la quantità di acqua, e più in generale di liquidi, assunti con la dieta. Oltre che la quantità complessiva di liquidi è importante scegliere la qualità giusta. Per ciò che concerne la tipologia di acqua, nonostante alcuni studi recenti abbiano dimostrato che anche le acque minerali ricche di calcio possono costituire un fattore protettivo (Ackermann et al., 1988; Rodgers,

1997), in presenza di calcolosi si consiglia l'utilizzo di acque minimamente mineralizzate che, in quanto povere di sali minerali, favoriscono la diuresi e facilitano l'espulsione di piccoli calcoli renali (Curhan et al., 1993, 1997a, 1997b). Il dibattito è ancora aperto (Strauss et al., 1982; Borghi et al., 1996; Candarella et al., 1998; Shuster et al., 1985) e richiede ulteriori investimenti di risorse sia umane che economiche. Non bisogna trascurare che alcuni degli elementi chimici influenzanti la calcolosi, derivano dall'ambiente (suoli, rocce ed acque) e possono essere ingeriti attraverso la catena alimentare (Felici, 2005). Quella che viene definita anomalia geochimica può essere pertanto considerata anche un rischio o un vantaggio per lo sviluppo di calcoli.

La raccolta e l'elaborazione dei dati

L'epidemiologia ha un ruolo importante nel riconoscimento dei danni per la salute derivanti da esposizioni ambientali, nella valutazione del loro impatto sanitario, e nella verifica della efficacia dei programmi di bonifica ambientale.

In Italia vi è una lunga tradizione di studi e ricerche nel campo della epidemiologia ambientale su temi diversi, ma purtroppo nel campo della calcolosi esistono solo pochi selezionati lavori (Baggio, 1999; Bellizzi et al., 1999; Borghi et al., 2006; Ramello et al., 2000; Serio et al., 1999).

Il primo passo nello studio della patologia della calcolosi è quello di avviare uno studio epidemiologico di tipo descrittivo. Questo tipo di studi utilizza prevalentemente dati già a disposizione che provengono da archivi, banche dati regionali e/o ospedaliere.

Per questo studio è stato definito come "caso" un soggetto residente in qualsiasi comune della Basilicata, di qualsiasi genere ed età, che nel periodo di osservazione prestabilito (2003-2005) è stato ricoverato presso una qualsiasi struttura ospedaliera nazionale per le diagnosi "Calcolosi urinaria con complicazioni e/o litotrissia mediante ultrasuoni" e "Calcolosi urinaria senza complicazioni". La popolazione di controllo è stata indicata

come la restante popolazione residente in Basilicata non affetta da questa patologia.

Per ogni persona ricoverata è stato possibile reperire dalle banche dati regionale ed ospedaliera: il genere, l'età ed il comune di residenza. Per integrare questi dati, sono stati creati dei questionari informativi che sono stati distribuiti ai pazienti. Il questionario comprende una serie di domande riguardanti i dati personali (età, stato civile, indirizzo completo e livello scolastico), socio-economici (tipo di lavoro, attività sportiva), la storia medica (peso, altezza, anamnesi personale e familiare ed informazioni sulle abitudini alimentari (cibo e bevande consumate)).

I dati provenienti dalle banche dati regionali ed ospedaliera, sono stati sottoposti ad una prima elaborazione per separare i casi di calcolosi per anno e per comune. Per ogni comune, i casi sono stati stratificati per genere e per età al fine di creare delle tabelle in cui i dati fossero facilmente accessibili per le elaborazioni successive.

Uno degli scopi di uno studio epidemiologico, è quello di stabilire l'esistenza di un'associazione statistica tra un presunto determinante (o un'esposizione ad un certo fattore) ed una malattia. L'accertamento dell'associazione è, però, soltanto il primo passo, che richiede poi l'interpretazione del significato dell'associazione. L'iter da seguire per la stima di una associazione tra determinate e malattia prevede la compilazione di tabelle di dati e l'esecuzione di una serie di calcoli.

Le misure che si ottengono hanno lo scopo di illustrare la frequenza della malattia in una data area geografica e di determinarne le eventuali associazioni con fattori di rischio. Il parametro statistico di valutazione di una associazione è l'"Odds ratio" (termine che non ha un corrispondente in italiano; può essere reso con "probabilità a favore"). L'Odds, in pratica, corrisponde al rapporto fra il numero di volte in cui l'evento si verifica (o si è verificato) ed il numero di volte in cui l'evento non si verifica (o non si è verificato). Nel nostro caso l'evento corrisponde al verificarsi di un caso in presenza di un determinato fattore di rischio.

L'Odds ratio può assumere valori teorici compresi fra 0 e +infinito. È intuitivo che un valore =1 indica assenza di associazione tra malattia ed esposizione.

Un valore <1 indica una associazione negativa (cioè il fattore può proteggere dalla malattia) mentre un rapporto >1 indica l'esistenza di una associazione positiva (il fattore può causare la malattia). A monte del calcolo dell'Odds ratio, viene valutata la significatività statistica dei dati che si utilizzano, attraverso l'applicazione di opportuni test statistici (es. test del "chi quadro").

La prevalenza di calcolosi in Basilicata

L'incidenza della calcolosi in Basilicata è stata ricostruita retrospettivamente utilizzando i dati regionali di ricoveri per calcolosi. Il numero di calcolosi in Basilicata, diminuisce dal 2003 al 2005. Il numero dei malati di genere maschile è sempre maggiore di quello delle femmine.

I casi di calcolosi del periodo 2003-2005 sono stati, poi, stratificati per fasce di età. La fascia più colpita è quella tra i 40-59 anni, con un incremento repentino nell'anno 2005 dei malati di età maggiore di 70 anni. Gli adolescenti ed i neonati sono relativamente poco colpiti da questa malattia. I casi di calcolosi sono stati rapportati, poi, alla popolazione regionale media annua per calcolare il tasso di prevalenza media annua su 1000 abitanti. In base ad una popolazione regionale media annua pari a circa 597000 residenti in regione (da stime intercensuali ISTAT), si registrano circa 10 malati di calcolosi all'anno su 1000 residenti in Basilicata.

Il tasso di prevalenza a livello regionale è superato da quello delle aree di competenza di alcune ASL (Azienda Sanitaria Locale) della regione. I tassi calcolati sono stati cartografati a creare delle mappe di prevalenza (fig. 1) per facilitare l'identificazione di concentramenti di casi in determinate aree. I tassi di prevalenza maggiori si registrano per le ASL di dominio appenninico (N-NW della regione).

Questa osservazione è verificata anche se mappiamo i tassi di prevalenza media an-



Figura 1. Tassi di prevalenza medi per gli anni 2003/2004/2005 delle 5 ASL regionali.

nuale per i singoli comuni della regione (fig. 2). Una prevalenza media maggiore di 12‰ abitanti si rileva in comuni della zona N-NW della regione, ad eccezione di qualche caso isolato nella parte meridionale.

I tassi sono standardizzati rispetto ad una popolazione media comunale di riferimento (per genere e per fasce di età), per rendere confrontabili i tassi di comuni con dimensioni nettamente diverse. La presente indagine di epidemiologia geografica ha consentito di fotografare la distribuzione spaziale della prevalenza per questa patologia su tutto il territorio regionale e di evidenziare i comuni o le aree particolarmente significative in termini di rischio per la popolazione, dove concentrare ulteriormente l'attenzione per identificare i possibili fattori eziologici relativi a tale patologia.

I fattori di rischio per la calcolosi in Basilicata

L'approccio allo studio della calcolosi in Basilicata si basa sulla verifica di quali tra i maggiori fattori di rischio accreditati dalla letteratura scientifica sono maggiormente influenzanti la prevalenza dei casi di calcolosi nei comuni lucani. Allo stesso modo sono stati considerati altri fattori che potenzialmente possono essere candidati a diventare

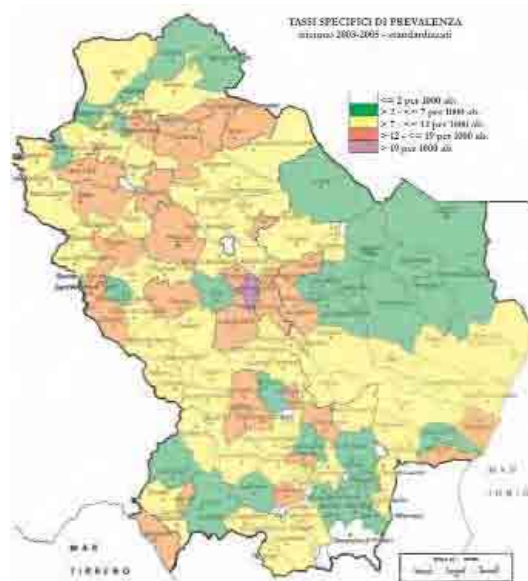


Figura 2. Tassi di prevalenza specifici per singolo comune per il periodo 2003-2005.

di rischio nel contesto di studio.

Non è stata eseguita una semplice comparazione visiva fra le mappe di distribuzione del fattore di rischio e la mappa di distribuzione della prevalenza di calcolosi, ma una valutazione statistica della probabilità di presenza di una associazione attraverso il su citato Odds ratio.

Il primo fattore di rischio valutato è stato il genere, onde verificare se l'appartenenza al genere maschile è da considerarsi un rischio per lo sviluppo di calcoli anche in Basilicata. In base al valore dell'Odds ratio possiamo stabilire la presenza o meno di una associazione. In questo caso $OR=1.2$ ($p<0.01$, che indica qual è la probabilità che l'associazione considerata sia dovuta al caso) esiste una associazione, anche se debole.

Un altro fattore di rischio è l'età del soggetto. La verifica di una associazione tra questo determinante e la malattia è stata fatta con diversi intervalli di età: maggiore di 40 anni, 30-59 anni e 40-59 anni. I due determinanti genere ed età sono stati poi combinati.

Dal calcolo dell'Odds ratio, risulta che esiste una associazione positiva tra determinante e malattia ($OR > 1$ $p < 0.01$), che diventa più che forte ($OR=1.98$ $p < 0.01$) per la fascia di età

40-59 anni riferita a pazienti di genere maschile.

Tra i fattori di rischio ambientali, il primo ad essere stato valutato è il clima inteso come le temperature medie annue a cui sono sottoposti i residenti dei vari comuni lucani. Nello studio sono stati utilizzati dati di temperatura media (Stelluti et al., 2004). Sulla base della distribuzione delle temperature medie annue, sono riconoscibili aree caratterizzate dai più bassi valori termici, soprattutto in prossimità dei rilievi più alti (temperatura media annua di circa 9-11 °C), zone più calde, al livello del mare (temperatura media annua di circa 15.5-15.8°C) e zone con temperature intermedie (temperatura media annua di circa 14.0-15.0 °C). E' stato considerato come fattore di rischio un'esposizione a temperature medie-alte, corrispondente a valori al di sopra di 13°C. Ancora una volta, oltre ad essere valutato il singolo fattore di rischio, sono stati combinati i determinati individuati fino ad ora.

In tutti i casi è emersa la presenza di una associazione non casuale, ma di tipo inverso ($OR < 1$ $p < 0.01$). Questo sta a significare che l'alta temperatura non è un fattore di rischio, anzi ha un effetto che potremmo definire "protettivo" nei confronti della malattia.

Dall'esame dei dati di temperatura si evince che le temperature massime, medie e, in misura minore, le minime, sono altamente e positivamente correlate con la quota sul livello del mare del territorio lucano. L'altitudine influenza anche lo stile di vita dei residenti con un maggior apporto di proteine animali nella dieta, che è considerato un fattore di rischio. Sulla base di questa assunzione è stata valutata l'associazione tra altitudine dei comuni lucani e la prevalenza di calcolosi. Un'altitudine maggiore di 600 metri s.l.m. è stata considerata a rischio. I valori dell'Odds ratio > 1.4 ($p < 0.01$), confermano tale ipotesi. Tra i fattori di rischio legati alle abitudini alimentari, rientra l'assunzione dei liquidi e in particolare dell'acqua. Dai dati di letteratura è emersa la controversia tra chi suggerisce l'utilizzo di acqua ricca in calcio e chi la sconsiglia. Premesso comunque, che il consumo

di acque poco dure favorisce la prevenzione dallo sviluppo di calcoli, è stato valutato quale fattore di rischio la maggiore durezza delle acque (concentrazione totale di calcio e magnesio, espressa con il grado francese °f, che corrisponde a 10 milligrammi/litro di $CaCO_3$). Sulla base dei dati messi a disposizione dell'Acquedotto Lucano per l'anno 2006, ad ogni comune è stato assegnato un valore medio di durezza delle acque. Per il calcolo a livello regionale è stato assunto un rischio a partire da una durezza maggiore di circa 30°f, corrispondente ad acque dure, sulla base della più diffusa classificazione della durezza delle acque.

In Basilicata, alla luce della valutazione dell'associazione tra determinate e malattia, sembra che un consumo di acque ricche in calcio aggrava lo sviluppo di calcolosi ($OR > 1.2$ $p < 0.01$). Combinando a questo fattore di rischio, gli altri individuati in precedenza, i valori dell'OR si mantengono al di sopra dell'unità.

Conclusioni

Sulla base dei primi risultati ottenuti è possibile trarre delle conclusioni, ma bisogna innanzitutto ricordare che anche quando la statistica afferma che "l'associazione non è casuale", resta ancora da dimostrare che i due fattori siano legati da un rapporto causale-effetto. In altre parole, "associazione" non è sinonimo di "causalità".

Le associazioni riscontrate devono essere, quindi, avvalorate da ulteriori analisi, pertanto è in atto una campagna di raccolta di calcoli e di urine di pazienti calcolotici residenti in Basilicata, volta alla identificazione morfocomposizionale dei biominerali per meglio selezionare i maggiori determinanti la malattia.

In conclusione si può affermare che:

- I fattori che possono contribuire alla distribuzione di un maggiore tasso di prevalenza di calcolosi nelle aree di dominio appenninico in Basilicata sono: il genere maschile, un'età compresa tra i 40-59 anni, le basse temperature, l'alta altitudine per una dieta ricca in proteine animali e la durezza delle

acque. La combinazione di questi e di altri fattori può spiegare perché vivere in alcune aree della Basilicata aumenterebbe il rischio di formazione di calcoli renali.

- Lo sviluppo della calcolosi deve avere un approccio multidisciplinare per la varietà di fattori che entrano in gioco nella formazione dei calcoli;
- L'approccio metodologico utilizzato per questo studio è estensibile ad aree geografiche diverse ma non sono facilmente estensibili i risultati ottenuti perché vincolati alle condizioni ambientali del caso di studio.

Referenze

- Ackermann, D., Baumann, J.M., Futterlieb, A., Zingg, E.J., 1988. Influence of calcium content in mineral water on chemistry and crystallization conditions in urine of calcium stone formers. *Eur Urol.*, 14, 305-308.
- Baggio, B., 1999. Genetic and dietary factors in idiopathic calcium nephrolithiasis. What do we have, what do we need?. *J. Nephrol.*, 12, 371-374.
- Bellizzi, V., De Nicola, L., Minutolo, R., 1999. Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis. *Nephron.*, 81(suppl. 1), 66-70.
- Borghi, L., Meschi, T., Amato, F., Briganti, A., Novarini, A., Giannini, A., 1996. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *Journal of Urology*, 155, 839-843.
- Borghi, L., Meschi, T., Maggiore, U., Prati, B., 2006. Dietary therapy in idiopathic nephrolithiasis. *Nutrition reviews*, 64 (7), 301-312.
- Borsatti, A., 1991. Calcium oxalate nephrolithiasis: defective oxalate transport. *Kidney Int.*, 39, 1283-1298.
- Brinkley, L.J., Gregory, J., Pak, C.Y.C., 1990. A further study of oxalate bioavailability in foods. *J. Urol.*, 144, 94-96.
- Candarella, R., Rizzoli, E., Buffa, A., Bottura, A., Stefoni, S., 1998. Comparative study of the influence of 3 types of mineral water in patients with idiopathic calcium lithiasis. *J. Urol.*, 159, 658-663.
- Curhan, G.C., Willett, W.C., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., 1993. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Engl J Med*, 328, 833-838.
- Curhan, G.C., Curhan, S.G., 1994. Dietary factors and kidney stone formation. *Compr Ther.*, 20, 485-489.
- Curhan, G.C., Willett, W.C., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., 1997a. Family History and Risk of Kidney Stones. *J Am Soc Nephro*, 8, 1568-1573.
- Curhan, G.C., Willet, W.C., Speizer, F.E., Spiegelman, D., Stampfer, M.J., 1997b. Comparison of dietary calcium with supplemental calcium and other nutrients as factors affecting the risk for kidney stones in women. *Ann Inter Med.*, 126, 497-504.
- Daudon, M., Dore, J.C., Jungers, P., Lacourt, B., 2004. Changes in stone composition according to age and gender of patients: a multivariate epidemiological approach. *Urological research*, 32(3), 241-247.
- Elliott, J.C., 2002. Biominerals – overview. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 48, 427-453.
- Felici, M.L., 2005. Fattori ambientali e salute: il ruolo degli elementi in traccia nella salute umana. *Periodico Trimestrale della Società Italiana di Geologia Ambientale*. Anno XIII, n.3, 8-15.
- Goldfarb, D.S., Fischer, M.E., Keich, Y., Goldberg, J., 2005. A twin study of genetic and dietary influences of nephrolithiasis: a report from the Vietnam Era Twin (VET) Registry. *Kidney International*, 67, 1053-1061.
- Hesse, A., Brandle, E., Wilbert, D., Kohrmann, K.U., Alken, P., 2003. Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *European urology*, 44(6), 709-713.
- Johnson, C.M., Wilson, D.M., O'Fallon, W.M., Malek, R.S., Kurland, L.T., 1979. Renal stone epidemiology: a 25-year study in Rochester, Minnesota. *Kidney Int.*, 16, 624-631.
- Kavanagh, J.P., 1992. Methods for the study of calcium-oxalate crystallization and their application to urolithiasis research. *Scanning*

Microscopy, 6, 685-705.

Komatina, M.M., 2004. Medical Geology: Effects of geological environments on human health. Elsevier, 488 pp.

Parry, E.S., Lister, I.S., 1975. Sunlight and hypercalciuria. *Lancet*, I, 1063-1065.

Ramello, A., Vitale, C., Marangella, M., 2000. Epidemiology of nephrolithiasis. *Journal of nephrology*, 13, S45-S50.

Robertson, W.G., Peacock, M., Baker, M., 1983. Studies on the prevalence and epidemiology of urinary stone disease in men in Leeds. *Br J Urol*, 55, 595-598.

Rodgers, A.L., 1997. Effect of mineral water containing calcium and magnesium on calcium oxalate urolithiasis risk factors. *Urol Int.*, 58, 92-99.

Schwille, P.O., Herrmann, U., 1992. Environmental factors in the pathophysiology of recurrent idiopathic calcium urolithiasis (RCU), with emphasis on nutrition. *Urol Res.*, 20, 72-83.

Serio, A., Fraioli, A., 1999. Epidemiology of nephrolithiasis. *Nephron*, 81(suppl 1), 26-30.

Shuster, J., Finlayson, B., Scheaffer, R.L., Sierakowski, R., Zoltek, J., Dzegede, S., 1985. Primary liquid intake and urinary stone disease. *J Chron Dis.*, 38, 907-914.

Stelluti, M., Rana, G., 2004. Caratterizzazione climatologia della Basilicata. ISSN 0304 – 0615, Istituto Sperimentale Agronomico, Bari, 55 pp.

Strauss, A.L., Coe, F.L., Deutsch, L., Parks, J.H., 1982. Factors that predict relapse of calcium nephrolithiasis during treatment: a prospective study. *Am J Med.*, 72, 17-24.

Wasserstein, A.G., Stolley, P.D., Soper, K.A., Goldfarb, S., Maislin, G., Agus, Z., 1987. Case-control study of risk factors for idiopathic calcium nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab*, 13, 85-95.

TERRITORIO, RADIOATTIVITÀ NATURALE E SALUTE IN ALCUNE AREE DELLA SARDEGNA. PRIME OSSERVAZIONI ED AFFINAMENTO DELLE TECNICHE

TERRITORY, NATURAL RADIOACTIVITY AND HEALTH IN SOME PLACES OF SARDINIA

Aurea Lumbau¹, Donatella Carboni², Sergio Ginesu³, Laura Schinocca¹, Stefania Sias³, Giacomo Chessa¹

¹Dipartimento Strutture Specialità Microchirurgiche, Sezione Odontostomatologia, Università degli Studi di Sassari, Viale San Pietro, 43/C, 07100 Sassari. E-mail: alumbau@uniss.it

²Dipartimento Teorie e Ricerche dei Sistemi Culturali, Università degli Studi di Sassari, Piazza Conte di Morgana 8, 07100 Sassari. E-mail: carbonid@uniss.it

³Istituto di Scienze Geologico Mineralogiche. Università degli Studi di Sassari, Corso Angioi 10, 07100 Sassari. E-mail: ginesu@uniss.it

Abstract

The radioactive pollution in Sardinia, has been in the recent years matter of a considerable debat in the scientific literature. At the present time however, the complex problem of possible interaction between environmental and human activity in a long suitable period is still awaiting a adequate interpretation. At the end of 70 years, the Italian Nuclear AGIP survey has been carried out detailed researches on U ore deposits linked to the fast sedimentation processes in lacustrine environments associated to the post-collisional events during the paenipleining process of Sardinia chain. Particularly, researches focused on siltites and sandstones levels belonging to the post-collisional covers referred to the Permian-Carboniferous time span outcropping in several areas of Sardinia island. Collected data indicate important radioactive anomalies localized in Ogliastra and Sarcidano regions in the central and southern Sardinia. These areas are characterized by a high natural background radioactive values; suitable knowledge elements are offered by the comparison between data collected in the present work in the Escalaplano and Perdasdefogu areas with those of Nuclear AGIP during the 70¹ years. Further relationships between human

activity and environment will be indicated by data collected on dental apparates because they record the interaction of the organism with pollutant substances. As a consequence, it is expected the possibility to reconstruct history and length of interaction processes with pollutant substances, because during the formation of dental germs the vascularisation favoured the mobility of chemical elements which successively are fixed in the mineral fraction of teeths. The scenario has reconstructed on account of a precise evaluation of human pollution and linked to the recent complex socio-economical history of investigated areas. Moreover, will be studied the human impact on environment to and the possible radioactive anomalies in the investigated areas.

Premessa

In questi ultimi anni in Sardegna è aumentata, in modo esponenziale, l'attenzione al problema delle servitù militari che occupano vaste aree dell'isola, producendo un volano economico per molte zone interne e, limitando, talvolta, l'accesso ai territori occupati spesso teatro di esercitazioni militari, talvolta sperimentali. Il dibattito si è particolarmente acceso verso il caso dell'uranio impoverito e sono state avanzate alcune ipotesi nell'uso

di tali metodi in esercitazioni effettuate nel poligono missilistico di Perdasdefogu, nell'Ogliastra interna. Come conseguenza di questo interesse, il Ministero della Difesa ha dato incarico alle Università di Siena e di Cagliari di effettuare uno studio all'interno del poligono militare al fine di osservare eventuali tracce di elementi radioattivi o comunque dannosi per l'ambiente e per l'individuo (Ministero Difesa et al., 2004). Più o meno nello stesso periodo, è stata nominata una commissione parlamentare al fine di investigare sullo stesso problema. Entrambe le iniziative non hanno evidenziato dati di particolare rischio: l'indagine di tipo geochimico, effettuata dalle due sedi universitarie, ha portato all'identificazione di alcuni elementi pericolosi nel suolo, legati comunque all'attività estrattiva delle miniere argentifere di Baccu Locci e del Sarcidano, site in prossimità del poligono e dismesse da decenni. La Commissione Parlamentare d'inchiesta del Senato della Repubblica, in missione in Sardegna con il compito di indagare sui casi di morte e gravi malattie che hanno colpito il personale militare italiano impiegato nelle missioni internazionali di pace, è giunta alla conclusione che non vi sono elementi per provare la presenza di prodotti "radioattivi" utilizzati nelle esercitazioni delle basi (Regione Autonoma Sardegna et al., 2005). Tuttavia, alcune segnalazioni atte a dimostrare un possibile "inquinamento" radioattivo riguardano casi di bambini ed animali nati con gravi malformazioni nella zona di Escalaplano e nell'area limitrofa di Perdasdefogu; altre, tra cui quella di un geologo, riportano condizioni critiche per sorgenti e falde nel territorio di Escalaplano. A seguito di tali iniziative, ed al fine di produrre nuovi dati per la conoscenza del problema, si è ritenuto opportuno avviare una ricerca sulla base di informazioni in nostro possesso (Ginesu, 1976-1977) relative proprio all'area di Escalaplano e Perdasdefogu supportandole con nuove indagini volte ad individuare un possibile rapporto tra il territorio, le anomalie radiometriche naturali (riscontrate in quei territori circa 30 anni fa) e la salute dell'uomo.

L'assetto del territorio

I due comuni oggetto d'indagine, Perdasdefogu ed Escalaplano sono parte integrante di due sub-regioni sarde, l'Ogliastra e il Sarcidano, difficilmente accessibili, nonostante la relativa vicinanza, in linea d'aria, a Nuoro e a Cagliari. L'isolamento, dovuto sia ai caratteri fisici che alle difficoltà dei collegamenti, ha preservato questi ambienti e le loro tradizioni, consegnandoli sostanzialmente intatti. Infatti, la particolare configurazione orografica ha reso episodica non solo la comunicazione con l'esterno, ma anche le relazioni tra gli abitati. Ciò ha consentito a ciascun paese di mantenere forti le proprie peculiarità sia in termini demografici, che economici e culturali. Un'altra conseguenza positiva, secondaria alla difficoltà di accesso a questa terra è che il suo importante patrimonio ambientale è rimasto sostanzialmente intatto nel tempo. Nelle due sub-regioni convivono oggi, però, due realtà molto diverse quanto ad articolazione e specializzazione delle attività. La parte montana ha un'economia prevalentemente agro-pastorale, con una buona presenza della silvicoltura e di lavorazioni artigianali nell'agroalimentare e nella meccanica; la fascia costiera, un tempo poco abitata e prevalentemente dedicata all'agricoltura, ha conosciuto negli ultimi decenni un forte sviluppo, iniziato negli anni Sessanta con l'affermazione dell'industria turistica e, marginalmente, quella industriale. Una condizione alquanto diversa caratterizza la parte meridionale interna di quest'area che subisce una crescente marginalizzazione in linea con quanto accade in buona parte del Sarcidano. L'economia del Sarcidano è imperniata, infatti, soprattutto sull'attività agricola, sull'edilizia e sul piccolo commercio, ed è quella che risente di più del difetto di diversificazione della struttura produttiva (Saba, 2003; Regione Autonoma della Sardegna, 2005). I due mondi descritti solo in parte si parlano sul piano economico, costituendo in buona misura delle enclaves separate che, come affermato in precedenza, si guardano ancora troppo da lontano. Le due realtà potrebbero invece notevolmente beneficiare della

messa in comune delle diverse e complementari specificità. Così come l'economia nelle due sub-regioni cresce in un numero contenuto di centri, a macchia di leopardo, la crescita demografica interessa esclusivamente alcuni comuni costieri e pochissimi centri dell'interno e il deflusso migratorio netto, specie di giovani, non si verifica soltanto dalle località minori dell'interno, ma riguarda anche comuni più grandi (www.istat.it).

Al fine di conoscere la specializzazione produttiva dei territori dei due comuni con maggior dettaglio, ci si è avvalsi dei Censimenti della Popolazione, dell'Agricoltura, dell'Industria e dei Servizi, delle fonti storiografiche, nonché delle indicazioni fornite da un certo numero di operatori locali pubblici e privati. L'analisi dei dati consente di affermare che la popolazione dei due comuni ha subito un incremento sino agli anni Sessanta per Escalaplano e fino agli anni Settanta per Perdasdefogu e poi ha invertito il proprio andamento demografico; tale trend è ancora oggi in atto (Tab. 1). Lo spopolamento dei due comuni è dovuto, per Perdasdefogu soprattutto alla mancanza di lavoro, causa comune a tutti i paesi delle zone interne della Sardegna, nonché alla riduzione della presenza militare nella base; invece, per Escalaplano è stato causato dal fatto che numerosi abitanti hanno trovato lavoro come minatori nelle miniere di fluorite di Silius, o per la forte emigrazione. Una svolta decisiva per il paese di Perdasdefogu si ebbe a partire dal 1956, anno d'insediamento del poligono interforze del Salto di Quirra. Questo evento portò grandi cambiamenti con l'assunzione di molti civili del paese, o militari sia di Perdasdefogu, sia dei paesi limitrofi o di altre aree. Cambiò anche l'aspetto dell'abitato con la costruzione di numerose case, utilizzate anche come abitazione di residenza dai militari, che portarono all'espansione urbana del paese.

I dati del censimento 2001 evidenziano come il tasso di attività fosse per Perdasdefogu pari a 42,70% e ad Escalaplano pari a 37,49% rispettivamente, quasi in media ai dati regionali o decisamente inferiore

(47,29%), mentre si conferma una generalizzata preoccupazione per l'elevato tasso di disoccupazione soprattutto per Escalaplano che esprime valori pari a 25,33% decisamente inferiore a Perdasdefogu 13,11% (media regionale 21,66%). Approfondendo l'analisi, possiamo notare che il tasso di disoccupazione giovanile è notevolmente superiore, denunciando una situazione particolarmente scoraggiante per i giovani in entrambe le località (www.istat.it).

Il sistema agropastorale gioca ancora un ruolo relativamente importante nel sistema economico soprattutto di Escalaplano (9%), così le attività produttive industriali (45%) che si riferiscono per lo più a piccole attività, ma la peculiarità del comune risiede nella rilevanza del fenomeno artigiano. Perdasdefogu, invece, conta ben il 78% della popolazione attiva dedicata al settore terziario contro il 46% di Escalaplano (Tab. 2).

Il quadro geologico e gli studi precedenti

Le prime indagini per la ricerca di minerali radioattivi effettuate in Sardegna risalgono alla metà degli anni Cinquanta quando la SO.MI.R.E.N., del gruppo ENI, effettuò un'indagine conoscitiva nell'ambito di una ricerca sistematica di minerali d'uranio, in alcune aree dell'isola in cui le condizioni geologiche si mostravano favorevoli alla scoperta di nuovi giacimenti (Pietracaprina, 1963). Pertanto, nell'aprile del 1956 la società intraprese una campagna di prospezione per individuare eventuali mineralizzazioni dell'elemento.

L'indagine riguardò vaste zone della Sardegna, in particolare alcune sub-regioni come il Sulcis, l'Arburese, il Sarrabus, il Gerrei, l'Ogliastra, la Barbagia, la Gallura e la Nurra (circa il 70% dell'isola; Fig. 1).

In quegli anni i temi della ricerca uranifera si concentravano prevalentemente sulle rocce di tipo magmatico intrusivo e sulle rocce metamorfiche; questa linea d'indagine derivava dalla considerazione che nelle rocce eruttive e metamorfiche le percentuali di uranio e di minerali radioattivi sono in stretta connessione con gli stadi di differenziazione magmati-

Tabella 1.

A - Popolazione residente attiva in condizione professionale, per sesso e ramo di attività economica nel comune di Escalaplano al 2001

Agricoltura, caccia e pesca	Industrie estrattive e manifatturiere	Costruzioni ed impianti	Energia elettrica, gas e acqua	Trasporti e comunicazioni	Commercio e servizi vari	Credito e assicurazioni	Pubblica amministrazione	Totale
42	41	154	9	21	56	2	134	459

B - Forza lavoro e condizione professionale nel comune di Escalaplano al 2001

Forza lavoro			Condizione				Totale	Totale complessivo
Occupati	In cerca di prima occupazione	Totale	Studenti	Casalinghe	Ritirati dal lavoro	In altra condizione		
613	208	821	183	303	516	367	1.369	2.190

C - Tassi di attività e disoccupazione nel comune di Escalaplano al 2001

Tasso di attività	Tasso di occupazione	Tasso di disoccupazione	Tasso di disoccupazione giovanile
37,49	27,99	25,33	51,92

D - Popolazione residente attiva in condizione professionale, per sesso e ramo di attività economica nel comune di Perdasdefogu al 2001

Agricoltura, caccia e pesca	Industrie estrattive e manifatturiere	Costruzioni ed impianti	Energia elettrica, gas e acqua	Trasporti e comunicazioni	Commercio e servizi vari	Credito e assicurazioni	Pubblica amministrazione	Totale
20	38	52	8	14	113	2	281	528

E - Forza lavoro e condizione professionale nel comune di Perdasdefogu al 2001

Forza lavoro			Condizione				Totale	Totale complessivo
Occupati	In cerca di prima occupazione	Totale	Studenti	Casalinghe	Ritirati dal lavoro	In altra condizione		
742	112	854	180	295	387	284	1.146	2.000

F - Tassi di attività e disoccupazione nel comune di Perdasdefogu al 2001

Tasso di attività	Tasso di occupazione	Tasso di disoccupazione	Tasso di disoccupazione giovanile
42,70	37,10	13,11	37,78

G - Andamento demografico nei due comuni dal 2002 al 2007

	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Perdasdefogu	2.333	2.332	2.316	2.291	2.262	2.239
Escalaplano	2.523	2.479	2.448	2.414	2.385	2.379

Fonte Istat.

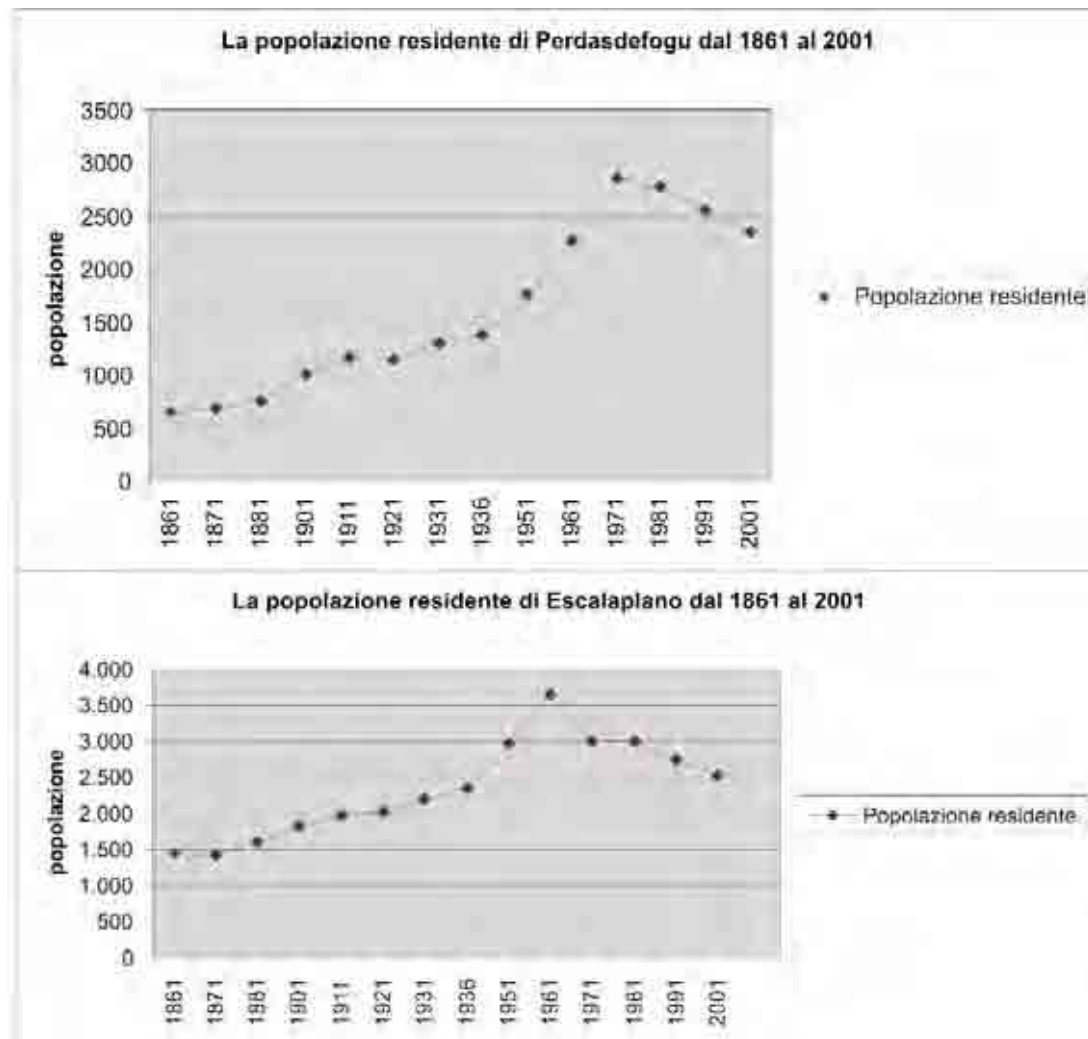
ca, con possibile diffusione e concentrazione utile del minerale; furono totalmente trascurate le rocce di natura sedimentaria, ove il processo di dispersione del minerale finiva per interessare aree particolarmente estese, rendendo, in tal modo, insignificante la presenza del minerale.

La prospezione iniziale confortò queste indicazioni e permise di ottenere "valori di fondo" per le singole litologie che il successivo rilievo sul terreno andrà a confermare (Tab. 3). La ricerca effettuata condusse ad alcune interessanti osservazioni sul rapporto esistente tra minerali radioattivi e substrato ercinico e pre-ercinico, confermando le intuizioni espresse in quegli anni (Zuffardi, 1956). L'indagine individuò molti siti di nessun interesse industriale e svelò un'anomalia radiome-

trica di particolare significato indagata a fondo con lavori in galleria (nel sottosuolo). L'anomalia venne ubicata nell'area del Basso Sulcis, il territorio di Arcu Su Linnarbu-San Leone presso il centro abitato di Capoterra. In quell'area è presente la miniera di ferro di San Leone la quale permise un'indagine più approfondita anche all'interno delle gallerie esistenti e nelle discariche già abbandonate e dismesse; vennero individuati molti minerali d'uranio diffusi nella zona, con concentrazioni puntiformi e focalizzate in alcune aree, sempre lontane dai centri abitati ed in situazioni di elevata naturalità.

Dopo circa 20 anni la rinnovata società di ricerche di minerali d'uranio dell'ENI, divenuta AGIP Nucleare, tra i temi di interesse, nella ricerca sui minerali d'uranio, promosse una

Tabella 2.



nuova indagine in Sardegna, uno studio interno, al fine di definire metodi procedurali (Prato, Mariani, 1976). Pertanto, nel corso del gennaio 1976 venne condotto uno studio al fine di definire i temi di ricerca sull'esplorazione uranifera in Sardegna; tale ricerca portò all'individuazione di alcune formazioni geologiche che avrebbero potuto rappresentare aree di possibile interesse minerario sulla base dei nuovi temi di prospezione che in quegli anni si conducevano in tutto il mondo. Il principio di tali ricerche era da individuarsi nei depositi continentali e/o di transizione, generatisi per l'erosione e il disfacimento del

basamento e delle coperture effusive del Paleozoico; pertanto, inizialmente, gli obiettivi della ricerca furono individuati nelle litologie seguenti:

- Facies di transizione nelle Arenarie di San Vito;
- Facies clastiche costiere dei complessi vulcanici clastici;
- Arenarie trasgressive nel "Postgotlandiano";
- Depositi fluvio lacustri permiani (e livelli trasgressivi mesozoici).

Le aree soggette alla nuova indagine vennero individuate nell'ambito dei bacini del tardo

Tabella 3. Valori radiometrici di fondo nelle rocce della Sardegna (Pietracaprina, 1963; rielaborato).

Roccia	Fondo minimo e massimo (media)	
Complesso metamorfico del Paleozoico		
Porfiroidi	2.2 imp./sec.	3.2 imp./sec.
Cornubianiti	2.2 imp./sec.	3.0 imp./sec.
Micascisti	2.0 imp./sec.	2.5 imp./sec.
Scisti sericitici	2.0 imp./sec.	2.2 imp./sec.
Scisti quarziticci	1.5 imp./sec.	1.6 imp./sec.
Quartziti	1.5 imp./sec.	3.0 imp./sec.
Gneiss	1.4 imp./sec.	2.0 imp./sec.
Scisti argillosi	1.4 imp./sec.	1.7 imp./sec.
Scisti filladici	1.3 imp./sec.	1.6 imp./sec.
Quartziti filladiche	1.2 imp./sec.	1.4 imp./sec.
Scisti arenacei	1.0 imp./sec.	1.5 imp./sec.
Filladi	0.9 imp./sec.	1.7 imp./sec.
Filladi micacei	0.9 imp./sec.	1.7 imp./sec.
Complesso eruttivo intrusivo del Paleozoico		
Graniti porfirici	3.0 imp./sec.	3.2 imp./sec.
Graniti biotitici	2.5 imp./sec.	3.2 imp./sec.
Gabbro- Dioriti	2.0 imp./sec.	2.4 imp./sec.
Granodioriti	1.3 imp./sec.	2.4 imp./sec.
Tonaliti	1.1 imp./sec.	2.1 imp./sec.
Complesso eruttivo-Effusivo		
Porfidi quarziferi	2.1 imp./sec.	3.0 imp./sec.
Porfidi granitici	2.0 imp./sec.	2.7 imp./sec.
Andesiti terziarie	1.7 imp./sec.	1.9 imp./sec.
Basalti Plio-Quat.	0.9 imp./sec.	1.6 imp./sec.
Complesso filoniano paleozoico		
Filoni di qz. bruno	2.5 imp./sec.	2.7 imp./sec.
Filoni microgranitici	1.8 imp./sec.	2.5 imp./sec.
Filoni lamprofirici	1.5 imp./sec.	1.8 imp./sec.
Filoni dioritici	1.4 imp./sec.	1.9 imp./sec.
Filoni porfido granitici	1.4 imp./sec.	2.0 imp./sec.
Filoni pegmatitici	1.2 imp./sec.	3.0 imp./sec.
Filoni di qz. bianco	0.9 imp./sec.	2.0 imp./sec.
Filoni di barite	0.8 imp./sec.	1.7 imp./sec.
Filoni aplitici	0.8 imp./sec.	2.4 imp./sec.
Complesso sedimentario		
Calcari mesozoici	1.2 imp./sec.	1.6 imp./sec.
Alluvioni quaternarie	1.2 imp./sec.	1.4 imp./sec.
Conglomerati terziari	1.2 imp./sec.	1.3 imp./sec.
Calcari paleozoici	1.0 imp./sec.	1.6 imp./sec.
Arenarie terziarie	1.0 imp./sec.	1.2 imp./sec.
Arenarie marnose	1.0 imp./sec.	1.2 imp./sec.
Marni terziarie	0.9 imp./sec.	1.5 imp./sec.
Marni argillose	0.9 imp./sec.	1.4 imp./sec.
Argille terziarie	0.7 imp./sec.	1.2 imp./sec.

Paleozoico (Fig. 2). Sulla base di tali temi e sull'estensione areale delle zone da indagare venne suggerito il rilievo spettrometrico via aerea, con lo strumento sistemato su un elicottero, così come effettuato nella precedente indagine degli anni Cinquanta, ma per i bacini permiani ed i depositi trasgressivi del Permo-Trias si ritenne più opportuno il rilievo a terra.

Le indagini preliminari permisero di indirizzare i rilievi con maggior precisione secondo uno schema indicato da una tabella di potenzialità (Tab. 3) che mise in luce l'ampia casistica presente in Sardegna ed i valori medi rilevati con una rapida campagna speditiva. Dall'analisi della tabella si evinse che le formazioni del Silurico-Devonico del Sarabus presentavano i valori maggiori del fondo radiometrico.

Nell'agosto del 1976 iniziò la campagna di prospezione aerea e sul terreno, secondo lo schema suggerito dal rapporto AGIP (Prato, Mariani, 1976), ma ben presto le indagini condotte per via aerea dimostrarono scarsi risultati mentre le prospezioni a terra condotte da due squadre, su tutti i bacini permiani della Sardegna, condussero alla scoperta di due località di particolare interesse. La prima è localizzata pochi chilometri a nord dell'abitato di Perdasdefogu, in prossimità del Nuraghe Crabas, sul versante sinistro del rio Baccu e'Sortai, dove l'affioramento delle siltiti permiane ha espresso valori "anomali" rispetto alla media, riscontrata in tutto il territorio e negli stessi sedimenti del Permiano. Ulteriori valori anomali furono riscontrati a macchia di leopardo negli affioramenti di siltiti permiane, in particolare presso le aree minerarie dismesse del giacimento antracifero del rio Su Luda. Questi valori, sebbene anomali, non hanno costituito un elemento di particolare interesse nella ricerca uranifera ma tuttavia rappresentarono il primo segnale d'attenzione per la presenza di elementi radiometrici all'interno dei depositi paleozoici detritici post orogenici di quest'area del Sarcidano-Ogliastra (Fig. 3).

La seconda località, situata nell'immediata periferia del centro abitato di Escalaplano,

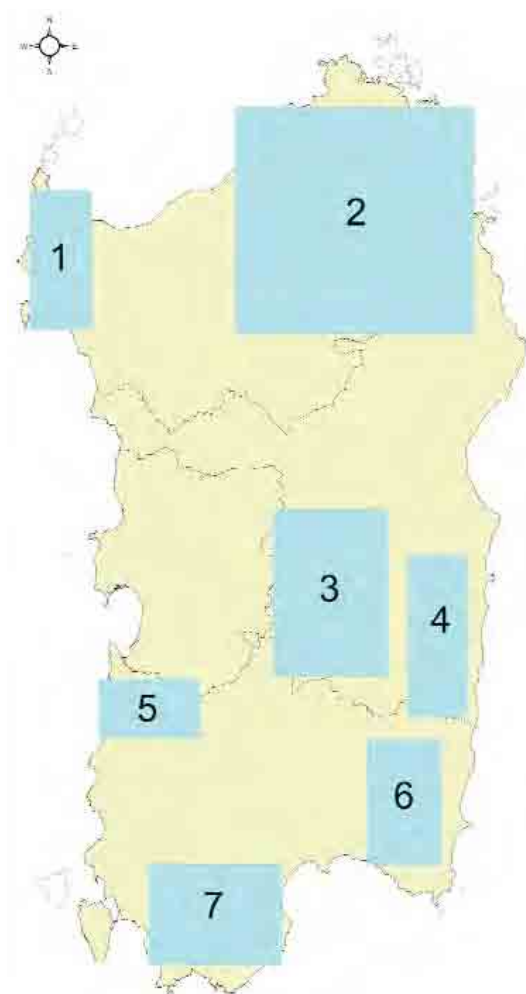


Figura 1. Localizzazione delle aree interessate dalla ricerca d'uranio negli anni Cinquanta. 1. Nurra-Argentiera; 2. Gallura; 3. Barbagia; 4. Baronie-Ogliastra; 5. Arburese; 6. Sarrabus-Gerrei; 7. Sulcis.

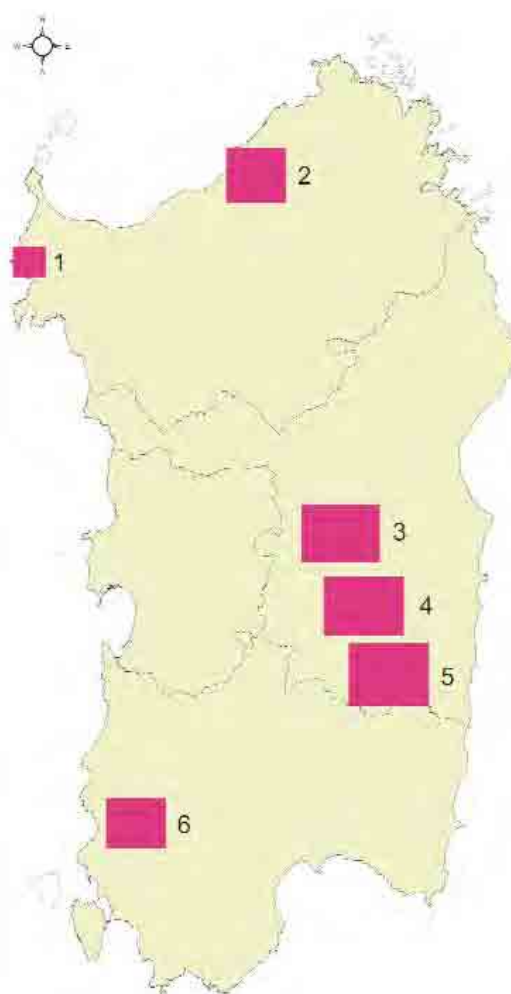


Figura 2. Localizzazione delle aree interessate dalla ricerca d'uranio negli anni Settanta. 1. Nurra; 2. Bortigadas; 3. Seui-Seulo; 4. Ulassai-Gairo; 5. Escalaplano-Perdasdefogu; 6. Gonnesa.

lungo la strada di collegamento verso il sud, in prossimità delle vecchie gallerie minerarie di riu is Ceas e Masoni Pitzudu. In località Trivitteri affiorano i sedimenti detritici del Permiano che si mostrano di notevole interesse radiometrico; in quest'area i valori registrati uscirono fuori scala e gli scintillometri in dotazione non furono in grado di registrarne i valori (superiori ai 15.000 c.p.s.). Nell'area di Trivitteri e in alcune zone limitrofe (rio Piralombus e San Salvatore) i valori aumentavano con la profondità nel suolo in modo proporzionale alle dimensioni dello scavo. I lineamenti geologici e geomorfologici delle

aree che hanno mostrato delle anomalie radiometriche di un certo interesse sono tipiche delle condizioni paleomorfologiche del paesaggio posto orogenico della Sardegna. Infatti, entrambe le aree, quella di Perdasdefogu e l'area di Escalaplano, sono il risultato del colmamento di antiche depressioni da parte dei sedimenti detritici provenienti dall'erosione delle coperture sia pre-permiane che permiane inferiori. Queste successioni sedimentarie sono costituite, in prevalenza, da depositi di tipo alluvionale e lacustre, talora determinate da piccole depressioni tettoniche. La stasi tettonica giunta alla fine del

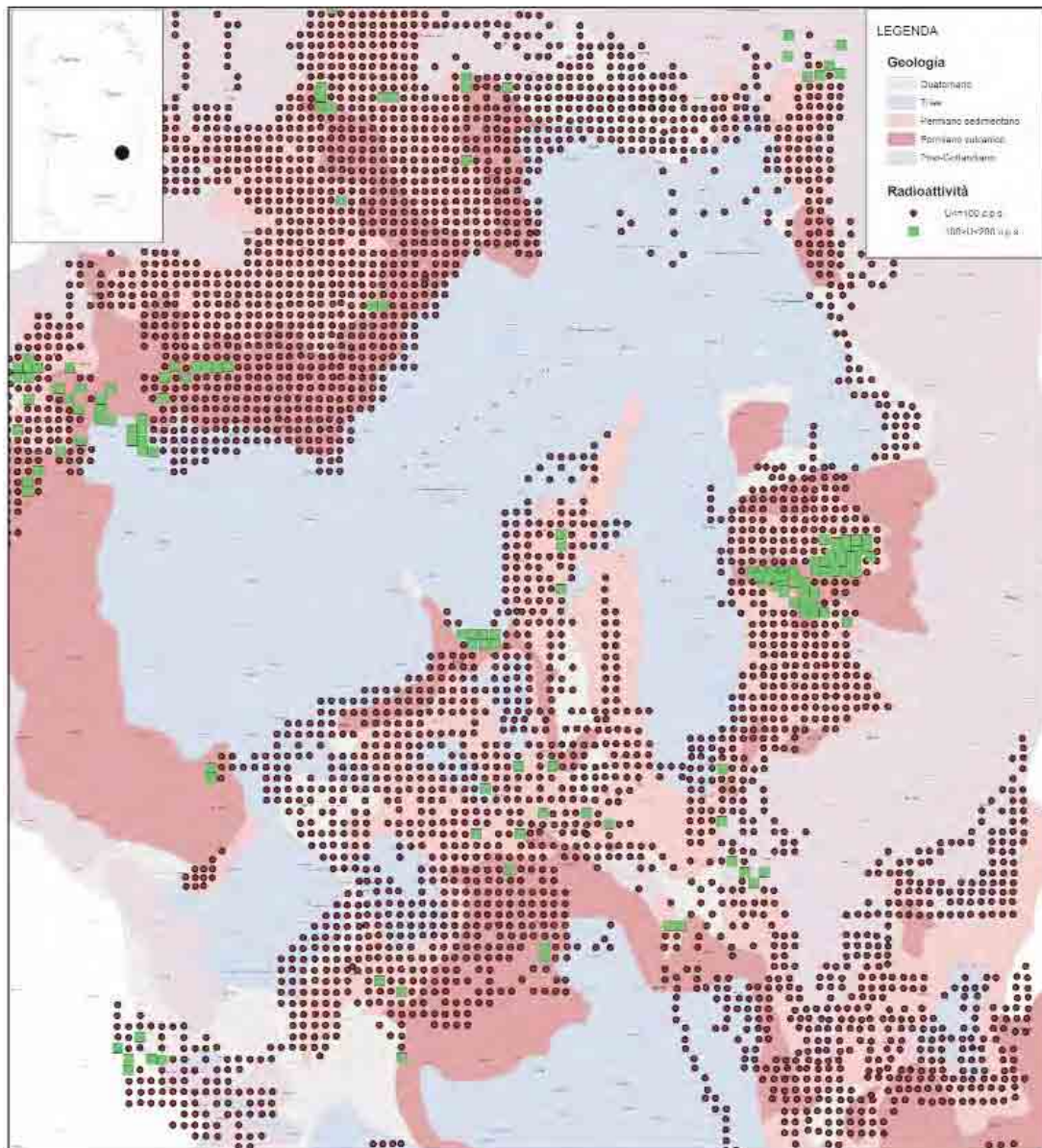


Figura 3. Carta geologica e radiometrica del bacino del rio Luda di Perdasdefogu (Ginesu – Sias).

Paleozoico ha consentito un lento ma progressivo smantellamento dei rilievi ercinici e delle vulcaniti acide post orogeniche che hanno interessato anche il Permiano. Tali vulcaniti si ritrovano associate ai sedimenti fluvio lacustri e sono caratterizzate da termini calcalcalini, nella parte basale, con andesiti, daciti e ignimbriti (Pecorini, G., 1962;1974; Ginesu, 1976; 1976a; 1976b; Cassinis et al., 1996; 2003). Associati a que-

ste formazioni si ritrovano intercalati vari livelli di siltiti carboniose e talvolta orizzonti di antracite che, nel bacino di Seui, sono state oggetto di coltivazione mineraria nella prima metà del 1900. Si deve soprattutto agli episodi effusivi finali se i depositi continentali del Permiano si sono conservati nonostante i lunghi processi erosivi e l'imponente ringiovanimento del paesaggio successivo al Mesozoico. Proprio i sedimenti fini lacustri sono

risultati essere la sede delle anomalie riscontrate nei siti di Perdasdefogu ed Escalaplano, sebbene le condizioni geomorfologiche siano profondamente differenti. Nella zona di Escalaplano il paesaggio è dominato dal basamento metamorfico che verso l'incisione del fiume Flumendosa subisce una rapida trasformazione con il sollevamento degli altopiani basaltici e carbonatici del Sarcidano e dell'Ogliastra; invece, la zona di Perdasdefogu, lungo il corso del rio Su Luda, è dominata da deformazioni gravitative profonde di versante (D.G.P.V.), che hanno coinvolto sul fianco destro gli altopiani carbonatici del Giurassico (Tacchixeddu) e, sull'opposto versante, la potente successione vulcanica del Permiano costituita dalle lave riolitiche ("Porfidi quarziferi" Auct).

I metodi analitici e di confronto

I denti sono degli indicatori biologici importanti perché possono fornire informazioni su sviluppo, nutrizione e/o stress psicologico, esposizione alle malattie ed inquinamento dell'organismo (Sharon, 1988). Cationi bivalenti, come piombo, zinco, cadmio e stronzio, interagiscono e sostituiscono il calcio esavalente nei siti dell'idrossi-apatite (maggiore costituente dell'elemento dentale) $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ nella matrice dello smalto dentale, con conseguente loro inclusione permanente, indice questo di pregressa esposizione ai metalli pesanti (Sharon, 1988; Fergusson et al., 1987; Mathew, Takagi, 2001).

In aggiunta, gli anioni del carbonato (CO_3^{2-}) e del fluoruro (F^-) possono sostituire i siti anionici del fosfato (PO_4^{3-}) e gruppi dell'idrossile (OH^-) nella matrice della bioapatite, rispettivamente (Mathew, Takagi, 2001). Come dichiarato da Losee ed altri, nel 1974, un minimo di 41 elementi sono compresi nel tessuto dello smalto dei denti in crescita e, frequentemente sotto il numero atomico 60 (Nd) (Curzon, Cutress, 1983). Il raggio atomico e la densità della carica sono fattori che influenzano la sostituzione degli elementi nello smalto durante il suo sviluppo e queste modifiche sono riflesse nei denti che a loro

volta ci danno indicazioni circa i cambiamenti chimici ambientali, nutrizionali ed i cambiamenti fisiologici che sono avvenuti nel corso della vita di un individuo (Sharon, 1988; Goodman, Rose, 1990; Goodman et al., 2003; Kang et al., 2004).

Il tessuto dentale mineralizzato, include lo smalto, la dentina, la cavità interna della polpa ed il cemento nella zona della radice (Avery, 1987). Lo smalto è un tessuto inorganico e mineralizzato che ricopre la corona del dente. La sua matrice inorganica si compone di idrossiapatite. La quantità di calcio nello smalto varia da 34 a 39 (%w/w); il contenuto organico è circa 1% del peso con una densità media di 3.0 g cm^{-3} (Curzon, Featherstone, 1983; Tack, 1999). La dentina è biologicamente più attiva dello smalto ed è composta da un più piccolo cristallo di apatite e tende ad essere meno densa rispetto allo smalto. E' più ricca di matrice organica (22% w/w) e contiene acqua per il 10%. Il cemento è uno strato sottile di tessuto, simile all'osso sia nella calcificazione che nelle proprietà, ed è presente nella radice del dente. Il tessuto della cavità della polpa è tra tutti quello più biologicamente attivo, contenendo vasi e nervi, che facilitano la comunicazione fra il tessuto dentale ed il resto del corpo e ne traggono le sostanze nutrienti (Fergusson et al., 1987; Avery, 1987). Lo smalto ha un aspetto stratificato così come gli anelli di un albero: circa 4-6 μm ogni giorno. Lo sviluppo dello smalto comincia dalla cuspidale del dente con strati successivi esterni in direzione radicolare. Lo smalto dentario inizia la sua mineralizzazione durante lo sviluppo fetale (4 mesi nell'utero) conservando dunque memoria degli insulti esterni avvenuti durante la sua formazione (visibile con i difetti presenti sulla sua superficie al momento dell'eruzione). L'intervallo di tempo tra l'eruzione dei primi (incisivi) e degli ultimi (terzi molari) denti offre un range temporale molto ampio tanto renderli un eccellente tessuto per gli studi ambientali di nutrizione e di inquinamento (Sharon, 1988; Avery, 1987).

Dunque, i denti come lo scheletro, accumulano contaminanti come metalli stabili e ra-

radioattivi, che entrano nel corpo. Studi con radioisotopi (radio-226) (Tack, 1999) ed altri metalli hanno stabilito che i loro livelli nei denti sono collegati con il contenuto scheletrico (Pujadas Bigi et al., 2003). Ne consegue che l'analisi dei denti fornisce un'alternativa possibile all'analisi dei campioni di ossa per lo studio sulle variazioni geografiche nella contaminazione da radionuclidi. Ossa e denti, infatti, sono noti per essere sistemi aperti per l'uranio. Ossa attuali e denti hanno concentrazioni molto basse di U ($< 1-50$ ppb), mentre campioni archeologici contengono centinaia di ppm U assunto dall'ambiente circostante (Pujadas Bigi et al., 2003). L'uranio è un elemento naturale che compone circa 2-4 ppm della crosta terrestre e si presenta come componente di molti minerali, quali carnotite, uranite e pitchblenda, ma non si trova allo stato metallico, fa parte degli attinidi ed ha la più alta massa atomica di tutti gli elementi naturali. Nel suo stato purificato, esso è un metallo pesante argenteo-bianco, malleabile, duttile, leggermente paramagnetico e molto denso, secondo solo al tungsteno (Sharon, 1988; Fergusson et al., 1987). Gli effetti sulla salute: i metalli pesanti presentano una notevole affinità chimica per le molecole biologiche contenenti gruppi fosfati (come ad esempio, fosfolipidi e acidi nucleici) o sulfidrilici (come la cisteina, il glutatione, gli ossianioni e molte proteine). Per questo motivo, i metalli pesanti non si trovano negli organismi allo stato di ione libero, ma sempre legati alle biomolecole. Nel caso dell'uranio, i composti più importanti sono gli ossianioni carbonati; il 47% dell'uranio infatti si trova nella forma di $[\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2]_2$, nel sangue ed è stabile a pH neutro. Invece a pH acido, si decompone rapidamente, per cui nelle urine si ritrova lo ione uranile. I rischi associati a questo elemento dipendono sia dalla forma fisica, sia da quella chimica e dal suo livello di arricchimento. La forma chimica ne determina la solubilità, e quindi la sua trasportabilità nei fluidi corporei così come la sua ritenzione nel corpo e negli organi. La tossicità dell'uranio è legata alla sua forma chimica che ne condiziona il legame

con le biomolecole, comportandosi come un metallo pesante. L'inalazione delle componenti insolubili dell'uranio arricchito (90%) ha una patogenicità di tipo radioattivo legata al fatto che questi sali permangono a lungo nel sistema respiratorio e nei vasi linfatici corrispondenti. Gli effetti sulla salute associati con una esposizione orale o cutanea all'uranio naturale e/o impoverito sembra essere solamente di natura chimica e non radioattiva, mentre quelle da inalazione possono anche includere una componente radioattiva leggera, particolarmente se l'esposizione è prolungata. La grande quantità di uranio che entra nel corpo ($>95\%$) non è assorbito ed è eliminato dal corpo attraverso le feci. Una volta nel sangue, l'uranio è distribuito agli organi del corpo. L'uranio nei fluidi biologici generalmente esiste come ione uranile (UO_2^{2+}), e forma complessi con anioni tali come citrati e bicarbonato. L'escrezione dell'uranio assorbito avviene principalmente attraverso i reni. Il potenziale effetto radioattivo non-cancerogeno dell'uranio dipende da parecchi fattori, compresi la forma e la solubilità fisico-chimica, modalità di entrata, distribuzione nei vari organi del corpo, il tempo biologico di permanenza nei vari tessuti e l'energia e l'intensità della radiazione.

Le proprietà non-radioattive e chimiche dell'uranio naturale e impoverito sono identiche; quindi, gli effetti sulla salute si pensa possano essere gli stessi. L'azione chimica di tutti gli isotopi e miscele isotopiche di uranio è identica, senza riguardo all'attività specifica (arricchimento), perché l'azione chimica dipende soltanto dalle proprietà chimiche. Quindi, la tossicità chimica di data quantità o peso di uranio naturale, impoverito ed arricchito è identica. La tossicità dell'uranio varia secondo la relativa forma chimica e l'esposizione. In base alla tossicità dei composti differenti di uranio negli animali, è stato concluso che i composti relativamente più solubili in acqua (nitrato di uranile esaidrato, esafluoruro di uranio, fluoruro di uranile, tetracloruro di uranio, pentacloruro di uranio) sono i più tossici per i reni. I residui meno solubili in acqua (diuranato di sodio, diuranato di ammo-

nio) sono di moderato o basso livello di tossicità per il rene, e i composti insolubili (tetrafluoruro di uranio, triossido di uranio, diossido di uranio, perossido di uranio, octaossido di triuranio) sono meno importanti nel determinare tossicità renale, ma potrebbero causare la tossicità polmonare quando vengono inalati.

Al fine di giungere alla determinazione delle componenti inquinanti sull'elemento dentale si è proceduto a personalizzare le tecniche standard per ottimizzare il risultato. Il metodo si basa sulla chelazione di ioni metallici con ADPC (Ammonio pirrolidinditiocarbammato), successiva estrazione del complesso con MIBK e riestrazione dalla fase organica con acido nitrico. La complessazione e l'estrazione sono possibili in un ampio intervallo di pH; ma si preferisce operare tra pH 3-5 per avere una procedura utile contemporaneamente per più analiti ed una maggiore stabilità dei complessi. L'estrazione della fase organica in ambiente acido permette di ottenere una soluzione acida stabile e conservabile prima dell'analisi strumentale che può essere condotta in spettrometria di assorbimento atomico con fornello di grafite (GFAA) (Donnell et al. 1997). Il metodo è applicabile a matrici diverse e permette la determinazione di bassi livelli di concentrazione di Ag, Cd, Co, Cr (VI), Cu, Pb, Tl, Zn, Ni, ed altri metalli.

L'ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry) (Eggins, Grün, McCulloch, 2005) è una tecnica che interfaccia una sorgente al plasma accoppiato induttivamente con uno spettrometro di massa. In questo strumento gli ioni, prodotti in una torcia ICP convenzionale, sono introdotti in uno spettrometro di massa a quadrupolo che li separa in virtù del diverso rapporto massa/carica. Gli ioni di ogni specifico rapporto massa/carica sono quindi rivelati e quantificati da un detector. Gli spettri così generati sono costituiti da una serie di picchi isotopici che possono essere impiegati sia per misure qualitative, sia per misure quantitative. La sensibilità di questa tecnica permette di raggiungere limiti di detezione inferiori a quelli ottenuti con altre tecniche (i.e., ICP-OES,

AAS, etc), quanto meno equiparabili o migliori di quelli tipici della GFAA (Graphite Furnace Atomic Absorption) che è comunque una tecnica maggiormente votata all'analisi monoelementare. Inoltre l'ICP-MS consente la determinazione dei rapporti isotopici e l'analisi di diluizione isotopica.

Per la ricerca dell'uranio nei denti, e degli altri metalli pesanti, viene utilizzato lo spettrometro di massa con sorgente di plasma ad accoppiamento induttivo (Perkin Elmer SCIEX Elan DRC-e).

Considerazioni conclusive

La prima analisi sul territorio ha consentito di intraprendere una indagine analitica sui luoghi che hanno evidenziato la presenza di condizioni anomale nella radioattività di fondo, nel substrato geologico prima dello sviluppo dell'attività della base missilistica di Perdasdefogu. Dai primi dati raccolti è emerso che queste zone non sono state interessate da importanti trasformazioni antropiche, perchè rimaste a lungo isolate sia nel movimento delle popolazioni che nell'impatto con l'ambiente che ancora oggi si mantiene a basso impatto antropico. Il forte isolamento e l'identità di queste genti può, comunque, essere un elemento determinante nel valutare variazioni quantitative e qualitative di inquinanti radioattivi e non, che potrebbero modificare lo stato di salute delle popolazioni, degli animali e dei vegetali alterando la catena alimentare. I metodi utilizzati potrebbero mettere in luce, con l'analisi degli elementi dentali, che, come precedentemente asserito, risultano essere eccellenti indicatori biologici, quanto le attività umane abbiano influenzato lo stato di benessere salute del territorio.

Referenze

Angius, V., 1833-1856. in "G. Casalis, Dizionario geografico, storico statistico commerciale degli Stati di S.M. il Re di Sardegna", Torino, Maspero e Marzorati, 6, s.v. Escalaplano o Scalaplani. 384-387.
Angius, V., 1833-1856. in "G. Casalis, Dizionario geografico, storico statistico commer-

- ciale degli Stati di S.M. il Re di Sardegna”, Torino, Maspero e Marzorati, 6, s.v. Foghèsu, altrimenti Perdas de fogu, 703-705.
- Avery, K. (Ed.), 1987. *Oral Development and Histology*. Williams and Wilkins: Baltimore, MD, Development of teeth and supporting structures, 2, 80–122 Structure of teeth, 3, 140.
- Cassinis, G., Cortesogno, L., Gaggero, L., Ronchi, A., Valloni, R. (1996). Stratigraphic and petrographic investigations into the Permian-Triassic continental sequences of Nurra (NW Sardinia). *Cuad. Geol. Iberica* 21, 149-169.
- Cassinis, G., Durand, M., Ronchi, A., 2003. Permian-Triassic continental sequences of northwest Sardinia and south Provence: stratigraphic correlations and palaeogeographic implications. *Spec. Proc. Siena Congr.* (F.A. Decandia et al. Eds), *Bollettino della Società Geologica Italiana*, vol. spec. 2, 119-129.
- Curzon, M.E.J., Cutress, T., 1983. *Trace Elements and Dental Disease*. T.W. Cutress Editor, *Postgraduate Dental Handbook Series*, Johan Wright, Boston. 9, 1.
- Curzon, M.E.J., Featherstone, J.D.B., 1983. Lazari EP (Ed.) Levy BM. (Ed. in Chief), *CRC Handbook of Experimental Aspects of Oral Biochemistry*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 123.
- Donnell, et al., 1997. Variations in the concentration of plutonium, strontium-90 and total alpha-emitters in human teeth collected within the British Isles. *The Science of the Total Envir.* 201, 235-243.
- Eggins, S.M., Grün, R., McCulloch, M.T., 2005. In situ U-series dating by laser-ablation multi-collector ICPMS: new prospects for Quaternary geochronology. *Quat. Science Rev.*, 24, 23-24, 2523-2538.
- Elliot J.C., 1997. *Ciba Found Symp.*, Wiley, Chichester, 205, 54.
- Environmental Pollution.* 46, 11-44.
- Fergusson, J.E., Purchase, N.G., 1987. The Analysis and level of lead in human teeth: a review. *Environmental Pollution.* 46, 11-44.
- Fermi, C., 1938. Malaria, danni economici, risanamento e proposte per il suo risorgimento. 2, Roma, Tipografica Editrice.
- Fettarappa, G., Saba, A., Usai, R., 2003. *L'economia della Provincia di Nuoro. Consuntivi 2002 e prospettive 2003*. Banco di Sardegna, Nuoro.
- Ginesu, S., 1976-1977. Rapporto n. 6 Bacino permiano di Perdasdefogu. *Rapporti interni, Ricerche uranifere in Sardegna*. Agip – Ami – Esum. Milano.
- Ginesu, S., 1976-1977. Rapporto n. 7 Bacino permiano di Escalaplano. *Rapporti interni, Ricerche uranifere in Sardegna*. Agip – Ami – Esum. Milano.
- Ginesu, S., 1976-1977. Rapporto n. 8 Anomalia Escalaplano. *Rapporti interni, Ricerche uranifere in Sardegna*. Agip – Ami – Esum. Milano.
- Goodman, A.H., Dolphin, A.E., Amarasiwardena, D.D., 2003. Tooth rings: dental enamel as a chronological biomarker of elemental absorption from pregnancy tooth adolescence. R. Klein, J.R. Backstrand, J.B. Reid Jr., P. Outridge Editors. *J. of Children's Health.* 1, 203-214.
- Goodman, A.H., Rose, J.C., 1990. Assessment of systemic physiological perturbations from dental enamel hypoplasias and associated histological structures. *Phys. Anthropol.*, 33, 59-63.
- Gruppo Grotte Ogliastro (a cura di), 1998. *Perdasdefogu (Foghesu)*, Oristano, S'Alvure.
- Kang, D., Amarasiwardena, D., Goodman, A.H., 2004. Application of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS) to investigate trace metal spatial distributions in human enamel and dentine growth layers and pulp. *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 1608-1615.
- Loose, FL, Cutress, TW, Browne, R. 1974. Natural elements of periodic table in human dental enamel. *Caries Research* vol 8 issue 2, pagg 123-134.
- Mathew, M., Takagi, S., 2001. Structures of biological minerals in dental research. *J. Res. Nat. Inst. Stand. Technol.* 106, 6, 1035-1044.
- Ministero della Difesa, Dipartimento di Scienze ambientali G Scarfatti dell'Università di

- Siena, Dipartimento di Scienze della Terra dell'Università di Cagliari, 2004. Convenzione tra il Ministero della Difesa ed il Dipartimento di Scienze ambientali G. Scarfatti dell'Università di Siena per lo studio geochimico-ambientale dell'area della Sardegna sud orientale su cui insistono i Poligoni militari di Perdasdefogu e Capo San Lorenzo. Siena, Relazione finale.
- Pecorini, G., 1962. Nuove osservazioni sul Permico della Nurra (Sardegna nord-occidentale). *Atti Acc. Naz. Lincei, Rend. Cl. Fis. Mat. Nat.* 32, 377-380.
- Pecorini, G., 1974. Nuove osservazioni sul Permo-Trias di Escalaplano (Sardegna sud-orientale). *Boll. Soc. Geol. It.* 93, 991-999.
- Pietracaprina, A., 1963. I minerali d'uranio in Sardegna. *Studi Saresesi. Sez. 3, 9*, 1-67.
- Prato, R., Mariani, F., 1976. Esplorazione uranifera della Sardegna. Nota 1. Rapporto interno AGIP – AMI – ESUM. Milano.
- Pujadas Bigi, M.M., Lemlich, L., Mandalunis, P.M., Ubios, A.M., 2003. Exposure to oral uranyl-nitrate delays tooth eruption and development. *Health Physics*.84, 2, 163-169.
- Regione Autonoma della Sardegna, Assessorato della Programmazione, Bilancio, Credito e Assetto del Territorio, Centro Regionale di Programmazione, Provincia dell'Ogliastra, Presidenza della Provincia, 2005. Rapporto d'area, laboratorio di progettazione integrata della provincia Ogliastra. Documento di supporto alla discussione del Tavolo di Partenariato Provinciale.
- Saba, A. (a cura di), 2003. L'economia dell'Ogliastra. Aspetti strutturali e prospettive di un'area in crescita. Banco di Sardegna, Sassari.
- Senato della Repubblica, 2005. XIV Legislatura - Commissione Parlamentare d'Inchiesta, Missione in Sardegna, 2° seduta, Presidenza del Presidente P. Franco.
- Sharon, M., 1988. The significance of teeth in pollution detection. *Perspect. Biol. Med.* 32, 124.
- Tack, M.V., 1999. Lead in human bones and teeth. Priest, N.D., van De Vyver, F., (eds). *Trace metals and fluoride in bones and teeth*. Boca Raton, CRC Press, 191-218.
- Zuffardi, P., 1957. L'uranio - cos'è, dov'è, come lo si cerca. Hoepli. Milano.
- www.istat.it
- Benché la struttura del lavoro, la premessa e le conclusioni siano frutto del lavoro comune tra gli autori, D. Carboni ha curato in particolare "L'assetto del territorio" e le figure 1 e 2 sulla distribuzione delle aree minerarie investigate.

FONTI NATURALI E ANTROPICHE DI INQUINANTI PARTICELLARI NEI CONTESTI URBANI DI PERUGIA E TERNI (UMBRIA)

GEOLOGICAL VS ANTHROPOGENIC INPUTS OF PARTICULATE POLLUTANTS IN DIFFERENT URBAN CONTEXTS IN UMBRIA

Beatrice Moroni¹, Luca Barcherini², Francesco Scardazza²,
David Cappelletti², Franco Vecchiocattivi²

¹Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Perugia, Piazza Università, 06123 Perugia. E-mail: b.moroni@tiscali.it

²Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Università degli Studi di Perugia, Via G. Duranti 93, 06125 Perugia

Abstract

This work is focussed on the characterization of atmospheric particulate matter from different sites in Umbria with final aim to evaluate the impact of natural and anthropogenic sources on the composition of the fine aerosol. PM₁₀ and PM_{2.5} samples on PTFE filters were collected in Perugia and Terni by low volume air sampler coupled with PM₁₀ and PM_{2.5} selective-inlet head impactors. Nearly 200 samples were collected, spanning a time period from May 2006 to April 2007 and analyzed using different analytical techniques. Bulk chemical analyses were performed by means of ICP-AOS whereas single particle morphological and chemical analyses were achieved by SEM-EDS coupled with image analysis techniques. Morphological and chemical data were elaborated in order to find out possible correlations between size and composition of the particles. Bulk and single particle chemical compositions were compared in order to establish branching ratios of chemical elements in the different classes of particles. Considerable morphological and compositional differences among the samples from Perugia and Terni were evidenced. These differences delineate two different emissive contexts in Perugia and Terni, the former being significantly influenced by motor traffic and the latter resulting from a mixing of natural, roadside and industrial inputs. In addition, potential sources

and modes of distribution of fine aerosol in the environment were outlined. These results gave a significant contribution to the evaluation of the effectiveness of local abatement strategies of particulate pollutant emissions.

Introduzione

L'inquinamento atmosferico da polveri sottili è un problema di rilevanza ormai globale e, come tale, pone l'accento sulla necessità e l'urgenza di mettere a punto strategie in grado di tutelare l'ambiente e la salute pubblica (e.g. Hidy, 1984; Dockery & Pope, 1994). Le direttive europee attualmente in vigore (direttiva quadro 96/62/CE e direttive "figlie" 99/30/CE e 00/69/CE), recepite attraverso il DM 2 Aprile 2002 n. 60, stabiliscono anche per l'Italia nel quinquennio 2005-2010 un periodo transitorio di progressivo adeguamento dei livelli di PM₁₀ ai valori limite fissati. Esse prevedono inoltre l'introduzione di uno standard per il PM_{2.5} a livello europeo e, infine, richiedono l'effettuazione di studi preliminari di caratterizzazione del PM_{2.5} nell'ambito dei paesi membri. In tale contesto lo sforzo congiunto degli Enti preposti alla vigilanza e al controllo della situazione ambientale (ARPA, APAT, Regioni) e della comunità scientifica impegnata nello studio delle caratteristiche e delle modalità di interazione degli inquinanti atmosferici con l'uomo e con l'ambiente può concretamente contribuire alla definizione di adeguate politiche ambientali.

Anche l'Umbria, malgrado la propria vocazione culturale di regione a misura d'uomo, deve fare i conti con gli effetti globali della antropizzazione e dello sfruttamento economico del territorio. Ne sono la prova i dati ambientali dell'anno appena trascorso dai quali risulta come i valori di soglia del PM_{10} attualmente in vigore siano stati ampiamente e regolarmente superati tanto a Perugia quanto a Terni (ARPA, 2007). Partendo da queste constatazioni e dall'esigenza di concorrere al raggiungimento degli obiettivi di qualità dell'aria fissati dalle direttive europee, nel 2006 è stato avviato in Umbria un progetto di monitoraggio e di analisi ad ampio spettro del particolato atmosferico. Tale progetto vede coinvolti ARPA Umbria quale soggetto promotore e organo di coordinamento sul territorio e l'Università di Perugia quale ente di ricerca.

In questa fase del progetto, da considerare necessariamente preliminare ed esplorativa, l'obiettivo primario è stato la messa a punto di una procedura analitica integrata volta ad una completa caratterizzazione del particolato atmosferico mediante tecniche di analisi chimica del campione totale e mediante tecniche di analisi morfometrica e composizionale delle singole particelle. Ciò allo scopo di associare alle diverse classi morfometriche la relativa composizione chimica in modo da caratterizzare le fonti emissive e le modalità di distribuzione degli inquinanti sul territorio. Il procedimento di analisi è stato applicato a campioni di PM_{10} e $PM_{2.5}$ provenienti da Perugia e Terni quali principali contesti urbani della regione. I risultati ottenuti hanno consentito di delineare plausibili scenari di inquinamento e di caratterizzare, anche se in via preliminare, la componente naturale e antropica delle polveri sottili in Umbria.

Materiali e metodi

Campionamento

La campagna di campionamento ha riguardato due postazioni urbane della rete di monitoraggio gestita da ARPA Umbria. La prima si trova a Terni, in una zona residenziale della città, ed è ubicata in Via F. Cesi su un ter-

razzo al quarto piano dell'edificio sede della locale ARPA. La seconda si trova a Perugia ed è ubicata in Piazza del Bacio, vicino alla stazione ferroviaria di Fontivegge, ad una distanza di circa 10 m da una strada caratterizzata da traffico medio-alto, ma quasi sempre scorrevole. La prima postazione rappresenta un sito urbano di fondo, mentre la seconda è rappresentativa di un sito orientato al traffico.

I prelievi sono stati effettuati da Maggio 2006 ad Aprile 2007, ma mentre a Terni la disponibilità di una strumentazione dedicata ha permesso un campionamento sistematico nell'intero arco temporale, a Perugia la mancanza di una strumentazione stabilmente collocata nella centralina di misura ha fatto sì che il campionamento risultasse discontinuo. Sia la stazione di raccolta di Terni che quella di Perugia hanno fornito filtri con classi dimensionali distinte ($PM_{2.5}$ e PM_{10}), campionati in parallelo tramite una coppia di impattatori inerziali a singolo stadio. Per esigenze analitiche e di servizio di ARPA Umbria sono stati utilizzati filtri di campionamento in teflon (PTFE).

Metodologie analitiche

Per avere la massima rappresentatività temporale dei campioni, ed evitare false correlazioni dovute a periodi e condizioni di campionamento analoghe, sono stati selezionati per le analisi un numero di filtri inferiore al totale di quelli campionati, preferendo i casi con concentrazioni vicine alla media del periodo, di giorni della settimana diversi e, possibilmente, anche di giorni con diverse condizioni meteorologiche. I filtri selezionati sono stati poi suddivisi in quattro parti da destinare a diverse determinazioni analitiche: spettroscopia dei raggi X di fluorescenza (XRF), spettrofotometria UV-VIS, spettroscopia ad emissione atomica con plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-AES) e microscopia elettronica a scansione con microanalisi EDS (SEM-EDS). In questo lavoro si farà riferimento esclusivamente alle analisi in ICP-AES e al SEM-EDS.

Per l'analisi chimica in ICP-AES i frammenti

dei filtri sono stati preliminarmente immersi in acqua ultrapura (18 M Ω) e quindi sottoposti a sonicazione per un'ora. Una aliquota della soluzione, insieme al filtro, è stata quindi trattata con H₂O₂ (30%, 1mL, Suprapur Merck) ed HNO₃ (70%, 5mL, Suprapur Merck) e quindi digerita in forno a microonde, modello MARS (CEM), adottando una procedura di riscaldamento secondo rampe di temperatura della durata complessiva di 1 ora, fino ad una temperatura massima di 170°C ed una pressione massima di 300psi. L'efficacia di tale metodica è stata validata con test di recupero su un campione di terreno standard (cat.n. 140-025-111, CP-1, AGROMAT, SCP Science). La soluzione ottenuta è stata quindi analizzata mediante ICP-AES, utilizzando uno spettrometro modello ULTIMA 2000 (Jobin-Yvon) con nebulizzatore pneumatico di tipo Meinhard. La potenza del plasma utilizzata è stata di 1200 W. Gli elementi correntemente determinati sono stati Na, K, Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Al, Pb. Per le curve di calibrazione sono state utilizzate opportune soluzioni standard multielementari (1.11355.0100 e 1.09495.0100, CertiPUR, Merck). Ogni 10 campioni analizzati la risposta dello strumento è stata verificata con una soluzione certificata (cat.n.140-025-032, EP-H-1, EnviroMAT).

Per l'osservazione e l'analisi in microscopia elettronica a scansione il particolato è stato estratto da un frammento dei filtri di campionamento in teflon e depositato su filtri in polycarbonato (diametro dei pori 0.4 μ m). Il procedimento di estrazione è reso necessario dalla impossibilità a trattare le singole particelle direttamente sul filtro in teflon. Ciò a motivo della struttura fibrosa tridimensionale del filtro e dell'eccessivo addensamento del particolato su di esso a seguito dei tempi di raccolta. La scelta del filtro in polycarbonato quale supporto per l'osservazione e l'analisi in microscopia elettronica è legata al fatto che, a differenza del teflon, il polycarbonato mostra una superficie liscia e uniforme sulla quale le particelle risaltano in maniera eccellente. Per essere rappresentativo il frammento deve avere area sufficiente a garanti-

re una buona raccolta del campione stesso evitando nel contempo un eccessivo addensamento delle particelle sul nuovo supporto da utilizzare. Il procedimento di estrazione è stato eseguito sul frammento immerso in etanolo sottoponendolo prima ad agitazione per un'ora e poi ad estrazione mediante ultrasuoni per due ore. L'efficacia del trattamento di estrazione è stata verificata sottoponendo il filtro in teflon ad analisi diffrattometrica e poi all'osservazione al SEM per evidenziare l'eventuale presenza di particolato residuo. Dopo la fase di estrazione il particolato è stato recuperato mediante lavaggio in etanolo e filtrazione sulla membrana in polycarbonato. Una volta asciutto il nuovo supporto è stato suddiviso in alcuni frammenti a loro volta incollati su portacampioni in alluminio per essere destinati, previa metallizzazione mediante carbone, all'osservazione e all'analisi in microscopia elettronica a scansione (SEM-EDS). Le osservazioni e le analisi al SEM-EDS sono state eseguite presso il Centro Universitario di Microscopia Elettronica di Perugia utilizzando un microscopio elettronico Philips XL30 (Philips Electron Optics) in linea con sistema EDAX DX-4I di microanalisi e software di acquisizione ed elaborazione dati GENESIS (EDAX). Il procedimento di lavoro è stato articolato in due fasi distinte, la prima di osservazione e raccolta delle immagini, la seconda di microanalisi della composizione delle singole particelle. La tensione di accelerazione applicata è di 15 kV per uno spot size pari a 4. I tempi di conteggio per ogni punto analisi variano da 20 a 40 secondi in funzione delle dimensioni dei granuli da analizzare. In entrambi i casi la distanza di lavoro è stata fissata a 10 mm.

Per l'esame morfometrico le immagini raccolte (ingrandimento 5000x, risoluzione 4096x3200 pixel) sono state sottoposte ad un procedimento standardizzato di elaborazione mediante operazioni di filtraggio per migliorare la qualità dell'immagine (contrast enhancement, remove noise) seguito dall'applicazione di algoritmi puntuali di soglia (threshold) per ottenere la binarizzazione dell'immagine. Tale fase preliminare di ela-

borazione è stata eseguita mediante il programma Corel Photo-Paint 11. Le immagini binarie così ottenute sono state analizzate mediante il programma di analisi di immagini Image Tool 3.0 (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Il programma consente di misurare una serie di parametri morfometrici degli oggetti tra cui area (A), perimetro (P), lunghezza (L, l) e angolo di inclinazione degli assi, elongazione (E, pari al rapporto L/l), arrotondamento (R, definito dal rapporto $4\pi A/P^2$), compattezza (C, pari alla quantità $\sqrt{4\pi A/L}$, e diametro di Feret (d, pari a $\sqrt{4A/\pi}$. Al termine di questo procedimento tutte le particelle individuate in una immagine risultano identificate da un corredo di dati quantitativi che le descrive dal punto di vista sia morfologico che morfometrico. La precisione analitica stimata è pari al 5% (Moroni et al., 2006).

Le indagini in microscopia elettronica hanno riguardato una selezione di 20 campioni provenienti dalla stazione di Via F. Cesi e da quella di Fontivegge-Piazza del Bacio, relativi al periodo giugno 2006-febbraio 2007. Di tali campioni 18 provengono da Terni, mentre solo 2 campioni provengono da Perugia. Tale sproporzione è dovuta in primo luogo al numero effettivamente diverso di campioni disponibili nei due siti, e inoltre alla assenza per i due siti di campioni relativi allo stesso identico intervallo di campionamento. Occorre comunque rilevare che per la postazione di Fontivegge sono già disponibili dati morfometrici e composizionali ottenuti nel corso di campagne di misura effettuate in passato (Moroni et al., 2006; Moroni, 2007).

Risultati e discussione

Le concentrazioni medie annue degli elementi analizzati nei due siti di interesse sono riportate in Tabella 1 e rappresentate in forma grafica in Figura 1. Per favorire il confronto e l'integrazione con i dati morfochimici delle fasi nella figura i dati sono stati ricalcolati separando la frazione fine ($PM_{2.5}$) da quella grossolana ($PM_{10-2.5}$).

Gli alcali mostrano un comportamento differenziato nell'ambito della frazione fine e di

Tabella 1. Concentrazioni medie annue (ng/mc) e relative deviazioni standard degli elementi chimici nella frazione fine ($PM_{2.5}$) e grossolana (PM_{10}) nei siti di Perugia e Terni.

	PERUGIA		TERNI	
	PM_{10}	$PM_{2.5}$	PM_{10}	$PM_{2.5}$
Na	450 (286)	578 (256)	489 (139)	222 (75)
K	274 (192)	168 (72)	294 (83)	151 (31)
Mg	188 (80.1)	64 (20)	132 (25)	91.7 (24)
Ca	2940 (828)	1540 (790)	3000 (155)	700 (188)
Cr	11.5 (3.0)	7.0 (1.8)	46.7 (8.1)	27.1 (3.4)
Mn	16.7 (3.4)	6.0 (0.7)	24.4 (3.2)	11.8 (1.3)
Fe	917 (233)	165 (29)	759 (115)	253 (39)
Ni	11.6 (3.0)	13.4 (4.2)	25.5 (3.6)	17.6 (2.8)
Zn	3.4 (1.3)	9.8 (7.3)	116 (22.7)	77.9 (12.6)
Al	460 (130)	465 (137)	568 (119)	410 (94)
Pb	11.6 (4.4)	6.9 (2.6)	18.9 (3.1)	11.3 (1.8)

quella grossolana. Infatti mentre il K mostra, pur con diversi margini di variabilità, tenori equivalenti nei due siti tanto nella frazione fine quanto in quella grossolana, diversamente il Ca mostra valori simili nella frazione grossolana mentre risulta arricchito nella frazione fine del sito perugino. Il Na segue il Ca nel suo arricchimento nella frazione fine di Perugia mentre si associa ad Al nel rimarchevole arricchimento nella frazione grossolana del sito ternano. Il Mg, infine, risulta in un caso ($PM_{2.5}$) più abbondante a Terni e nell'altro ($PM_{10-2.5}$) più abbondante a Perugia. Queste osservazioni pongono l'accento sulla possibilità che tali elementi vadano a costituire fasi distinte a loro volta diversamente rappresentate in termini quantitativi nelle due frazioni granulometriche investigate. Nell'ambito dei metalli pesanti, Cr e Zn risultano in tutti i casi molto più abbondanti a Terni che a Perugia, Fe e Mn lo sono esclusivamente nella frazione fine mentre Ni risulta effettivamente arricchito solo in quella grossolana. Occorre inoltre rilevare che le concentrazioni medie di Fe sono di un ordine di grandezza maggiori rispetto a quelle degli altri metalli analizzati, e che il Fe è distribuito in misura preponderante nella frazione grossolana. Queste osservazioni suggeriscono l'ipotesi che il Fe e gli altri metalli co-

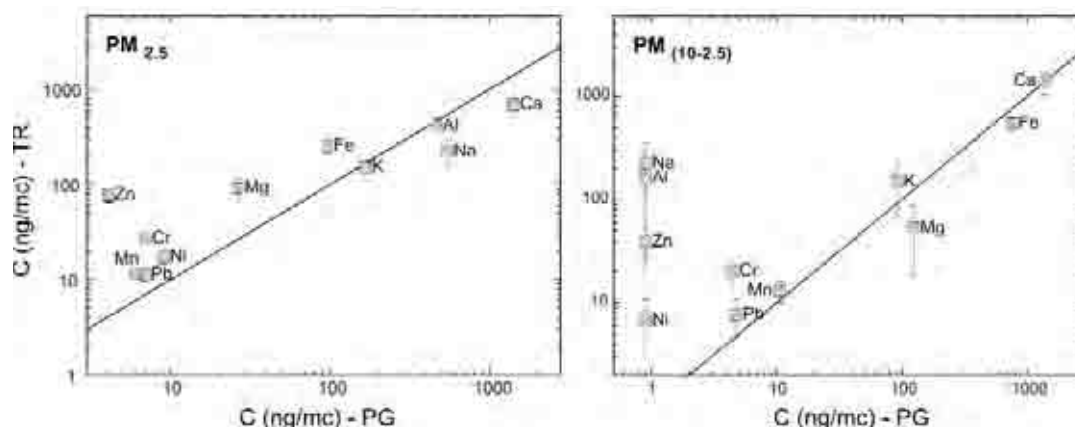


Figura 1. Diagrammi di correlazione fra le concentrazioni medie in atmosfera degli elementi nella frazione fine ($PM_{2.5}$) e grossolana ($PM_{10-2.5}$) nei siti di Perugia e Terni.

stituiscono fasi diverse nei due siti.

Il Pb mostra valori medi di circa un ordine di grandezza inferiori rispetto al valore guida proposto dalla comunità internazionale (WHO, 2000). Questo elemento, che risulta prevalere nella frazione fine del particolato, mostra comunque valori sostanzialmente simili, nei limiti dell'errore, nei due siti di rilevamento.

I risultati dell'analisi chimica semiquantitativa al SEM-EDS hanno evidenziato la presenza delle seguenti categorie di fasi (Fig. 2):

1. silicati: quarzo, feldspati, smectiti (Fig. 2a);
2. carbonati: calcite, dolomite e witherite;
3. solfati: gesso (Fig. 2c), solfati alcalini (di Na e K) e barite (Fig. 2d);
4. particolato metallico: ossidi di Fe, Ti, Cr, Ni, Mn, Zn, Cu (Fig. 2e);
5. particolato carbonioso: particelle costituite quasi esclusivamente da C con tracce di solfati e di metalli (Fig. 2f).
6. altre fasi: fibre artificiali vetrose (Fig. 2b), cloruri, ossido di bario.

Il quarzo, i silicati e la calcite sono tipicamente di origine naturale cioè derivano dal disfacimento dei suoli e/o di materiali di origine naturale in opera negli edifici (pietra, laterizi, intonaci e leganti), mentre il particolato carbonioso, gli ossidi metallici, i solfati alcalini e i solfati metallici sono di origine antropica e derivano dalle emissioni industriali e/o dalle emissioni dei gas di scarico degli autoveicoli (Moreno et al., 2003). Il bario è un

metallo pesante la cui presenza in atmosfera è legata tradizionalmente a processi industriali legati all'estrazione, al raffinamento e alla produzione di bario e di prodotti chimici a base di bario (Francis & Forsyth, 1997). La presenza di bario sotto forma di carbonati (witherite) e solfati (barite) testimonia pertanto l'esistenza di attività industriali in cui solfati e carbonati rappresentano i prodotti di recupero e/o di abbattimento delle emissioni industriali. Le fibre artificiali vetrose vengono prodotte in ambito industriale e trovano molteplici utilizzi nel campo dell'isolamento termo-acustico e come materiali di rinforzo nei prodotti plastici e nell'industria tessile (NIOSH, 2006).

L'abbondanza relativa delle varie fasi nel particolato urbano è significativamente diversa nei due siti (Fig. 3). Infatti i carbonati risultano assai più abbondanti a Perugia mentre le particelle metalliche sono molto più presenti a Terni. Alcune fasi quali feldspati, dolomite, witherite, barite, fibre artificiali vetrose, cloruri e ossido di bario sono state individuate solo a Terni dove, quindi, la composizione del particolato risulta molto più varia. Inoltre mentre a Terni si ha una presenza assai significativa di fasi metalliche a Fe, Cr, Mn, Ni e Zn, a Perugia si trovano fasi metalliche esclusivamente a Fe, Cu o Zn. Infine, nel sito perugino i solfati alcalini risultano decisamente più abbondanti che nel sito ternano. Il confronto tra i dati morfometrici dei

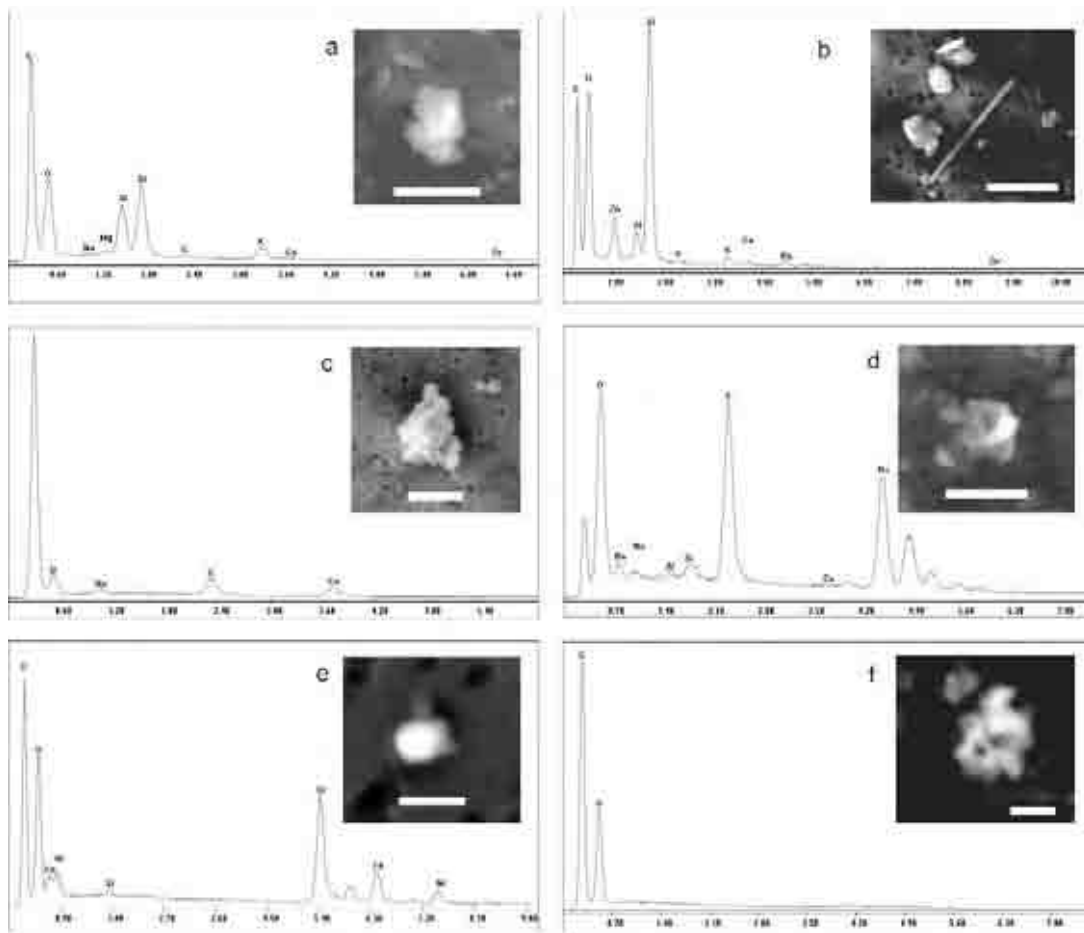


Figura 2. Caratteri morfologici e spettri di composizione di alcune fasi significative nell'ambito del PM_{10} : (a) smectite (la barra misura $5 \mu m$); (b) fibra artificiale vetrosa (la barra misura $5 \mu m$); (c) gesso (la barra misura $5 \mu m$); (d) barite (la barra misura $5 \mu m$); (e) particella metallica (la barra misura $1 \mu m$); (f) aggregato di particelle carboniose (la barra misura $10 \mu m$).

campioni di Terni e di Perugia (Tab. 2) evidenzia dimensioni mediamente superiori ed un maggior grado di complessità morfologica nei primi (Fig. 4). Questa caratteristica è da porre in relazione con la maggiore presenza di aggregati particellari a Terni piuttosto che a Perugia.

Un elemento che accomuna i campioni di Terni a quelli di Perugia è la mancanza di precise correlazioni tra dimensioni e composizione delle fasi, vale a dire che le fasi individuate non mostrano particolari affinità nei riguardi delle classi morfometriche esaminate. Tuttavia è stato rilevato che le smectiti e i solfati si collocano nell'intervallo granulome-

trico $0.5-2.5 \mu m$, e che i solfati possono dar luogo (soprattutto a Terni) ad aggregati di dimensioni decisamente superiori (Fig. 2c). I minerali di Ba hanno, in genere, dimensioni piuttosto grandi: i granuli di barite hanno dimensioni comprese tra 2 e $5 \mu m$, il BaO ha dimensioni comprese tra 5 e $10 \mu m$, e solo la witherite ha dimensioni di $1-2 \mu m$.

Le particelle metalliche hanno a Perugia dimensioni mediamente inferiori che a Terni ($0.29 \pm 0.10 \mu m$ contro $0.85 \pm 0.70 \mu m$). Questo fatto, unitamente alla composizione sostanzialmente diversa, depone a favore di una diversa origine del materiale particellare nei due siti. In particolare, a Perugia la com-

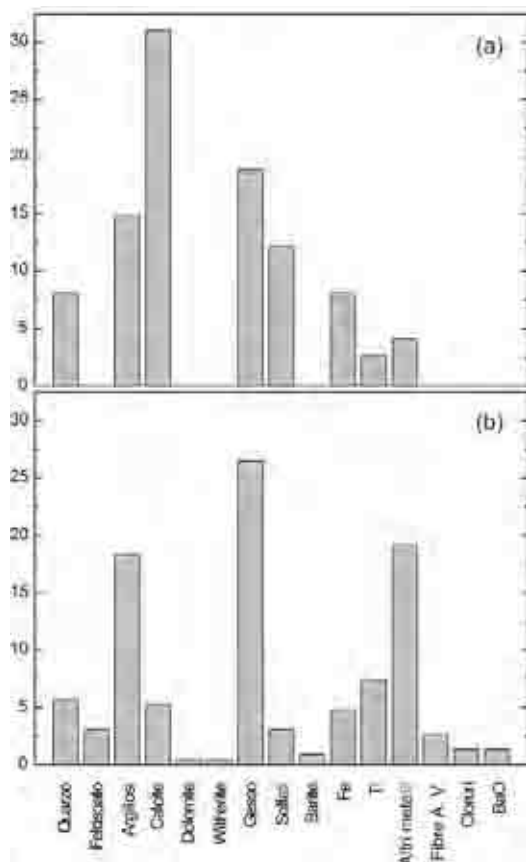


Figura 3. Abbondanza relativa (frazione %) delle diverse fasi nella frazione grossolana (PM₁₀) dei siti di Perugia (a) e Terni (b). Dati ottenuti su un totale di 142 particelle a Perugia, e di 171 particelle a Terni. Per ragioni di ordine pratico legate alle modalità di allestimento dei campioni le particelle carboniose sono state escluse dal computo e, quindi, dal grafico.

posizione del particolato metallico risulta compatibile con quella dei prodotti di combustione e di usura dagli autoveicoli, mentre a Terni la composizione del particolato richiama quella di ossidi metallici derivanti da processi industriali ad alta temperatura tipici del comparto siderurgico (spinelli; formula AB₂O₄; Yang et al., 2005; Sammut et al., 2006). Le fibre artificiali vetrose sono caratterizzate da un diametro minore di 3 μm (0.6±0.3 μm) e da un rapporto di elongazione superiore a 3 (13.1±4.9). Tali caratteristiche ne individuano il carattere di inalabilità e, quindi, di potenziale pericolosità per la salute umana (Warheit, 1993). Occorre comun-

Tabella 2. Valori medi (X; μm) e deviazioni standard (σ; μm) dei parametri morfometrici del particolato atmosferico (PM₁₀) nei siti di Perugia e Terni.

	PERUGIA		TERNI	
	X	σ	X	σ
Diam. di Feret	0.27	0.23	0.60	0.78
Perimetro	0.62	0.15	0.93	0.13
Elongazione	1.37	0.07	1.35	0.06
Arrotondamento	0.74	0.04	0.72	0.04
Compattezza	0.79	0.03	0.81	0.03

que rilevare che la quantità di fibre rinvenute, peraltro sporadicamente, sui filtri è di gran lunga inferiore ai valori limite stabiliti dalle vigenti normative di igiene industriale (WHO, 1985). Dal punto di vista chimico le particelle mostrano alti tenori di silice, sono totalmente prive di Fe e contengono tenori apprezzabili di Ba e Zn (Fig. 2b). Il tenore in ossidi di metalli alcalini e alcalino-terrosi è, mediamente e anche se di poco, superiore al 18% in peso. Sulla base di tutte queste caratteristiche le particelle vengono pertanto classificate come fibre per scopi speciali (IARC, 2002).

Tutte queste osservazioni confermano e in parte spiegano i dati di composizione del campione in massa ricavati dall'analisi chimica. In particolare le anomalie positive di Ca e Na riscontrate nel PM_{2.5} a Perugia trovano giustificazione nella maggiore abbondanza di calcite e solfati alcalini effettivamente evidenziata all'analisi al SEM-EDS. Trova inoltre spiegazione nella presenza di feldspati alcalini l'anomalia positiva di Na e Al individuata nella frazione grossolana del sito ternano. Per quanto riguarda la componente metallica, il diverso grado di affinità dei vari elementi nei confronti della frazione fine e di quella grossolana a Terni e a Perugia evidenzia che questi elementi prendono parte alla composizione di fasi diverse per dimensioni e/o per composizione. Così Cr e Zn devono alla loro presenza nelle particelle metalliche e in quelle di natura fibrosa il proprio arricchimento tanto nella frazione fine quanto in quella grossolana del particolato terna-

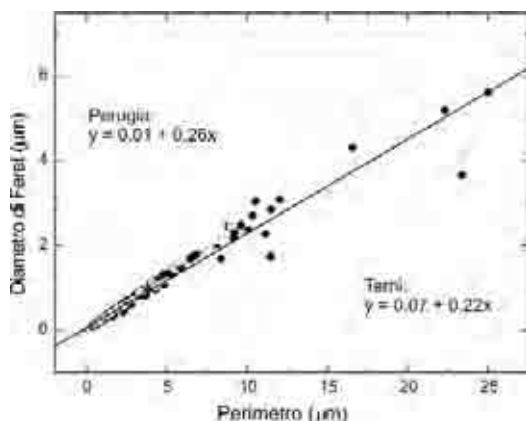


Figura 4. Diagramma di correlazione perimetro-diametro di Feret per i campioni di particolato atmosferico di Perugia (simboli vuoti) e Terni (simboli pieni).

no. Sempre a Terni, i tenori superiori di Fe e Mn nella frazione fine trovano giustificazione nella presenza delle particelle metalliche, mentre l'arricchimento in Ni della frazione grossolana può dipendere da una maggiore presenza di questo elemento negli aggregati di particelle metalliche.

Conclusioni

Le differenze di carattere morfochimico riscontrate tra Perugia e Terni delineano due diversi contesti emissivi nelle due realtà urbane, e precisamente un quadro influenzato in egual misura dalle sorgenti naturali e da quelle antropiche (traffico e riscaldamento domestico) nel caso di Perugia, e un quadro segnato in ugual misura da sorgenti tipicamente urbane e dalle emissioni industriali legate all'attività siderurgica nel caso di Terni. Il contributo delle fonti di origine naturale risulta, pertanto, a Terni meno marcato che a Perugia a tutto vantaggio di quello dovuto all'attività industriale.

La presenza piuttosto significativa nell'atmosfera urbana di Terni di particelle di natura metallica e di particelle a carattere fibroso desta particolare interesse per questioni di igiene ambientale che richiederanno ulteriori studi di dettaglio per essere chiarite. Queste osservazioni preliminari, supportate dai risultati delle analisi chimiche sul campione totale e suffragate dall'esame di nuovi campioni

da prelevare in prossimità delle principali fonti emissive di origine antropica, permetteranno di individuare le fonti e prevedere la diffusione degli aerosol nel territorio. Inoltre, dalla conoscenza della composizione del particolato atmosferico su scala temporale potrà derivare la possibilità di utilizzare queste misurazioni per valutare l'efficacia di eventuali strategie di abbattimento delle emissioni.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano sentitamente ARPA Umbria per aver finanziato e sostenuto la ricerca in corso.

Referenze

- ARPA Umbria, 2007. Annuario dei dati ambientali dell'Umbria. CRACE, Perugia.
- Dockery, W., Pope, C.A., 1994. Annual Review of Public Health, 15, 107-132.
- Francis, A.A., Forsyth, C.S., 1997. Toxicity summary for barium. U.S. Dept. of Energy, Contr. DE-AC05-84OR21400, Oak Ridge, Tennessee.
- Hidy, G.M., 1984. Aerosols: an industrial and environmental Science. Academic Press, New York.
- IARC, 2002. Man-Made Vitreous Fibres. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Press, Lyon, 181-240.
- Moreno, T., Gibbons, W., Jones, T., Richards, R., 2003. The geology of ambient aerosols: characterising urban and rural/coastal silicate PM10-2.5 and PM2.5 using high volume cascade collection and scanning electron microscopy. Atmospheric Environment, 37, 4265-4276.
- Moroni, B., 2007. Caratteri morfochimici di polveri sottili in alcune realtà urbane: i contesti urbani di Perugia e Terni. Atti VII Congresso Nazionale CIRIAF, Perugia, 349-352.
- Moroni, B., Pitzurra, L., Areni, M., Barbagiani, N., Peirone, E., Pompei, M., Marchetti, G., Poli, G., 2006. Caratterizzazione chimico-fisica del particolato fine nell'atmosfera urbana di Perugia: risultati preliminari e prospettive di ricerca. Atti VI Congresso Nazionale CI-

RIAF, Perugia, 379-384.

NIOSH, 2006. Criteria for a recommended standard occupational exposure to refractory ceramic fibers. Publ. No. 2006-123, Cincinnati, Ohio.

Sammut, M.L., Noack, Y., Rose, J., 2006. Zinc speciation in steel plant atmospheric emissions: a multi-technical approach. *Journal of Chemical Exploration*, 88, 239-242.

Warheit, D.H., 1993. *Fiber toxicology*. Academic Press, New York.

WHO, 1985. Reference methods for measuring airborne Man-Made Mineral Fibres. *Environmental Health Report No. 4*, Copenhagen.

WHO, 2000. Air quality guidelines for Europe. WHO Regional Publications, European Series n. 91, Copenhagen.

Yang, Z., Xia, G., Stevenson, J.W., 2005. Mn_{1.5}Co_{1.5}O₄ spinel protection layers on ferritic stainless steels for SOFC interconnect applications. *Electrochemistry & Solid State Letters*, 8, A168-A170.

CORRELAZIONE TRA METALLI PESANTI E SALUTE UMANA
IN SARDEGNA: STUDIO PRELIMINARE

RELATIONSHIP BETWEEN HEAVY METALS AND HEALTH IN SARDINIA:
A PRELIMINARY STUDY

Elisabetta Muntoni¹, Paolo Valera¹, Andrea Deiana¹, Sergio Muntoni²,
Sandro Muntoni³

¹DIGITA, Dipartimento di Geoingegneria e Tecnologie Ambientali, Università degli Studi di Cagliari, Piazza d'Armi, 09123 Cagliari. E-mail: pvalera@unica.it

²Centro per le Malattie Dismetaboliche e l'Arteriosclerosi, Associazione ME.DI.CO. – Onlus, Viale Merello 23 e 18/a, 09123 Cagliari

³Dipartimento di Tossicologia, Sezione Oncologia e Patologia Molecolare, Università degli Studi di Cagliari, Via Porcell 4, 09124 Cagliari

Abstract

In 1948, the World Health Organization (WHO) defined "health" as "a condition of complete mental, social physical well-being, not only determined from the absence of diseases". Genetic and environmental factors (mainly economic and social) contribute to this condition. Thus, a multidisciplinary approach to study human health is suggested. Such an approach, requires the involvement of various disciplines and expertise, in order to investigate human health and quality of life interactions. The "Geomedicine", defined as the relationship between the geological environment, and human health, is acquiring important meanings in the development of medical and epidemiological information. The Department of Geoengineering and Environmental Technologies (DIGITA), of the Faculty of Engineering - Cagliari University - since several years, is involved in sampling of several environmental matrix supports (rocks, soils, stream sediments) and their geochemical analysis.

Up to now, the sampling and analytic surveying is accomplished, and a new geochemical mapping is starting up, at 1:100.000 scale of all Sardinia, which is based on the stream sediment database.

In a preliminary analysis of this database we found high values of well known dangerous

elements, such as Cd, As, Pb, Hg. These unexpected findings suggest us to set up a study on possible correlations between geochemical data and some chronic diseases existing in Sardinia, through spatial distribution of chemical elements, their migration mechanisms, geochemical background in the lithologies and bioavailability of heavy metals.

The study involves a team of environmental engineers, GIS (Geographic Information System) experts, geologists from the Engineering Faculty - Department of Geoengineering and Environmental Technologies, and medical researchers from the Medicine Faculty – Department of Toxicology, both from Cagliari University.

This study, is being carried out through the following steps:

- choice of pilot area;
- collection and digitalizing regional health data connected with heavy metals exposure;
- study of a methodology for health data georeferencing;
- a detailed geochemical prospection and geostatistical study of the pilot area;
- investigate the presence of the heavy metals in other matrices, like soil, vegetables and insects;
- speciation and bioavailability analysis of some elements;

- GIS development, expectably open source, where all data will be analysed (medical, geochemical, lithological, ecc);
- data overlaying, processing and analysis;
- statistical analysis of correlations between morbidity /mortality and geochemical data, in order to identify reliable coefficients and to obtain a Risk Index for the human health.

In conclusion, this model can be considered not only an important source of information regarding gene-environment interactions in Sardinia, but also a validated method for further geochemical/medical analysis and territorial planning worldwide.

Introduzione

Il Dipartimento di Geoingegneria e Tecnologie Ambientali (DIGITA) della Facoltà di Ingegneria dell'Università Studi di Cagliari, nel febbraio 2007 ha attivato uno studio, in parte svolto nell'ambito di un dottorato di ricerca, in collaborazione con il Dipartimento di Tossicologia dell'Università di Cagliari della Facoltà di Medicina, per l'individuazione delle correlazioni esistenti tra fluttuazioni nel tenore di metalli pesanti (Cd, As, Pb, Hg etc) in Sardegna e l'incidenza di particolari malattie croniche ad essi correlati. Tale studio nasce come "costola" delle ricerche nel campo della geochimica ambientale, attività in cui il DIGITA è impegnato già da alcuni anni, sia con la stesura di una prima serie di cartografia geochimica dell'intera regione, attualmente in fase di revisione ed aggiornamento, sia con attività di caratterizzazione geochimica per diverse strutture pubbliche e private. Da tali studi è emerso che in differenti ed estese zone della Regione Sardegna, non solo in quelle aree ben note in cui è stato intensissimo lo sfruttamento geominerario, le concentrazioni di metalli pesanti sono spesso sensibilmente più elevate, a volte di alcuni ordini di grandezza, da quelle indicate dal D.Lgs 152/2006.

Questo ha suggerito lo sviluppo di studi più approfonditi e analisi critiche più complesse. I dati geochimici utilizzati per la ricerca provengono dall'Archivio Geochimico Stream Sediment del DIGITA (AGSD), attualmente

composto da oltre 33.000 campioni, per un numero variabile di elementi chimici e che fa parte integrante del ben più ampio Archivio sulle Georisorse Mondiali custodito ed implementato periodicamente dai ricercatori del DIGITA.

Metodologia d'approccio

È apparso fin dal principio che lo studio di un modello di correlazione tra concentrazioni, anche naturali, di metalli pesanti e salute dell'uomo, necessita di un approccio multidisciplinare, vista la complessità dell'argomento che comprende, sostanzialmente, tutto l'ecosistema.

Le metodologie d'indagine seguiranno le strade definite dalle diverse discipline coinvolte per poi convergere nella sovrapposizione e quindi nell'elaborazione dei dati finali. È comunque in atto, fin dalle prime fasi, una continua interazione tra i ricercatori coinvolti, in modo da caratterizzare le aree studiate con l'ausilio delle migliori informazioni ottenibili.

Cadenza e stralci operativi del progetto

Qui di seguito sono esposti i punti focali del progetto ed il loro stato di avanzamento.

Scelta dell'area pilota

La scelta dell'area pilota su cui concentrare la nostra attenzione, onde poter effettuare prove e verifiche replicabili anche in altre parti del territorio, è il Foglio 549 – Muravera, situato nella Sardegna sud orientale (Fig. 1). Tale area è stata scelta principalmente per i seguenti motivi:

- è un'area in cui è presente l'Ospedale San Marcellino (per il reperimento dei dati della morbilità della popolazione) e in cui si ritiene che i dati sanitari siano abbondanti e facilmente reperibili;
- è un'area in cui gli studi geochimici finora svolti hanno evidenziato tenori naturali di Arsenico, Cadmio, Piombo, Zinco etc sensibilmente superiori a quelli massimi consentiti dal D.Lgs n.° 152/2006 per i siti contaminati;
- è un'area in cui sono presenti oltre una sessantina tra miniere abbandonate e indizi di



Figura 1.

mineralizzazioni, alcune di potenziale impatto per la salute umana (Baccu Locci). I dati geominerari di queste manifestazioni e tutte le notizie d'archivio delle miniere sono stati organizzati in appositi database e costituiscono uno strato informativo di notevole importanza.

Si tratta complessivamente di una superficie di circa 587 km², in cui sono presenti circa 2400 campioni stream sediments dell'AGSD, con una densità altamente variabile.

Si stanno valutando alcune altre aree pilota su cui estendere lo studio, in cui l'AGSD non segnali tenori particolarmente elevati e dove,

di conseguenza, le mineralizzazioni presenti siano esigue, sia in numero sia in estensione, rispetto ai territori comunali di appartenenza. In questo modo si potrà effettuare un confronto tra le due (o più) aree, per individuare quei parametri utili alla ricerca ed enucleati dalle caratteristiche peculiari dei diversi siti indagati.

Acquisizione e informatizzazione dei dati sanitari

Poiché l'ultima pubblicazione ufficiale dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale, come riportato in seguito più in dettaglio, riporta dati di mortalità nel periodo compreso dal 1981 al 1988, per l'analisi complessiva dei dati sanitari dei sei comuni compresi nel "Foglio Muravera" (Armungia, Ballao, Muravera, San Vito, Villaputzu e Villasalto), dovranno essere raccolti anche i dati comunali di mortalità dal 1989 ad oggi.

Qui di seguito sono riportati l'attuale stato di avanzamento di informatizzazione dei dati, in cui vengono inseriti anche le criticità incontrate, secondo l'ordine cronologico di acquisizione

a. Dati di mortalità degli anni 1981-1988

Sono stati informatizzati i dati epidemiologici dell'ultima pubblicazione ufficiale disponibile e pubblicati dall'Osservatorio Epidemiologico della Regione Sardegna, in cui vengono riportate le cause di morte rilevate in Sardegna, per le principali patologie, tra gli anni 1981 e 1988. Questo lavoro ha permesso la creazione di un database georeferenziato contenente le cause di morte di ogni comune, suddivise per sesso e per patologia, nel periodo preso in considerazione dalla pubblicazione.

Il numero di casi osservati è la somma dei casi di mortalità per l'ottennio in ogni comune: non è quindi possibile studiare la variazione dei casi di malattia per ogni singolo anno.

In ogni caso, i dati finora raccolti possono essere utilizzati in prima analisi per un raffronto numerico con le cause di morte del quadriennio 1998 -2001. Alla conclusione della fase di raccolta e informatizzazione dei dati,

sarà possibile effettuare un confronto dei dati fino al 2007.

Vi è comunque da fare una precisazione: abbiamo ipotizzato che i dati dei comuni di Muravera, San Vito e Villaputzu siano stati accorpatisi per l'ottennio in questione. Infatti, nella pubblicazione originale, compare solo il comune di Muravera, ma non vi è riportata nessuna indicazione del perché manchino completamente i dati relativi a San Vito e Villaputzu, nonostante questi comuni esistessero da ben prima del 1981. Osservando però l'elevato numero di casi osservati riportati per il Comune di Muravera, è ipotizzabile che sia stato riportato un valore unico per i tre comuni, peraltro confinanti e distanti non più di 1 Km l'uno dall'altro, per cui è possibile che al momento della raccolta delle informazioni per la pubblicazione dell'atlante, i dati si trovassero nella stessa struttura, verosimilmente a Muravera. Questa ipotesi sarà verificata non appena avremo a disposizione i dati originali. Nell'atlante, inoltre, non sono stati inseriti i dati di alcune malattie quali il tumore al fegato, al rene, le patologie tiroidee, la sclerosi multipla etc, che invece sarebbero utilissime per lo studio in oggetto e non solo. Per questi ed altri motivi, che verranno illustrati più avanti, stiamo cercando di risalire alle schede originarie in modo da poter ottenere, se possibile, anche queste importanti informazioni.

Infine, non sono esplicitati i criteri di classificazione delle malattie, soprattutto per le malattie cardiovascolari, né sono riportati i criteri per il calcolo dei diversi indici statistici ottenuti. Ovviare a questi problemi non sarà un compito facile, visto che attualmente i dati di mortalità negli anni precedenti al 1997 dei 6 comuni non sono disponibili presso il RENCAM della ASL 8 e non è ancora chiaro dove sia possibile reperirli.

I dati dell'Atlante Epidemiologico costituiscono, allo stato attuale, l'unica base di partenza per un raffronto critico con i dati attuali.

b. Dati di mortalità degli ultimi decenni (RENCAM, ASL)

I dati sono custoditi presso l'archivio RENCAM

(Registro Nominativo delle Cause di Morte) che raccoglie i dati di mortalità della ASL Territorialmente Competente (ASL 8 di Cagliari).

Il reperimento dei dati sanitari non è una operazione esente da difficoltà. Le criticità, che stanno attualmente emergendo, si possono così riassumere:

1. Non risulta esistere attualmente un archivio regionale informatizzato che consenta un'elaborazione agevole dei dati. Nel servizio RENCAM, infatti, i dati sono archiviati in registri cartacei e faldoni con schede cartacee, compilate manualmente dal medico che accerta la morte del paziente.

2. Le informazioni non sono spesso indicate in maniera dettagliata, per cui in molti casi non si riesce a capire l'effettiva causa di morte o le patologie da cui era affetto il paziente.

3. Le schede di morte, in formato standard, riportano numerose voci che potrebbero essere utilissime nelle analisi epidemiologiche in generale e per il nostro studio in particolare, ma, purtroppo, si è riscontrato un generale disinteresse da parte dei compilatori nella trascrizione completa dei dati previste nelle varie voci. Ad esempio, sono totalmente lacunose le informazioni riguardanti il luogo ed il lavoro svolto in vita dal deceduto, così come mancano le informazioni relative alle abitudini e allo stile di vita della persona.

4. Lacune nei dati di mortalità dei 6 comuni per gli anni fino al 1997: fino a quella data i 6 comuni facevano parte di altre ASL territorialmente competenti, poi riunitesi nell'attuale ASL 8. In definitiva, presso l'ufficio RENCAM della ASL 8 di Cagliari, sono custoditi solo i dati dal 1998 in poi. Allo stato attuale si sta cercando di capire in quale ufficio di quale comune o altra struttura si possano recuperare le schede per gli anni mancanti.

5. Nella compilazione delle cause di morte gioca un ruolo importante anche la soggettività di chi compila la scheda. La scheda standard, riporta 4 caselle:

- Causa di morte 1: causa iniziale che ha determinato il decesso.

- Causa di morte 2: complicazioni morbose conseguenza della patologia 1.

- Causa di morte 3: causa terminale della morte.

- Causa 4: altri stati morbosi rilevanti.

I dati relativi agli altri stati morbosi rilevanti (causa 4) non vengono purtroppo quasi mai compilati, così come si possono riscontrare schede con i dati incompleti, come ad esempio i dati sul diabete di tipo 1 o di tipo 2, che non vengono quasi mai esplicitati.

6. Le schede standard riportano, inoltre, una voce ove inserire l'indicazione del tempo a partire dal quale la patologia è insorta o è stata diagnosticata, ma tale dato non è mai stato inserito in nessuna delle schede analizzate.

Da quanto sopra riportato consegue che le cause di morte prese in considerazione nel presente studio, fanno esclusivo riferimento alla causa di morte primaria e i dati di mortalità che si stanno raccogliendo ed informatizzando, quindi, sono quelli dal 1998 al 2006, che comunque costituiscono una base sufficiente per confrontarli con quelli riportati nell'Atlante della mortalità in Sardegna pubblicati per gli anni 1981 – 1988 dall'Osservatorio Epidemiologico Regionale.

c. Dati di morbilità

Recentemente è stata inoltrata una richiesta all'Osservatorio Epidemiologico Regionale per ottenere l'autorizzazione all'acquisizione dei dati di morbilità nel rispetto del D.Lgs 196/2003 – Codice della privacy. È comunque vivo l'interesse che questo studio sta suscitando presso le strutture sanitarie, tanto da aver fin qui incontrato uno spiccato atteggiamento collaborativo. Si confida che questa tendenza continui, in modo da poter affrontare serenamente le varie problematiche che via via si stanno presentando.

Prospezione geochimica di dettaglio dell'area pilota e relativo studio geostatistico

Attualmente è in corso un campionamento di dettaglio dell'area, i cui dati saranno aggiunti e confrontati con quelli già a nostra disposizione, presenti nell'AGSD.

Sono in corso di attuazione le prime simulazioni dell'area del Foglio Muravera, utilizzando, adattandole, tecniche proprie della pro-

spezione geomineraria. Tali tecniche, trasferite al campo ambientale, permettono di individuare e delimitare, con notevole precisione, aree in cui si hanno tenori anomali degli elementi ricercati, attraverso l'identificazione, per ogni formazione litologica, del valore di fondo (background) di un dato elemento in una data area, anche quando sensibilmente obliterato dai fenomeni di antropizzazione.

Studio di una metodologia per dare un significato geografico ai dati sanitari

In questo momento sono allo studio diverse metodologie che saranno valutate in corso d'opera per poter individuare la più idonea a risolvere il problema. Per fornire la base su cui testare le metodologie (o protocolli) di georeferenziazione dei dati sanitari, sono attualmente in fase allestimento diversi strati informativi che saranno sovrapposti ai dati sanitari, quali i dati geochimici, elaborazioni di immagini satellitari, indagini sul campo e l'analisi del fenomeno antropico in generale. In via preliminare, i dati sanitari sono stati georiferiti utilizzando come unità-base i limiti amministrativi comunali. Tale scelta si basa sulla necessità di dare un primo ordine geografico a dati originariamente raccolti per esigenze diverse, le cui priorità rendevano trascurabile l'importanza del loro legame con il territorio di provenienza, così come inteso nelle scienze naturali.

Correlazioni di verifica tra differenti matrici

Si possono riassumere in:

- suoli – sedimenti da corrente: nonostante il lavoro sia ancora in fase di elaborazione, alcuni studi di carattere preliminare (Marcello A. et al., 2005) forniscono dati incoraggianti circa la possibile esistenza di coefficienti di correlazione che legano i dati dei tenori in campioni stream ai dati dei campioni di suoli.
- api e loro prodotti; insetti;
- vegetali: analisi di laboratorio direttamente sulle specie vegetali e copertura vegetazionale;
- altro (latte, carni, ecc);
- uomo.

Speciazione e bio-disponibilità

Al momento, questa fase del progetto non è ancora stata attivata, ma si intende procedere quanto prima ad eseguire un'analisi di speciazione (tramite spettroscopia UV – visibile, potenziometria, assorbimento su resine etc) per identificare e quantificare le diverse specie, forme o fasi in cui un dato elemento è presente nel campione.

Questa analisi è ritenuta fondamentale perché le diverse forme chimico fisiche di un elemento hanno differenti impatti ambientali e tossicità. Infatti, la sola concentrazione totale di un elemento non fornisce sufficienti informazioni circa la sua biodisponibilità e la sua interazione con suolo e sedimenti.

Sviluppo GIS

È allo studio un sistema di rappresentazione grafica che fornisca un'idea dello stato geochimico dell'area in esame il più vicino possibile allo stato reale. Tale sistema è impostato sulle esperienze fatte durante la stesura della prima serie della cartografia geochimica regionale (Marcello et al., 2003) e conserva la stessa filosofia di base, ovvero la trasformazione dei dati analitici puntuali in dati areali. Tra le diverse metodologie, la più interessante e suscettibile di sviluppi appare quella basata sui bacini idrografici sottesi nel punto di campionamento stream, associando, ad ogni bacino, un cromatismo corrispondente ad un intervallo di valori, nel quale rientra il valore analitico del campione di chiusura del bacino (Manca M.G., et al., 2003; Marcello A. et al., 2005.; Valera P., 2005; Marcello et al., 2007).

Tutti i dati dell'area di Muravera finora acquisiti, oltre a quelli presenti nell'AGSD ed in altri database geografici in forma numerica (bacini, analisi, DEM, litologia, ecc..) o alfanumerica (key), sono stati trasformati in formato shapefile per le prime osservazioni su GIS. I prototipi dei tematismi cartografici, in fase avanzata di realizzazione, serviranno per il controllo e la verifica dell'efficienza e della precisione delle applicazioni GIS che verranno sviluppate per la visualizzazione dei dati in automatico.

Analisi preliminare dei dati acquisiti

a. I dati disponibili

Alla data attuale (gennaio 2008), la ricerca dei dati sanitari che si sta conducendo presso l'archivio RENCAM è stata completata con la raccolta delle cause di morte per i 6 comuni soltanto per gli anni dal 1998 al 2001. Nei prossimi mesi verrà terminata la ricognizione delle cause di morte fino al 2006 o al 2007, se disponibile.

I primi risultati a cui si farà riferimento nel presente studio, sono pertanto relativi esclusivamente al raffronto tra il numero di decessi per malattie nell'ottennio 1981-1988 e nel quadriennio 1998-2001.

Nei prossimi mesi infatti, oltre al completamento della raccolta dati di mortalità, è in programma un incontro con i sindaci dei 6 comuni per agevolare la raccolta dei dati di morbilità presso i medici di famiglia operanti nei comuni. I dati delle diagnosi di malattia si configurano infatti particolarmente importanti per lo studio di correlazioni esistenti tra As e diabete mellito di tipo 2, particolarmente interessante per la Sardegna e per l'area in esame. Contemporaneamente all'acquisizione dei dati sanitari, si stanno completando i campionamenti di stream sediments nelle aree prive di informazioni dettagliate, campioni che poi verranno sottoposti ad analisi per la determinazione dei tenori di metalli pesanti.

In questa fase dello studio è stato deciso, inoltre, di effettuare uno studio sulle fluttuazioni demografiche dei 6 comuni, da poter raffrontare con i dati sanitari finora acquisiti. In prima analisi, sono stati ottenuti dal sito dell'ISTAT i dati comunali della popolazione residente negli anni dal 1982 al 2001. Dall'analisi dei dati demografici è stato osservato che tutti i comuni, ad eccezione di Muravera, hanno registrato una flessione con il passare degli anni.

b. Confronto tra i dati sanitari e primi risultati
Confrontando il numero di decessi per tumori nell'area dal 1981 al 1988, si ottengono dei primi risultati interessanti:

1) il numero di malattie cardiovascolari sembra essere notevolmente diminuito nel qua-

driennio 1998-2001 rispetto all'ottennio 1981 - 1988;

2) il numero totale dei tumori nel quadriennio 1998-2001 sembra essere drasticamente aumentato rispetto all'ottennio 1981-1988 (tabella 1).

Questi due risultati devono essere poi valutati tenendo conto che la popolazione residente, dal 1981 a oggi, è diminuita più o meno costantemente, eccezion fatta per il Comune di Muravera.

Questo primo raffronto suggerisce una componente ambientale nell'aumento dei casi di mortalità per tumore, da approfondire con la ricerca in atto.

Allo stato attuale della ricerca, non è stato ancora possibile elaborare compiutamente i dati sanitari.

Devono ancora essere calcolati gli indici statistici di confronto con la media nazionale e regionale, quali, ad esempio, il tasso di incidenza di ogni diversa patologia.

I dati non sono ancora stati confrontati per classi standard di età, per sesso e per tipologia di malattia. Queste operazioni verranno compiute una volta terminata l'acquisizione delle cause di morte dei Comuni fino al 2006/2007 e dopo l'acquisizione dei dati morbilità.

Una volta terminati i campionamenti e le analisi degli stream sediments dell'area in esame, verranno studiate le possibili correlazioni tra tenori di metalli pesanti e patologie croniche ad essi correlabili.

Al momento opportuno saranno verificati i dati acquisiti, sia attraverso la sovrapposizione dei vari strati informativi, sia attraverso l'incrocio dei dati (vedi sopra, punto 5) per una caratterizzazione più affidabile dell'area attraverso i migliori dati ottenibili.

Studio delle correlazioni statistiche e geostatistiche

Alcune tipologie di malattia e cause di morte potranno essere auspicabilmente correlate statisticamente con la presenza nel territorio di concentrazioni anomale degli elementi considerati: le correlazioni biostatistiche potranno essere svolte in collaborazione con i

Tabella 1. Confronto mortalità per tumore.

	Totali tumori anni 1998-2001	Totali tumori anni 1981-1988
Armungia	12	9
Ballao	18	13
Muravera	43	-
San vito	41	-
Villaputzu	39	-
Muravera San vito Villaputzu	123	86
Villasalto	15	13

Tabella 2. Confronto tra il tasso di incidenza annuo calcolato per gli intervalli 1998 - 2001 e 1981 - 1988.

	Totali tumori anni 1998-2001	Popolazione media 1998 - 2001	Tasso medio annuo di mortalità 1998 - 2001
Armungia	12	601,25	49,90
Ballao	18	996,25	45,17
Muravera San vito Villaputzu	123	13386,75	22,97
Villasalto	15	1381,25	27,15

	Totali tumori anni 1981-1988	Popolazione Media 1981 - 1988	Tasso medio annuo di mortalità 1981 - 1988
Armungia	9	656,75	34,16
Ballao	13	1120,375	29,01
Muravera San vito Villaputzu	86	14121	15,23
Villasalto	13	1615	20,12

Dipartimenti della Facoltà di Medicina, per l'individuazione delle procedure di calcolo statistico più idonee al caso in esame (analisi multivariata, correlazioni lineari etc).

Conclusioni

Lo studio proposto, di spiccata natura interdisciplinare, impone un grosso sforzo da parte di tutti i partecipanti alla ricerca, per via dei diversi campi scientifici che vengono sovrapposti. Tuttavia, l'estremo interesse che questa particolare tematica suscita in tutti i ricer-

catori coinvolti, la comprensione del “peso” che possono avere certi dati in rapporto ad altri, a seconda del ramo scientifico implicato nell’analisi, il confronto continuo e trasparente, che permette di individuare soluzioni sorprendenti a problemi che appaiono in prima analisi quasi insormontabili e la curiosità, naturale in chi fa ricerca, che tralcia negli altri campi scientifici, tutti questi fattori permettono di avere una visione estremamente chiara delle possibilità a cui tale ricerca può condurre. I risultati, seppure parziali, presentati in questo lavoro, forniscono lo spunto per la formulazione di alcune ipotesi. Innanzitutto, l’aumento sensibile del numero di casi di alcune patologie, quali ad esempio alcuni tipi di tumori, suggeriscono l’esistenza di fattori ambientali, quali la presenza di sostanze tossiche che dall’ambiente potrebbero essersi diffuse nelle colture, nei vegetali e negli animali per poi arrivare fino all’uomo. L’origine e la natura di queste sostanze è ancora da appurare con precisione e le metodiche analitiche adottate varieranno a seconda dell’evoluzione della ricerca.

L’obiettivo di questo studio è la definizione di una “mappa del rischio” delle aree obiettivo, che descriva il rischio da esposizione ambientale di un dato parametro, sia esso un elemento chimico o un’associazione di elementi, nell’area in esame ed abbia una schematizzazione grafica tale da rappresentare efficacemente le aree a differente pericolosità. Questa operazione può essere svolta studiando un apposito Indice di Rischio, ottenuto sulla base anche di studi e procedure internazionali già assodati, attribuendo dei pesi alle variabili che concorrono alla definizione del rischio e che risulteranno significative dall’analisi statistica condotta.

Lo studio in oggetto si propone pertanto di accertare l’esistenza di una metodologia capace di individuare eventuali correlazioni tra concentrazioni di metalli e patologie croniche al fine di fornire uno strumento di supporto alle decisioni per le Amministrazioni Pubbliche. Il modello implementato potrebbe costituire infine un modello per lo studio di tematiche similari in altre aree geografiche, non-

ché uno strumento di valido aiuto per la pianificazione ottimale dell’utilizzo del territorio e delle risorse destinate al consumo umano.

Referenze

Deiana, A., Valera, P., Muntoni, E., Mazzella, A., Demontis, R., Lorrain, E., Muscas, L., 2007. Spatial Dataset Infrastructure for Geochemical Hazard Analysis and Forecast: AGISGRID, 13th EC-GI&GIS Workshop - INSPIRE Time: ESDI for the Environment - Porto, Portugal 4-6 July 2007, 190 (EUR 22792 EN; ISBN 978-92-79-06045-8; ISSN 1018-5593).

Deiana, A., Valera, P., Muntoni, E., Mazzella, A., Demontis, R., Lorrain, E., Muscas, L., 2007. AGISGRID: A Spatial Dataset Infrastructure for Environment Modelling, 13th EC-GI&GIS Workshop - INSPIRE Time: ESDI for the Environment - Porto, Portugal 4-6 July 2007, 48-49 (EUR 22792 EN; ISBN 978-92-79-06045-8; ISSN 1018-5593).

Osservatorio Epidemiologico Regionale, 1996. Atlante della mortalità in Sardegna, anni 1981 –1988. Riv. Trim. Dell’Ass. Reg. dell’Igiene e Sanità e dell’Ass. Soc. Regione Autonoma della Sardegna. Vol. 1, 2, 3, 4. Scuola Sarda Ed.

Manca, M.G., Matzuzzi, C., Muscas, F., Valera, P., 2003. Example of Geochemical Environmental Cartography: Sheet IGMI 546 - Guspini In Scale 1: 50.000. Proceedings 4th European Congress on Regional Geoscientific Cartography and Information System, June 17th/20th Bologna, Italy, Vol. II, 651.

Marcello, A., Pretti, S., Valera, P., 2003. The Cagliari, Nuoro, and Sassari sheets of the geochemical map of Italy: explanatory notes. In: Geochemical Baselines of Italy, Pacini Ed., 261-285. ISBN 88-7781-532-9.

Marcello, A., Mazzella, A., Pretti, S., Valera, P., Fiori, M., 2005. Sedimenti fluviali e suoli: analisi delle correlazioni esistenti fra le due tipologie di campioni. Primi risultati. Rendiconti Associazione Mineraria Sarda A CX, 49-57.

Marcello, A., Muscas, F., Pretti, S., Valera, P., 2007. Il ruolo delle campionature "stream sediments" nella definizione dei tenori elemen-

tari normali del territorio: esempio del Foglio IGMI n° 549- Muravera. Capitolo di libro. Progetto GEOBASI. Pacini Ed. In stampa.

Moretti, G., Zuzzi, L., Pellizzato, M., 1979. L'inquinamento Marino e Lagunare. Lavori - Soc. Ven. Sc. Nat., Vol. 4, 6-19.

Muntoni, E., Valera, P., Deiana, A., Muntoni, S., 2007. Relationships Between Heavy Metals and Health in Sardinia: a Preliminary Study. In: Epitome, Atti di Geoitalia 2007, Rimini, 12-14 Settembre 2007, Vol. 2, pag. 80. ISSN 1972-1552.

Valera, P., 2005. Distribuzione dei metalli pesanti nel reticolo idrografico della Sardegna: risultati e prospettive d'indagine. WAU: I Workshop degli Assegnisti UNICA - XV Settimana della Cultura Scientifica e Tecnologica, 16, 17 e 18 Marzo 2005, Cagliari, 187.

Valera, P., Muntoni, E., Deiana, A., Muntoni, S., 2007. Metalli pesanti in Sardegna e rischio da esposizione: studio preliminare. Atti della XI Conferenza Nazionale ASITA, Centro Congressi Lingotto, Torino, 6 - 9 novembre 2007, Vol. 2, 1165 - 1170.

IL SILICIO NEL CORPO UMANO E LA PRESENZA DI MICROCRISTALLI DI SILICE IN LIQUIDI SINOVIALI PATOLOGICI

SILICON IN THE HUMAN BODY AND THE ODD OCCURRENCE OF SILICA MICROCRYSTALS IN PATHOLOGICAL SYNOVIAL FLUIDS

Luca Peruzzo¹, Francesca Oliviero², Paola Frallonardo², Leonardo Tauro³, Paolo Sfriso², Anna Scanu², Roberta Ramonda², Leonardo Punzi²

¹Istituto di Geoscienze e Georisorse, CNR, Università degli Studi di Padova, Via Giotto 1, 35137 Padova

²Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Cattedra e UOC di Reumatologia, Università degli Studi di Padova, Via Giustiniani 2, 35128 Padova

³Dipartimento di Geoscienze, Università degli Studi di Padova, Via Giotto 1, 35137 Padova

Abstract

Many crystal species are common in the synovial fluid of patients affected by rheumatic disorders. Some crystals, like monosodium urate and calcium pyrophosphate, are certainly related to specific diseases, hence their detection and correct identification represent an important step in patient management. Nevertheless, analysis of synovial fluid based on optical microscopy frequently leads to the finding of other particles that cannot be correctly classified often because of their small size. Scanning electron microscopy is used in this research to better characterize all the types of crystals and look for their possible clinical significance in the rheumatic disorders. In the course of our studies, unexpected SiO₂ particles, consisting of sharp-edged micron size grains, have been detected in several samples. X-ray powder diffraction displayed unequivocally the spectrum of a crystalline phase corresponding to quartz. Understanding where and how these particles originated became a new target of our research. Not yet completely excluded the hypothesis of a sample contamination or of an external origin, the possibility that the SiO₂ formed within the articular capsule is currently explored. It's known that silicon is in the human body especially associated with connective tissues such as bones and cartilage, so that a

pilot study was started on a femoral head. A surprisingly high concentration of Si was locally found within a 15µm layer at the surface of the cortical bone. Further detailed investigations are now planned to establish if and how SiO₂ crystals form in the synovial environment and whether they may have long-term consequences with respect to disease progression.

Introduzione

La presenza di cristalli e di particolato nel liquido sinoviale è un carattere frequentemente riscontrabile in pazienti affetti da osteoartrite (OA) ed altre malattie reumatiche (Fig. 1). La comune prassi di laboratorio prevede la ricerca mediante microscopio ottico di cristalli come urato monosodico (monosodium urate, MSU) e pirofosfato di calcio diidrato (calcium pyrophosphate dihydrate, CPPD), ma possono essere riconosciuti altri cristalli quali il fosfato basico di calcio (basic calcium phosphate, BCP), il colesterolo, gli ossalati, i corticosteroidi, i lipidi, assieme a differenti tipi di particolati intrinseci, (emoglobina, ematoidina, fibrina, collagene, frammenti di cartilagine) ed estrinseci (fibre, amido dei guanti, polvere, ecc..). Cristalli di urato monosodico e di pirofosfato di calcio sono certamente correlati a specifiche patologie (rispettivamente gotta e pseudogotta), mentre non è ancora chiaro l'esatto significato della pre-

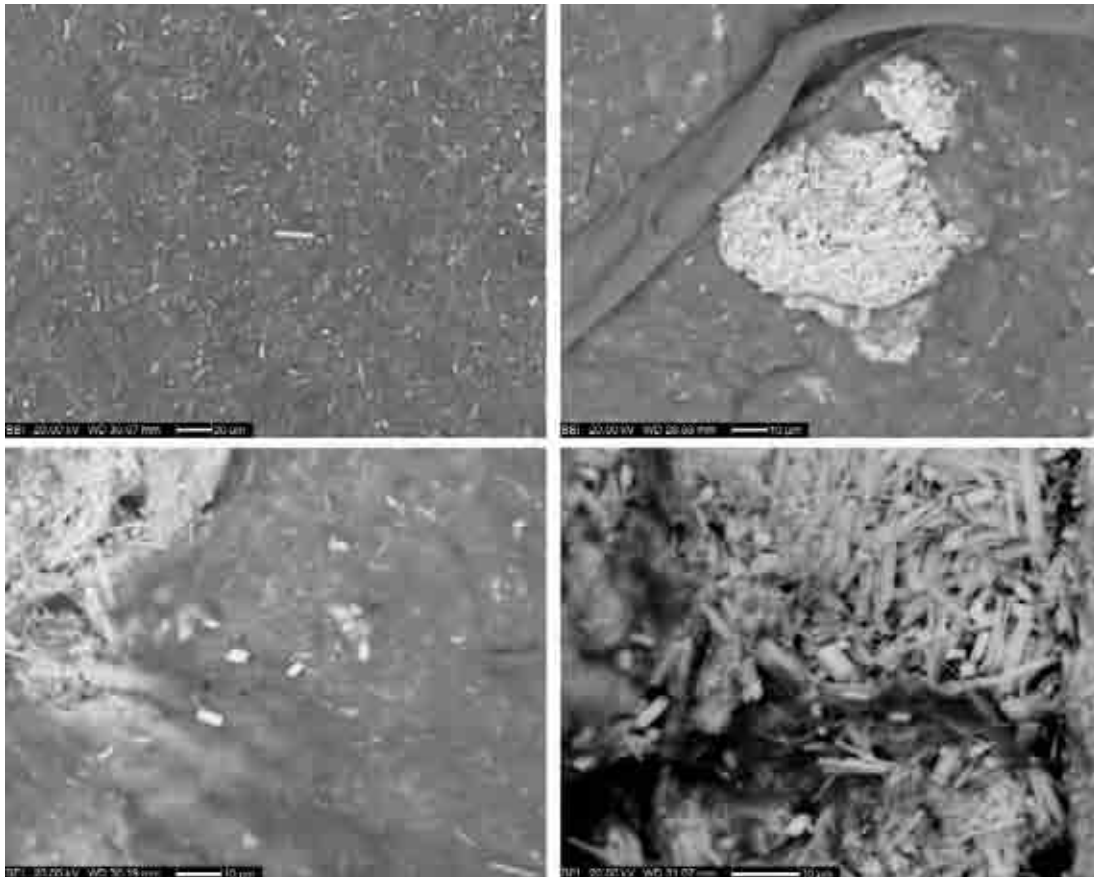


Figura 1. Immagini al microscopio elettronico a scansione, rappresentative di differenti tipologie di cristalli di fosfato di calcio concentrati da liquidi sinoviali di pazienti affetti da osteoartrite.

senza di cristalli di fosfato basico di calcio. È stato invece osservato che, nell'OA, la presenza di questi cristalli è correlata alla gravità della patologia e al grado radiologico. I cristalli di pirofosfato di calcio vengono spesso rinvenuti in presenza di OA e definiscono precisi subset clinici di pazienti con livelli più elevati di infiammazione (Rosenthal, 2007). La loro identificazione è ampiamente considerata il più attendibile criterio per la diagnosi di patologie da deposizione di cristalli (Chen and Schumacher, 2006). Anche i cristalli di fosfato basico di calcio sono estremamente comuni nell'OA. Essi concorrono attivamente al danneggiamento dei tessuti e vengono proposti come diagnostici per le forme più gravi di OA. Appare dunque evidente quanto l'identificazione dei cristalli nel liquido sinoviale possa essere d'importanza fonda-

mentale per il trattamento del paziente. Nella comune pratica ambulatoriale l'identificazione dei cristalli presenti nel liquido sinoviale si basa sulla microscopia ottica in luce trasmessa polarizzata, in quanto questa rappresenta una procedura semplice e non troppo onerosa (Dieppe and Swan, 1999).

La morfologia e le dimensioni possono essere facilmente valutate sui cristalli di maggiori dimensioni, che normalmente raggiungono alcune decine di micron, anche se le particelle più piccole (dell'ordine di pochi micron) possono sfuggire all'osservazione o risultare non classificabili (Fig. 2).

Lo studio della birifrangenza e del segno di allungamento consente di distinguere alcune specie, anche con l'aiuto di compensatori e tecniche di colorazione. Uno dei maggiori svantaggi di questa tecnica è la mancanza di

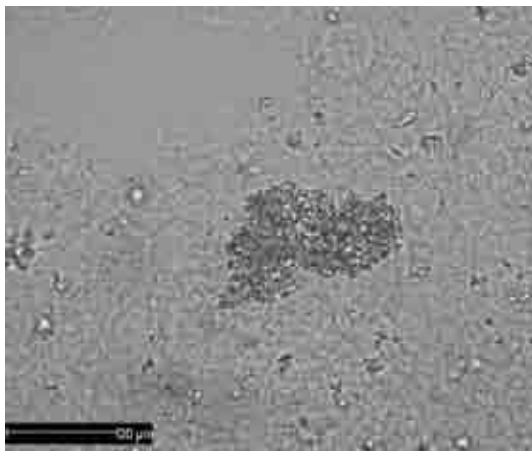


Figura 2. Immagine al microscopio ottico di un aggregato di piccole particelle non classificabili presenti in un campione di liquido sinoviale. Il campione poi analizzato al SEM è risultato contenere cristalli di SiO_2 .

specificità che è in parte attribuibile al possibile errore di interpretazione da parte dell'osservatore (Lumbreras et al., 2005). D'altra parte, il liquido sinoviale può contenere quantità di cristalli e di altre particelle impossibili da identificare con certezza al microscopio ottico, spesso a causa delle dimensioni troppo ridotte. Il microscopio elettronico a scansione (SEM) è stato utilizzato in questa ricerca proprio per caratterizzare in maniera più puntuale tutti i tipi di cristalli e comprendere il loro possibile significato clinico nell'ambito delle malattie reumatiche ed in particolare dell'osteoartrosi. Oltre all'identificazione e caratterizzazione di diversi tipi di cristalli di fosfato di calcio (Fig. 1), in alcuni campioni sono state inaspettatamente rilevate anche particelle di SiO_2 di dimensioni dell'ordine del micron dalla morfologia irregolare e angolosa (Fig. 3c). L'analisi diffrattometrica (XRD) ha sorprendentemente ma inequivocabilmente identificato la fase come quarzo (Oliviero et al., 2008) (Fig. 3d). Un nuovo obiettivo della ricerca è quindi diventato capire dove e come queste particelle si fossero formate. Le ipotesi di una contaminazione accidentale dei campioni o di una provenienza esterna sono state considerate fin dall'inizio e non ancora del tutto escluse, ma l'eventualità che SiO_2 si possa formare

all'interno dell'organismo, e in particolare della capsula articolare, viene attualmente valutata come ipotesi verosimile. È noto che il silicio è presente nel corpo umano ed è associato soprattutto ai tessuti connettivi come ossa e cartilagine. Purtroppo, la tanto comune quanto ingannevole associazione di idee silicio=silice=silicosi ha trasmesso al silicio una pessima fama di elemento causa di terribili patologie polmonari. In verità è altrettanto comune l'impiego di termini simili erroneamente utilizzati come sinonimi (soprattutto silicio, silice, silicone), che generano confusione anche nella terminologia anglosassone (rispettivamente silicon, silica, silicone) e nella loro traduzione. Senza entrare troppo nel dettaglio, la distinzione fra i tre termini è presto fatta dal momento che per silicio si intende inequivocabilmente l'elemento chimico (Si), mentre il silicone è un particolare polimero inorganico contenente silicio.

La silice è invece un composto del silicio la cui formula chimica è SiO_2 , ma la sua apparente semplicità nasconde una notevole difficoltà nel classificare le varie forme in cui si presenta in natura, differenziabili in funzione del grado di ordine della struttura. Si va quindi dalle fasi strettamente cristalline, nel cui diagramma di fase vengono identificati i polimorfi quarzo- α , quarzo- β , tridimite, cristobalite, coesite e stishovite, al cosiddetto "quarzo microcristallino" o "silice microcristallina" per cui le dimensioni granulometriche ($<1 \mu\text{m}$) consentono di identificare diverse specie "fibrose" (calcedonio, agata) e "non-fibrose" (selce, diaspro, onice), per finire con la "silice amorfa" che differisce dalle fasi cristalline per l'assoluta mancanza di ordine e che si può formare in natura nei più disparati contesti (opale, diatomite, vetro, tectite, ossidiana, lechatelierite, fulgurite, ecc.).

Il silicio, soprattutto come ossido (nelle sue varie forme), come si sa è stato ed è molto studiato in relazione, quasi esclusivamente, alla silicosi e patologie simili, legate quindi all'inalazione di particelle dall'ambiente esterno. Sempre in questo contesto, è stato inoltre correlato a malattie autoimmuni (sclerodermia) e patologie renali, oltre ad essere

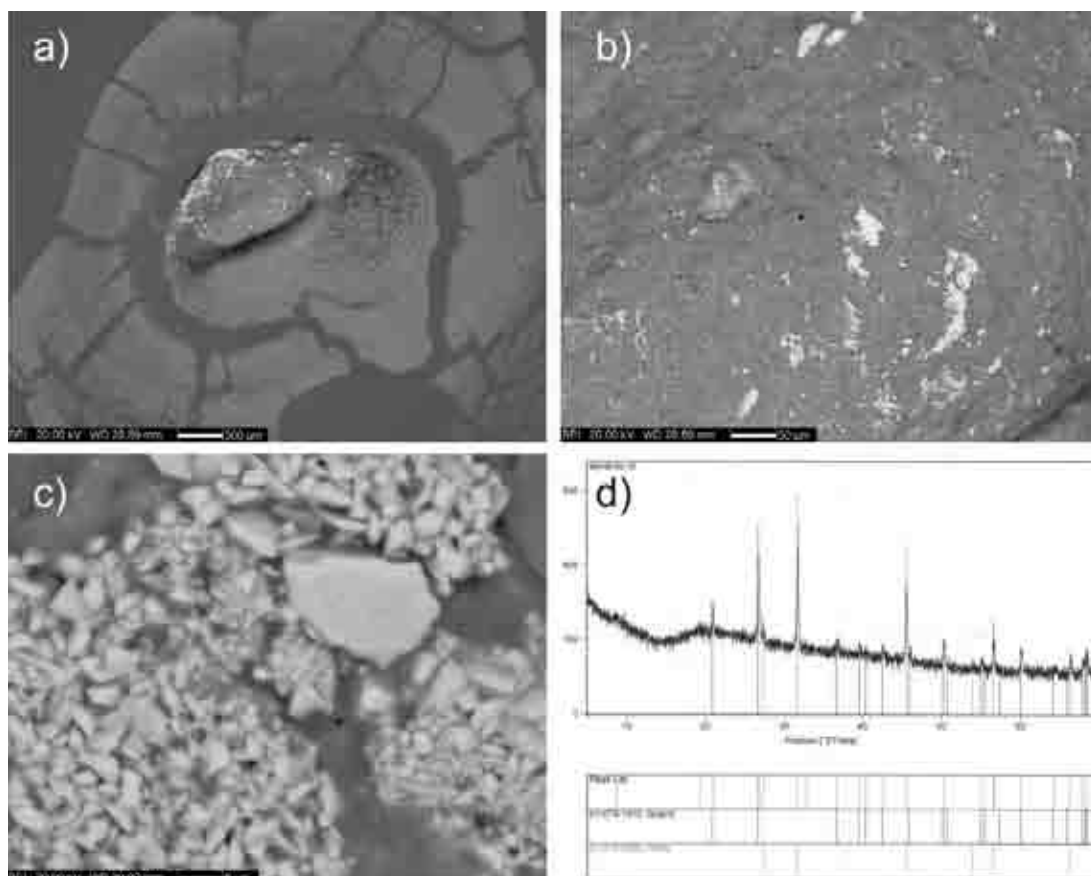


Figura 3. (a): immagine al SEM del concentrato solido di un campione di liquido sinoviale contenente cristalli, depositato sul supporto al carbonio (b): ingrandimento dell'immagine precedente in cui si riconoscono concentrazioni di cristalli di piccole dimensioni. (c): ad elevati ingrandimenti è possibile osservare la morfologia dei cristalli di SiO_2 ed apprezzarne le piccole dimensioni, che raramente raggiungono i 5 micron. (d): lo spettro di diffrazione RX ottenuto da questo campione dimostra la natura cristallina dell' SiO_2 identificato come quarzo.

ritenuto un probabile carcinogeno nell'uomo. Tuttavia, dal momento che il silicio è certamente presente nel corpo umano come abbondante elemento in traccia ed è associato soprattutto ai tessuti connettivi come ossa e cartilagine, ulteriori analisi di dettaglio, tra cui uno studio pilota su una testa femorale, sono attualmente in corso per stabilire se e come cristalli di SiO_2 si possano formare nell'ambiente sinoviale e in quale relazione essi possano essere con la patologia reumatica.

Materiali e metodi

Pazienti e campioni

Mediante artrocentesi sono stati raccolti i liquidi sinoviali dal ginocchio di 25 pazienti af-

fetti da OA (8 M, 17 F, età media 67.4 ± 9.4). I pazienti selezionati non avevano ricevuto iniezioni intraarticolari di steroidi da almeno tre mesi; nessuno era sottoposto a trattamento intraarticolare con acido ialuronico. La descrizione e l'analisi dei parametri clinici dei pazienti sono trattate estesamente in Oliviero et al. (2008).

Analisi del liquido sinoviale mediante microscopia ottica

I campioni di liquido sinoviale sono stati analizzati al microscopio ottico subito dopo l'artrocentesi. Previa centrifuga sono stati identificati cristalli di pirofosfato di calcio diidrato in luce trasmessa polarizzata tramite l'uso di

compensatori, in accordo con il loro segno e grado di birifrangenza e la loro morfologia. La colorazione mediante rosso di alizarina è stata utilizzata per identificare i cristalli di fosfato basico di calcio che reagiscono formando complessi rossi e birifrangenti (Paul et al., 1983).

Le fasi di prelievo, preparazione e analisi dei liquidi sinoviali mediante microscopia ottica si sono svolte presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Padova.

Analisi del liquido sinoviale mediante microscopia elettronica a scansione e diffrattometria a raggi X

Tutti i campioni sono stati accuratamente preparati per l'analisi al SEM utilizzando la medesima procedura. I campioni sono stati manipolati osservando la massima attenzione nell'evitare ogni contaminazione esterna, utilizzando materiale usa e getta (guanti, siringhe, micropipette e provette), in totale assenza di vetro. Per escludere ogni eventualità, campioni di acqua deionizzata sono stati preparati ed analizzati parallelamente ai campioni di liquido sinoviale.

Per ciascun liquido, un volume di circa 5cc è stato utilizzato per separare i cristalli dal liquido. I campioni sono stati centrifugati ad una velocità di 3000 giri/min per 5 minuti, tre volte; dopo ogni centrifuga il liquido superiore è stato estratto e sostituito con acqua deionizzata. Il concentrato solido presente sul fondo della provetta è stato infine estratto con una micropipetta e depositato su un dischetto adesivo al carbonio e asciugato in forno a 30°C per 24 ore. I campioni sono stati successivamente metallizzati a grafite per essere analizzati al SEM utilizzando le normali condizioni analitiche per osservazioni tramite elettroni secondari e retrodiffusi, associate a microanalisi qualitativa EDS (20 kV, 150µA, 30mm). Dopo le osservazioni al SEM alcuni campioni sono stati selezionati per estrarre nuovamente i cristalli da sottoporre ad analisi diffrattometrica. Il concentrato solido dei campioni, ottenuto tramite centrifuga secondo la tecnica prima descritta, è

Tabella 1. Presenza, in ciascuno dei campioni studiati, di CPPD, BCP ed altri cristalli identificati mediante microscopia ottica (OM) ed elettronica a scansione (SEM).

	OM			SEM		
	CPPD	Alizarin stain	Other crystals	CPPD	BCP	SiO ₂
	-	+	+	-	-	+
	-	+	+	-	-	+
	-	+	+	-	-	+
	-	+	+	-	-	+
	-	+	+	-	-	+
	-	+	+	-	-	+
	+	+	+	+	-	+
	-	++	-	+	+	-
	-	+++	+	+	+	-
	-	-	-	+	-	-
	-	++	-	-	+	-
	+	+	-	+	-	-
	-	+	-	-	+	-
	-	++	+	+	+	-
	+	-	-	+	+	-
	-	-	-	-	-	-
	-	++	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-
	-	+	-	-	-	-
	-	+	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-

Tabella 2. Tabella riassuntiva sulla presenza di CPPD, BCP ed altri cristalli identificati mediante microscopia ottica (OM) ed elettronica a scansione (SEM). (k = coefficiente di concordanza).

	OM	SEM	k
	n. (%)		
CPPD	4 (16)	8 (32)	0,83
BCP	15 (60)	6 (24)	0,46
CPPD + BCP	3 (12)	3 (12)	
other	10 (40)	8 (32)	

stato depositato e lasciato asciugare direttamente su uno zerobackground di quarzo, preventivamente testato senza campione per verificare l'assenza di picchi estranei al campione stesso. Le analisi sono state effettuate con diffrattometro delle polveri Philips, con anodo in rame (condizioni di misura: 40kV, 40mA, 15s per step di 0,02° di 2theta). La preparazione e le analisi dei campioni sono state eseguite presso i laboratori del Dipartimento di Geoscienze dell'Università di Padova e dell'Istituto di Geoscienze e Georisorse del CNR (sede di Padova).

Risultati

Come specificato in tabella 1 e riassunto in tabella 2, le analisi effettuate al microscopio ottico hanno rivelato la presenza di pirofosfato di calcio diidrato nel 16% dei liquidi sinoviali, mentre cristalli di fosfato basico di calcio sono presunti nel 60% dei casi data la presenza di complessi birfrangenti colorati dall'alizarina. Nel 40% dei campioni sono stati inoltre osservati cristalli debolmente birfrangenti e di forma irregolare. Le osservazioni eseguite al SEM mediante elettroni secondari e retrodiffusi, associate alla microanalisi EDS, hanno permesso l'identificazione di diverse tipologie di cristalli patogenici. Sono stati rilevati cristalli di pirofosfato di calcio diidrato nel 32% dei campioni e fosfato basico di calcio nel 24% di essi. Entrambi i tipi sono stati identificati assieme nel 12% dei casi. Il grado di concordanza tra microscopia ottica e SEM è risultato di 0.83 per il pirofosfato di calcio (CPPD) e 0.64 per il fosfato basico di calcio (BCP). Oltre ai fosfati di calcio, in 8 dei 10 pazienti (32%) per i quali la microscopia ottica aveva individuato cristalli irregolari (Fig. 2), le analisi al SEM hanno evidenziato la presenza di cristalli di ossido di silicio, verosimilmente SiO_2 (Fig. 3). Uno solo di questi campioni presentava anche cristalli di pirofosfato di calcio. L'analisi SEM-EDS ha consentito di rilevare con certezza la presenza di silicio e ossigeno, ma non è in grado di specificare se la sostanza corrisponda ad una fase cristallina (come quarzo, tridimite, cristobalite, ecc.) o a silice amorfa (vetro, opale, ecc.). Sulla base delle osservazioni compiute al SEM sono stati quindi selezionati alcuni campioni particolarmente ricchi di questo particolato solido da cui estrarre una sufficiente quantità di materiale da sottoporre all'analisi diffrattometrica. Gli spettri di raggi X risultanti dall'analisi hanno rivelato inequivocabilmente i picchi ben definiti di una fase cristallina corrispondente al quarzo (Fig. 3d).

Discussione

In questo studio è stato utilizzato il SEM per caratterizzare i cristalli presenti nei liquidi si-

noviali di pazienti affetti da OA. Sono stati rilevati cristalli di pirofosfato di calcio diidrato nel 32% e di fosfato basico di calcio nel 24% dei campioni dei campioni analizzati. Il dato più rilevante è che il SEM ha consentito, oltre alla caratterizzazione di questi cristalli, di identificare cristalli di SiO_2 nel 32% dei liquidi analizzati. Tuttavia, i cristalli di SiO_2 , che non possono essere distinti al microscopio ottico in base alle loro caratteristiche ottiche o morfologiche, non sembrerebbero tali da indurre ad errate classificazioni né sembrerebbero correlabili con l'attività clinica di malattia. La possibile origine di questi microcristalli di silice all'interno della cavità articolare è tuttora fonte di dibattito. La prima volta che questi cristalli furono identificati come SiO_2 il nostro primo sospetto fu rivolto ad una possibile contaminazione di alcuni campioni. Particelle composte da silicio sono state precedentemente descritte in liquidi sinoviali e interpretate come artefatti generati durante le procedure tecniche di analisi (Bardin et al., 1984; Faure et al., 1985).

Il nostro tentativo è stato dunque quello di verificare l'attendibilità di questa ipotesi ripetendo immediatamente le analisi al SEM evitando ogni tipo di materiale contenente vetro. Inoltre, dall'analisi di campioni di confronto preparati con acqua deionizzata non si è rilevata alcuna traccia di SiO_2 . Infine, per accertare che il silicio non fosse rilasciato in alcun modo dalle provette, sei di queste, non ancora utilizzate per depositare il campione di liquido sinoviale, sono state riempite di acido fluoridrico (in grado di dissolvere il quarzo); dopo cinque giorni l'acido contenuto nelle provette è stato analizzato mediante ICP-OES dando esito negativo per il silicio. A questo punto, stabilito che queste particelle possono ragionevolmente essere definite microcristalli di silice, la domanda è: da dove provengono?

Se l'ipotesi della contaminazione dei campioni è prossima ad essere scartata, non è ancora del tutto esclusa la possibilità di un'origine esterna, per esempio a seguito di inalazione (polveri), ingestione (farmaci, cibo) o altre forme di introduzione dall'esterno (far-

maci, protesi). Tuttavia, è certamente più avvincente esplorare la possibilità alternativa che i cristalli si formino all'interno dell'organismo umano, più probabilmente all'interno della capsula articolare (liquido sinoviale, tessuto sinoviale, cartilagine o osso).

È noto che il silicio è uno dei più abbondanti elementi in traccia presenti nel corpo umano ed è associato in special modo ai tessuti connettivi, come ossa, tendini, cartilagine, pelle e vasi sanguigni. È certo inoltre che esso gioca un ruolo fondamentale nella crescita ossea e nella formazione della cartilagine e può agire come agente cross-linkante nella formazione dei tessuti connettivi. Concentrazioni crescenti di silicio sono state misurate in corrispondenza del callo osseo durante la rigenerazione dei tessuti in seguito a fratture (Belous and Skoblin, 1963). Facilitando l'interazione fra mucopolisaccaridi e proteine, il silicio contribuisce anche all'architettura e all'elasticità della cartilagine (Carlisle, 1970; Schwarz, 1973). Diversi esperimenti in vitro, ex vivo e in vivo riportano gli effetti benefici della somministrazione di silicio sullo sviluppo di ossa e cartilagine, anche se i meccanismi non sono ancora completamente chiari (Lassus, 1997; Reffitt et al., 2003). In un contesto certamente diverso, anche l'organismo umano si è visto in grado di produrre calcoli urinari silicei (Kim et al., 1983),

fatto assai comune per molti altri animali (Stewart et al., 1990).

D'altra parte è ben noto che nel mondo biologico molti organismi (spugne, diatomee, radiolari, piante e molluschi) sono in grado di produrre strutture silicee anche da soluzioni sottosature, pH circa neutro e a temperature e pressioni ambientali (Dove et al., 2003). In questo ambito è decisamente rilevante sottolineare la capacità di alcune piante di produrre silice cristallina (Lanning et al., 1958; Sterling, 1967; McManus et al., 1979; Harper et al., 1982; Lanning and Eleuterius, 1985).

A sostegno dell'ipotesi che quarzo microcristallino si possa formare nella capsula articolare è interessante considerare che alcuni ricercatori hanno prodotto silice con tessitura cristallina a partire da una soluzione acquosa, a pH 7, a pressione e temperatura ambiente, in presenza di biomolecole (Perry and Keeling-Tucker, 1998).

Anche a seguito di queste osservazioni e considerazioni è stato recentemente iniziato uno studio pilota su una testa di femore. Le prime analisi al SEM hanno rivelato una concentrazione sorprendentemente elevata di silicio in alcuni punti localizzati in un sottile livello di circa 15µm sulla superficie dell'osso corticale (Fig. 4). Questa unica misurazione non è assolutamente sufficiente per affermare che cristalli di SiO₂ si possano formare in

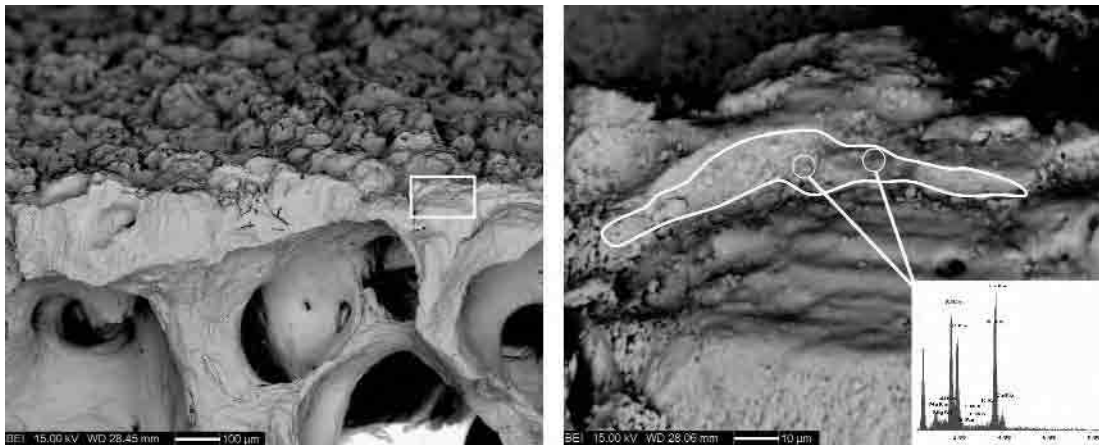


Figura 4. Immagini al SEM di una sezione trasversale della testa di femore analizzata. Nell'immagine a sinistra sono evidenti le differenti strutture dell'osso trabecolare (porzione inferiore) e dell'osso corticale (porzione superficiale). Nell'immagine di destra (il dettaglio dell'immagine precedente), si osserva il sottile strato superficiale (contornato in bianco) in cui, mediante analisi puntuali SEM-EDS, sono state misurate elevate concentrazioni di silicio.

quel contesto ed evidentemente sono necessarie ulteriori analisi di approfondimento.

In conclusione, le implicazioni relative ai cristalli di SiO₂ da noi rinvenuti nei liquidi sinoviali sono ancora da chiarire, ma la loro presenza non sembra consistente con l'ipotesi di un'origine esterna. Assieme a ciò, numerosi studi convergono a rendere verosimile l'ipotesi che cristalli di SiO₂ si possano formare anche nel corpo umano.

Il primo obiettivo delle ricerche attualmente in corso è pertanto stabilire in maniera definitiva se e come i cristalli di SiO₂ si formino nella cavità articolare e quali possano essere le relazioni tra questi e la patologia reumatica in atto.

Poiché l'analisi dei cristalli presenti in liquidi sinoviali patologici è indispensabile per una diagnosi precoce e corretta della malattia, un loro studio più approfondito potrebbe rivelarsi fondamentale per migliorare la comprensione di patologie le cui cause e meccanismi sono ancora parzialmente sconosciuti e per le quali non esistono ancora terapie completamente efficaci.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Dr A. Giaretta per le analisi ICP-OES e il Dr F. Zorzi per le analisi XRD e le utili discussioni sulla silice.

Referenze

Bardin, T., Schumacher, H.R., Lansaman, J., Rothfuss, S., Dryll, A., 1984. Transmission electron microscopic identification of silicon-containing particles in synovial fluid: potential confusion with calcium pyrophosphate dihydrate and apatite crystals. *Ann Rheum Dis*, 43, 624-7.

Belous, A.M., Skoblin, A.P., 1963. Silicon content of bone callus in experimental fractures. *Journal Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 53, 5, 552-554.

Carlisle, E.M., 1970. Silicon: a possible factor in bone calcification. *Science*, 167, 279-80.

Chen, L.X., Schumacher, H.R., 2006. Current trends in crystal identification. *Curr Opin Rheumatol*. 18, 171-3.

Dieppe, P., Swan, A., 1999. Identification of crystals in synovial fluid. *Ann Rheum Dis*. 58, 261-3.

Dove, P.M., De Yoreo, J.J., Weiner, S. (eds), 2003. *Biom mineralization. Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, vol. 54.

Faure, G., Netter, P., Bene, M.C., 1985. Silicon-containing particles in synovial fluid: scanning electron microscopy coupled with analytical techniques allows an easy identification and differentiation from pathologically relevant crystals. *Ann Rheum Dis*, 44, 148-50.

Harper, R.J., Gilkes, R.J., Robson, A.D., 1982. Biocrystallization of Quartz and Calcium Phosphates in Plants. A Re-examination of the Evidence. *Aust J Agric Res*, 33, 565-71.

Kim, K.M., David, R., Johnson, F.B., 1983. Siliceous deposits in human urinary calculi. E. M. study. *Journal Urological Research*. 11, 4, 155-158.

Lanning, F.C., Eleuterius, L.N., 1985. Silica and Ash in Tissues of Some Plants Growing in the Coastal Area of Mississippi, USA. *Annals of Botany*, 56, 157-172.

Lanning, F.C., Ponnaiya, B.W.X., Crumpton, C.F., 1958. The chemical nature of silica in plants. *Plant Physiol*, 33(5), 339.

Lassus, A., 1997. Colloidal silicic acid for the treatment of psoriatic skin lesions, arthropathy and onychopathy. A pilot study. *J Int Med Res*, 25(4), 206-209.

Lumbreras, B., Pascual, E., Frasquet, J., Gonzalez-Salinas, J., Rodriguez, E., Hernandez-Aguado, I., 2005. Analysis for crystals in synovial fluid: training of the analysts results in high consistency. *Ann Rheum Dis*, 64, 612-5.

McManus, W.R., Anthony, R.G., Grout, L.L., Malin, A.S., Robinson, V.N.E., 1979. Biocrystallization of mineral material on forage plant cell walls. *Aust J Agric Res*, 30, 635-49.

Oliviero, F., Frallonardo, P., Peruzzo, L., Ramonda, R., Sfriso, P., Scanu, A., Tauro, L., Lioté, F., Punzi, L., 2008. Evidence of silicon dioxide crystals in synovial fluid of patients with osteoarthritis. *J Rheumatology*, (in print).

Paul, H., Reginato, A.J., Schumacher, H.R., 1983. Alizarin red S staining as a screening test to detect calcium compounds in synovial fluid. *Arthritis Rheum*, 26, 191-200.

Perry, C.C., Keeling-Tucker, T., 1998. Crystalline silica prepared at room temperature from aqueous solution in the presence of intrasilica bioextracts. *Chem Commun*, 2587-2588.

Reffitt, D.M., Ogston, N., Jugdaohsingh, R., Cheung, H.F.J., Evans, B.A.J., Thompson, R.P.H., Powell, J.J., Hampson, G.N., 2003. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone*, 32(2), 127-35.

Rosenthal, A.K., 2007. Update in calcium deposition diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 19, 158-62.

Schwarz, K., 1973. A bound form of silicon in glycosaminoglycans and polyuronides. *Proc Natl Acad Sci USA*, 70, 1608-12.

Sterling, C., 1967. Crystalline silica in plants. *Amer J Bot*, 54(7), 840-844.

Stewart, S.R., Emerick, R.J., Pritchards, R.H., 1990. High dietary calcium to phosphorus ratio and alkali-forming potential as factors promoting silica urolithiasis in sheep. *J Anim Sci*. 68, 498-503.

Whelan, L., Whelan, L.C., Morgan, M.P., McCarthy, G.M., 2005. Basic calcium phosphate crystals as a unique therapeutic target in osteoarthritis. *Front Biosci*. 10, 530-41.

CONDENSAZIONE PREFERENZIALE E CAMBIAMENTO CONFORMAZIONALE SPONTANEO DEL DNA SU SUPERFICI DI FILLOSILICATI

DNA CONDENSATION, ORDERING AND SPONTANEOUS CONFORMATIONAL CHANGES ONTO LAYER SILICATES

Giovanni Valdrè

Dipartimento di Scienze della Terra e Geologico-Ambientali, Università degli Studi di Bologna,
Piazza di Porta San Donato 1, 40126 Bologna. E-mail: giovanni.valdre@unibo.it

Abstract

The main purpose of this paper aims at the characterisation of the surface potential of various layered minerals for the control of DNA, nucleotides and cells adsorption. A critical factor in the imaging of biomolecules and biomolecular processes is the nature of the substrate on which the biomolecule is adsorbed. In the past, the underlying assumption, derived from current models of biomolecules' adsorption, is that the substrate surface plays a "passive" role in the process and functionalization is required before or during the deposition. Several techniques have been developed to tailor the adsorption of biomolecules according to different experimental requirements. These include the functionalization of the surface with self-assembled monolayers, the use of ligand-receptor complexes and the regulation of the buffer conditions. Our experiments showed clearly that the above assumption is not completely correct for layer silicates because very similar atomic flat crystals, as in the case of muscovite and biotite, presented very different affinity to DNA adsorption. Furthermore, it was found that chlorites have the ability to nanoconfine the deposition of DNA molecules on particular areas (brucite-like) of the surface. This effect became even more interesting when it was noted that some DNA strands could be stretched between two brucite areas. The stretching was shown to be produced by the anisotropy of the surface potential and therefore can be considered an

active process induced by the surface. The molecules were also shown to be "suspended" between the two brucite areas with very small interactions with the underlying surface. The possibility to manipulate DNA molecules on a flat surface, as in the case of chlorite, has great potential, in biological, medical and health sciences, for example to exploit its use (and that of similar layer silicates) to study DNA-enzyme complexes, cellular behaviour and biochemical assays.

Introduzione

Un parametro critico relativo all'osservazione e allo studio a singola molecola di processi biologici è la natura del substrato su cui far assorbire e "fissare" la biomolecola stessa. L'ipotesi fondamentale da cui sono derivati i modelli recenti di bioassorbimento molecolare, risiede nel fatto che i substrati giocano un ruolo "passivo" nel processo e quindi si rende necessaria una funzionalizzazione della superficie per rendere efficace la deposizione. Diverse metodologie sono state quindi sviluppate per consentire le specifiche deposizioni. Queste includono i metodi di funzionalizzazione mirati all'autoassemblaggio molecolare di monostrati, l'uso di complessi ligando-recettore e il controllo delle caratteristiche chimico-fisiche del buffer contenente le biomolecole (pH, contenuto ionico, tipo e valenza dello ione elettrolita, ecc.). I risultati di nostri esperimenti recenti hanno però evidenziato che queste ipotesi non sempre sono necessarie per i fillosilicati, poiché super-

fici, atomicamente piane e molto simili, quali quelle delle muscoviti e delle biotiti hanno invece mostrato un'affinità e una condensazione molto differente per il DNA (Valdrè et al., 2004). Inoltre, si è scoperto che superfici di clorite presentano la capacità di "nanoconfinare" la deposizione di molecole di DNA in aree superficiali particolari, quelle di tipo-brucite (Valdrè et al., 2004; Valdrè, 2005; Valdrè, 2006a). Questo effetto è diventato ancor più interessante quando si è visto che singoli filamenti di DNA possono essere posti in tensione meccanica tra due substrati brucitici adiacenti ottenuti per sfaldatura (Antognozzi et al., 2006). Si è dimostrato che lo stiramento (stretching) del singolo filamento di DNA è causato dall'anisotropia del potenziale elettrico alla superficie della clorite e quindi può essere considerato un processo attivo indotto dalla particolare superficie (Valdrè, 2007a). Si è visto che le molecole di DNA in tensione sono sospese "a ponte" tra strati adiacenti di brucite con un'interazione elettrostatica debole tra la superficie sottostante e quella parte di DNA sospeso. La misura sperimentale dell'elongazione e anche la si-

mulazione teorica hanno evidenziato una possibile transizione conformazionale della molecola stessa del DNA indotta dal potenziale nanoconfinato presente sulla superficie della clorite.

Risultati e discussione

E' stata adottata la formulazione strutturalistica atomico-molecolare, che mostra come gli atomi e le molecole sono distribuiti alla superficie, che è l'interfaccia fra l'interno (bulk) di un solido con l'ambiente esterno, e come queste possono interagire con biomolecole semplici o complesse di interesse per la biomedicina, le biotecnologie e per l'origine della vita. Questi studi non soltanto ci consentono di ottenere delle informazioni su quali possano essere gli habitat di questi "oggetti" ma, quale ulteriore risultato, possono portare anche ad individuare materiali di utilità per le biotecnologie o per la ricerca biomedica. L'approccio di ricerca è di tipo "bottom-up": si parte dalle molecole del substrato, dai potenziali di superficie, per cercare di capire cosa può succedere quando un "oggetto" organico semplice o complesso, quindi già or-

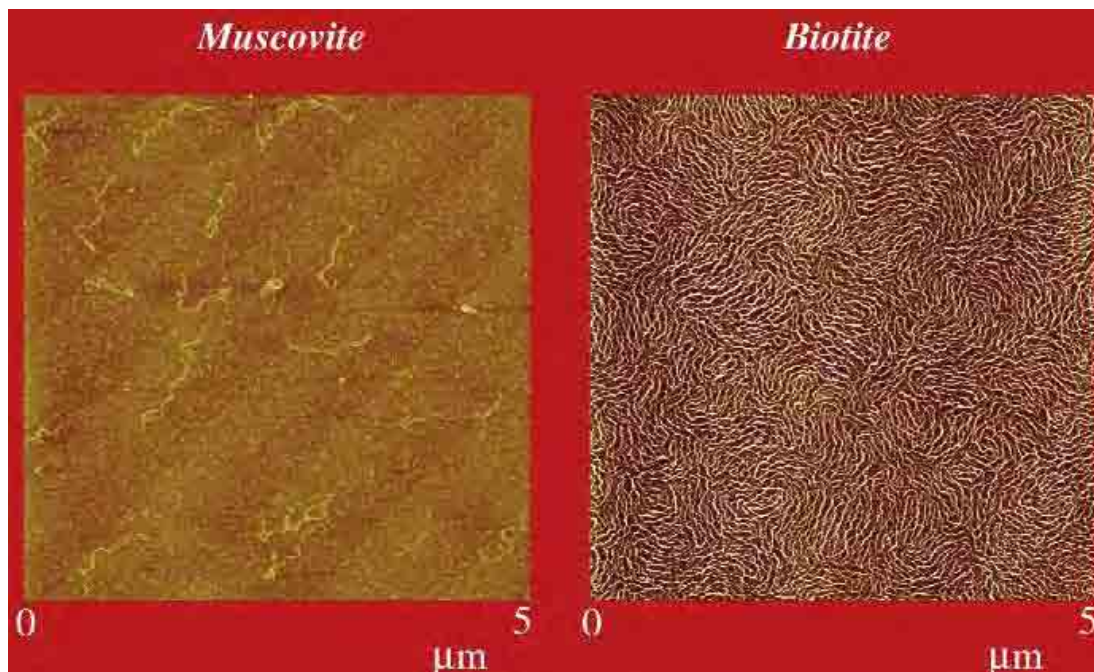


Figura 1. Immagine AFM della deposizione di DNA, nelle stesse condizioni sperimentali, su superfici atomicamente piane di Muscovite e Biotite.

ganizzato, tipo una cellula, interagisce con una superficie minerale.

La figura 1 riporta immagini di microscopia a forza atomica (AFM) della deposizione del DNA, condotta nelle stesse condizioni sperimentali, su due superfici di minerali estremamente diffusi in natura quali la muscovite e la biotite appartenenti al gruppo delle miche. Prima della deposizione le superfici dei due minerali erano state sfaldate per garantire la planarità a livello atomico. Depositando sulle due superfici concentrazioni omogenee di DNA nelle stesse condizioni termodinamiche, il risultato è il seguente: nel caso della muscovite, le molecole di DNA sono disperse e si riescono a distinguere circa una decina di singoli filamenti con le tipiche conformazioni rilassate del DNA; nel caso della biotite si nota una condensazione del DNA di circa 50-100 volte più elevata, tant'è che il deposito si presenta come un film continuo. Dalle due immagini si deduce che la superficie di un minerale, nonostante la planarità atomica e l'appartenenza allo stesso gruppo mineralogico, può interagire con la sostanza organica in modi completamente differenti a causa del differente potenziale atomico di superficie (Valdrè, 2007a).

Occorre tener presente che gli atomi che costituiscono la superficie di un cristallo non si trovano in una condizione energetica identica a quella degli atomi che sono all'interno del cristallo che hanno la quasi totalità dei legami soddisfatti, ma sono in una condizione particolare. Quando in natura un minerale viene sfaldato si creano delle superfici libere; queste superfici interagiscono con l'ambiente circostante e tendono ad una condizione di equilibrio. Ad esempio in figura 2 si vedono i piani di sfaldatura basale della clorite, minerale diffuso in molti suoli argillosi. I singoli piani presenti in figura 2 differiscono in altezza di solo mezzo nanometro e corrispondono quindi ai piani di tipo brucite e tipo silossano. Considerati singolarmente, i due piani presentano delle caratteristiche chimiche e di potenziale elettrico superficiale completamente differenti. La figura 3 riporta una serie di immagini di microscopia a forza elet-

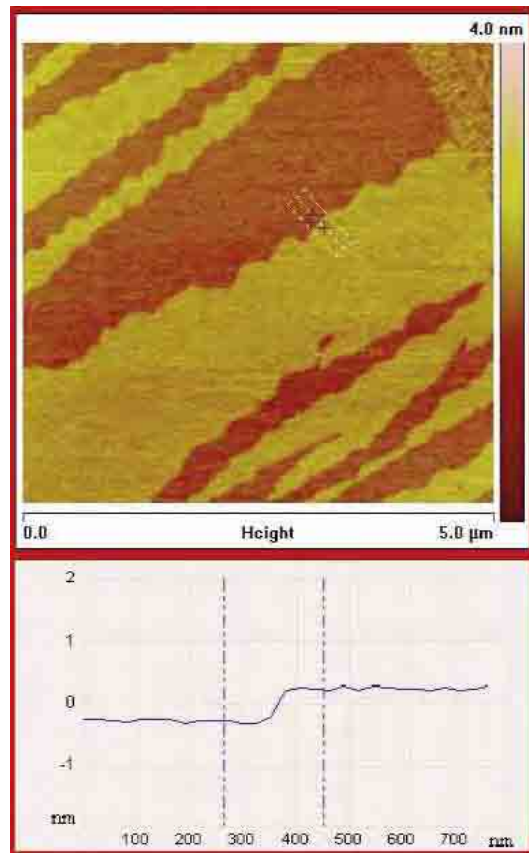


Figura 2. In alto: Immagine AFM della superficie di sfaldatura di un monocristallo di clorite. In basso: analisi quantitativa del profilo di un gradino brucitico lungo la linea indicata nella figura in alto.

trica (EFM) che ci permette di osservare come varia il potenziale alla superficie della clorite a mano a mano che ci allontaniamo dalla superficie stessa. La prima immagine è stata presa alla distanza di 10 nanometri dalla superficie, la seconda a 15, la terza a 30, poi a 50 e a 70nm. Con le osservazioni EFM possiamo misurare e vedere la distribuzione spaziale di un potenziale efficace di superficie variabile da qualche unità a centinaia di mV; esso si azzera a circa 100-200 nanometri a seconda delle condizioni ambientali. Queste osservazioni sperimentali sono state integrate da simulazioni bidimensionali dell'andamento del potenziale utilizzando le leggi dell'elettrostatica (Valdrè, 2006b; Valdrè, 2006c; Valdrè and Moro, 2006; Valdrè et al., 2006; Valdrè, 2007a; Valdrè and Moro,



Figura 3. Immagini EFM dell'andamento del potenziale di superficie della clorite in funzione della distanza.

2007). In figura 4 viene riportato l'andamento del potenziale calcolato: esso è elevato in prossimità della superficie, poi tende a calare e raggiunge zero a 200 nanometri circa in accordo con i dati sperimentali. Per capire come si genera questo comportamento, ovviamente, l'approccio deve essere quello della strutturistica.

La clorite è un fillosilicato costituito da tanti strati TOT di spessore nanometrico e che mediamente sono negativi, inframmezzati da strati positivi di tipo brucite di circa mezzo nanometro di spessore. Segue nuovamente uno strato TOT, poi ancora la brucite e così via. Possiamo considerare la struttura come composta da impilamenti (stacking) alternati,

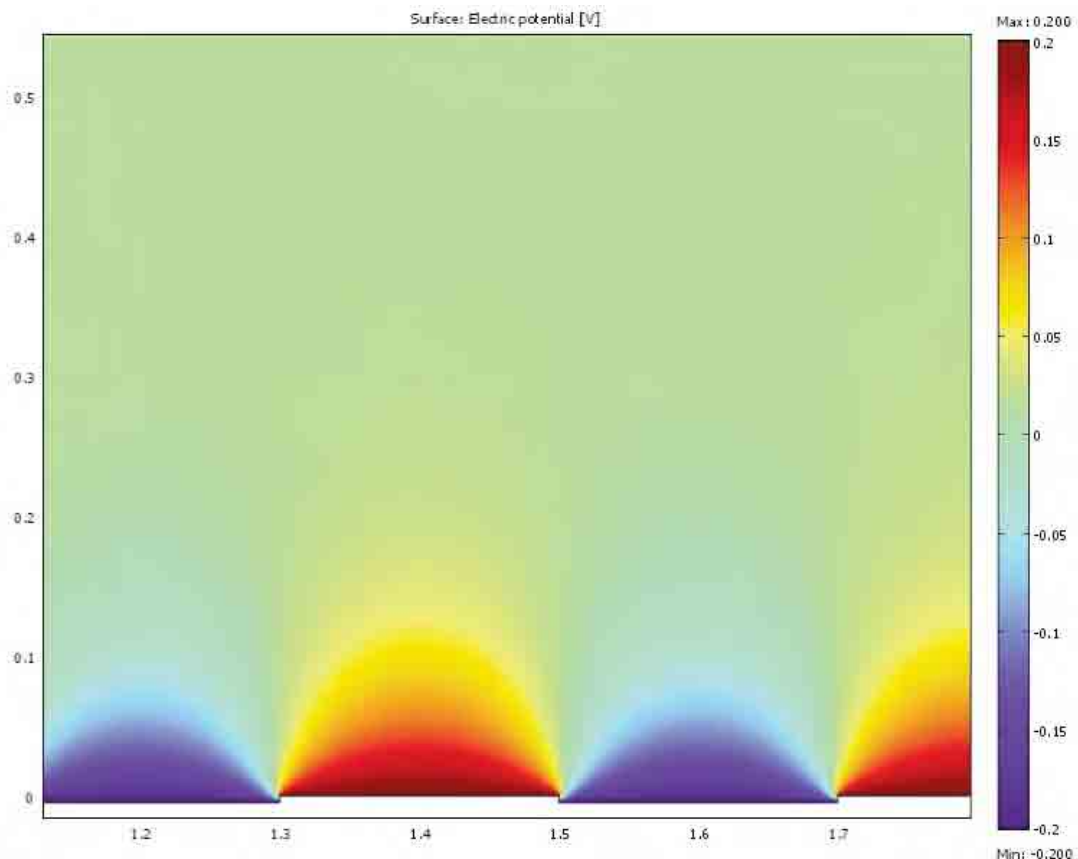


Figura 4. Simulazione teorica dell'andamento del potenziale di superficie della clorite. Sono stati simulati sia gli strati positivi tipo brucite (rosso) e sia gli strati negativi tipo silossano (blu).

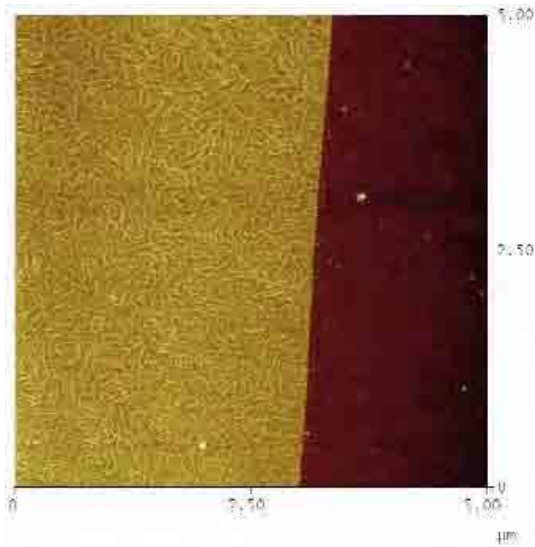


Figura 5. Deposizione di DNA su superfici di clorite che presentano strati brucitici (positivi) con DNA e strati silossanici senza DNA.

regolari, di questi strati positivi e negativi. Alla superficie di sfaldatura questi strati non appaiono continui, ma presentano particolari morfologie a seconda della tipologia di frattura. La figura 5 mostra un'immagine AFM di una superficie naturale sfaldata di clorite dopo l'interazione con una soluzione a pH 7.5 contenente DNA. Si osserva che la fascia laterale sinistra del minerale è completamente ricoperta da filamenti di DNA, che è distribuito sulla superficie quasi senza soluzione di continuità, mentre la fascia laterale destra è completamente esente da DNA. La superficie del lato di sinistra è costituita da uno strato positivo di tipo brucitico e poichè il DNA in queste condizioni sperimentali si trova essenzialmente in uno stato di carica negativa, viene conseguentemente attirato e depositato. Il lato destro, invece, che corrisponde alla superficie tipo silossanica negativa, ovviamente non accetta il DNA.

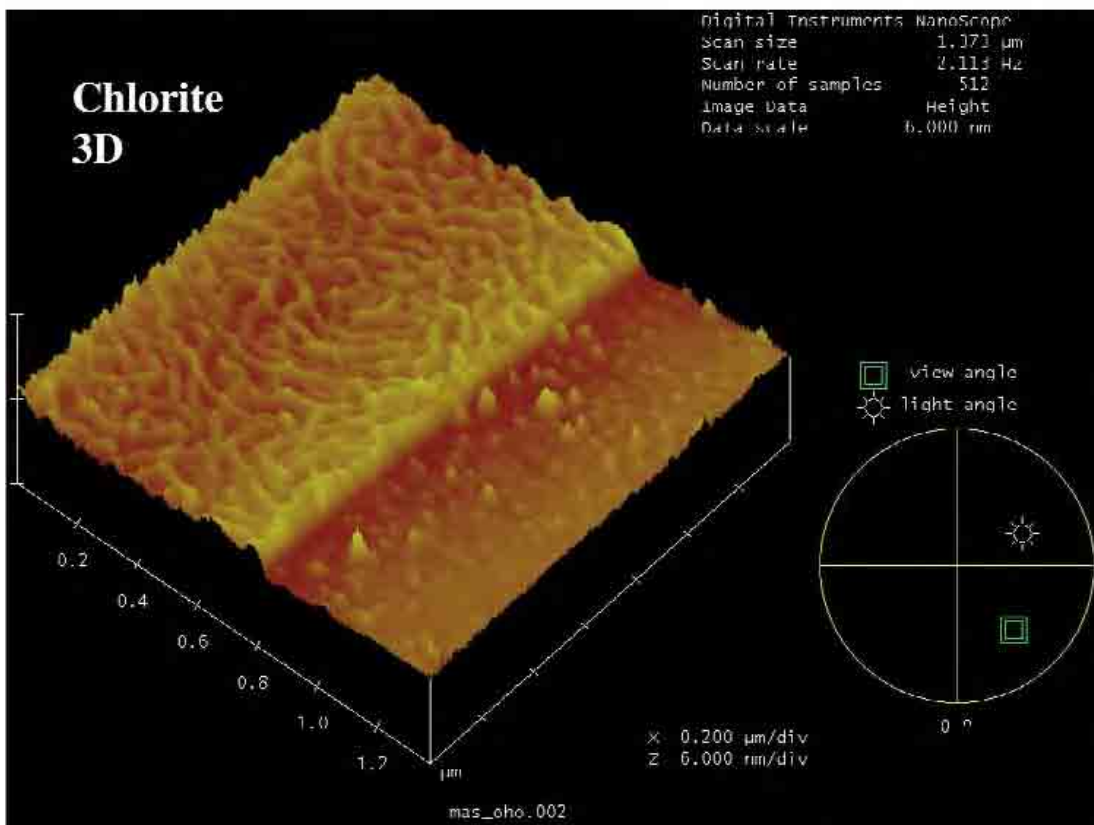


Figura 6. Immagine AFM 3D della deposizione selettiva del DNA su clorite.

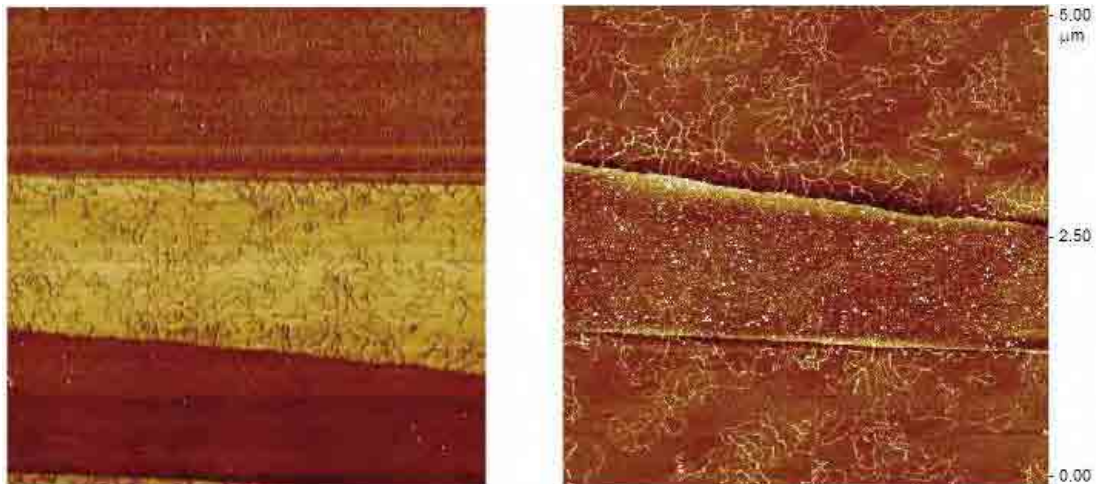


Figura 7. Immagine AFM di due facce antispeculari sfaldate di Clorite: in una faccia il DNA si è depositato soltanto nella parte centrale; nell'altra faccia, invece, che è antisimmetrica e che per sfaldatura porta l'opposto delle cariche, il DNA si è depositato nelle due zone in alto e in basso, evitando quella centrale.

In figura 6 si può osservare un'immagine 3D della deposizione del DNA sulla clorite, nella quale è ben visibile il gradino di discontinuità della superficie: nella parte in alto a sinistra sono presenti tanti filamenti visti in 3D, nella parte in basso a destra non c'è DNA, ma solo alcuni sali precipitati dalla soluzione che appaiono sotto forma di piccoli agglomerati. La figura 7 mostra come la simmetria del cristallo possa giocare un ruolo fondamentale in questi fenomeni di interazione. La figura riporta l'immagine AFM delle due facce antispeculari sfaldate: in una faccia il DNA si è depositato soltanto nella parte centrale; nell'altra faccia, invece, che è antisimmetrica e che per sfaldatura porta l'opposto delle cariche, il DNA si è depositato nelle due zone in alto e in basso, e non in quella centrale.

Sono state anche studiate le superfici di altri fillosilicati e minerali a strati estremamente diffusi. Per esempio nel caso della flogopite si osserva che anche questo fillosilicato presenta un'altissima densità di deposizione del DNA. Sono state confrontate le superfici di quattro minerali in interazione con il DNA: il talco, la pirofillite, la brucite e la vermiculite. Ognuna di esse presenta un proprio schema (pattern) di interazione con la molecola del DNA producendo una caratteristica distribuzione superficiale (Valdrè et al., 2004;

Antognozzi et al., 2006; Bruno et al., 2006). È interessante notare come sulla superficie della vermiculite i singoli filamenti del DNA si siano disposti in modo tale da creare una maglia continua a disegno pseudoesagonale sulla superficie (Valdrè et al., 2004). Osservazioni condotte su un elevato numero di campioni (>100) hanno permesso di affermare che statisticamente, fra i fillosilicati, quelli triottaedrici a bassa carica media superficiale hanno una elevata affinità a condensare il DNA (figura 8). Abbiamo osservato che la superficie del fillosilicato non soltanto può condensare il DNA, ma può indurre dei cambiamenti conformazionali sponta-

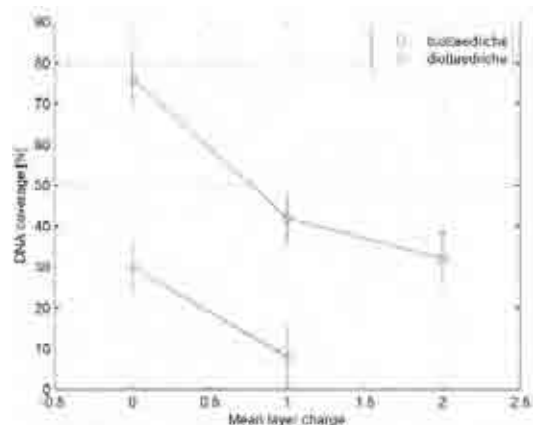


Figura 8. Ricopertura superficiale % in funzione della carica media di strato per fillosilicati di- e tri-ottaedrici.

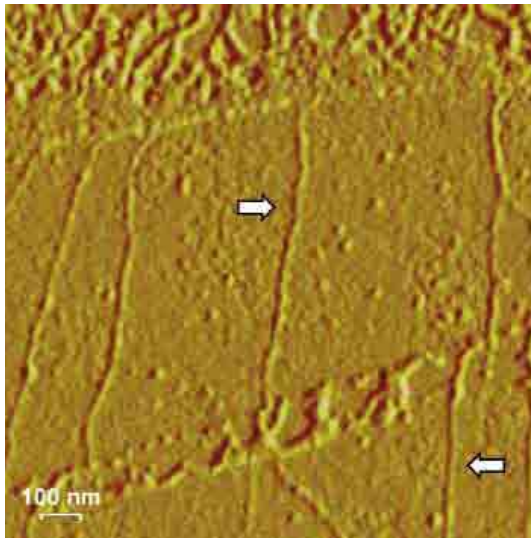


Figura 9. Immagine AFM di singoli filamenti di DNA (indicati da frecce) in una conformazione allungata (stretched) indotta dalla particolare distribuzione del potenziale di superficie della clorite.

nei della molecola e si può controllare questo effetto (Valdrè, 2007a; Valdrè, 2007b).

La figura 9 riporta un'immagine AFM della superficie della clorite che presenta delle zo-

ne positive a condensazione elevata di DNA, mentre in altre zone (indicate da frecce) il DNA appare sotto forma di piccoli filamenti singoli in una conformazione di tipo allungata (stretched). In queste aree, infatti, il DNA viene portato in tensione da una forza elettrostatica generata da un gradiente di campo che si stabilisce ai bordi degli strati brucitici sopra lo strato silossanico, così che la molecola non è più in una condizione rilassata bensì tesa cambiando conformazione molecolare. Sperimentalmente questo stiramento è misurabile in circa 1.5 volte la lunghezza della molecola "rilassata" in equilibrio. Abbiamo valutato tramite simulazioni la forza indotta sulla molecola da un gradiente di potenziale di circa 100 mV (figura 10) che è risultata di circa 60 pN. Considerando il diagramma conformazionale del DNA pubblicato da Bustamante et al. (2003) possiamo notare che a questa forza corrisponde una elongazione molecolare di circa 1.6 in ottimo accordo con i dati sperimentali.

La superficie della clorite può quindi indurre una trasformazione del DNA da una confor-

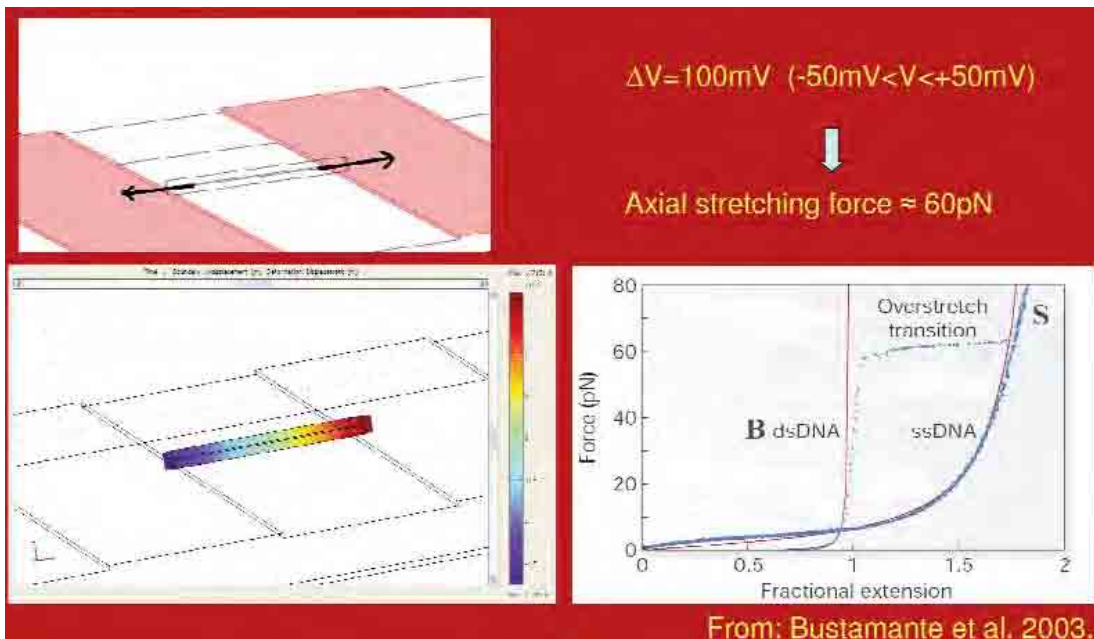


Figura 10. Simulazioni della forza indotta sulla singola molecola di DNA da un gradiente di potenziale di circa 100 mV sulla superficie della Clorite. La forza è risultata di circa 60 pN e considerando il diagramma conformazionale del DNA pubblicato da Bustamante et al. (2003), riportato a destra, si può notare che a questa forza corrisponde una elongazione molecolare di circa 1.6 in ottimo accordo con i dati sperimentali.

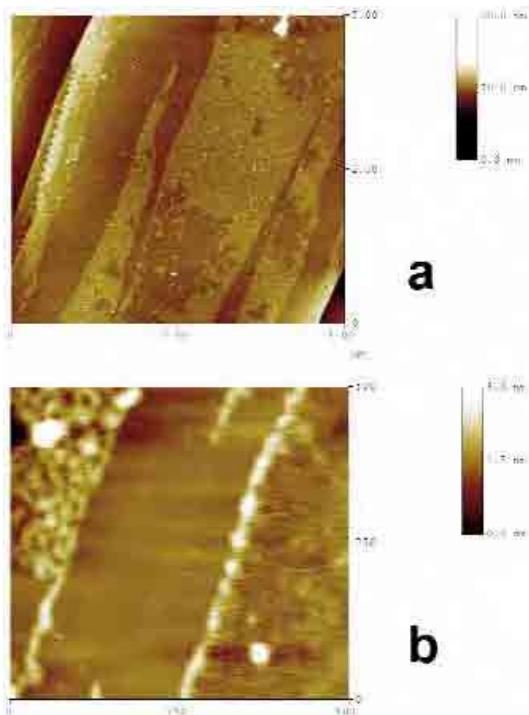


Figura 11. Immagini AFM dell'interazione di singoli nucleotidi con la superficie della clorite. (a) Deposizione a strati come per il DNA; (b) allineamenti e filamenti di singoli nucleotidi ai bordi degli strati brucitici.

mazione iniziale ad una superiore senza l'azione di alcun agente esterno e/o enzima, soltanto per la presenza di un campo elettrico superficiale naturale distribuito spazialmente su aree nanometriche.

E' stata studiata anche l'interazione di superficie della clorite con "oggetti" molecolari ben più piccoli del filamento di DNA, importanti per le biotecnologie, l'origine della vita o per lo studio dell'habitat della vita. Considerando

l'elemento più piccolo che distingue il DNA, il nucleotide, una delle unità di base, abbiamo osservato cosa succede quando singoli nucleotidi, quindi non più filamenti già polimerizzati, interagiscono con una superficie di clorite sfaldata a zone brucitiche e silossaniche (Figura 11a). Dopo la deposizione anche il nucleotide, come il DNA, segue le "piste" naturali, ovverosia ciò che la natura ha creato sulla superficie di questi oggetti. Immagini prese a più alto ingrandimento ci consentono di notare delle zone a fortissima condensazione di nucleotidi e, in corrispondenza del bordo, dove il gradiente di potenziale è più elevato, il materiale è capace di creare degli allineamenti naturali di singoli nucleotidi (fig.11b). Inoltre, se si studiano i profili e gli spessori di questi depositi, si osserva che questi risultano essere molto simili a quelli del DNA e che il potenziale naturale è capace di condensare e allineare le molecole semplici della vita. In figura 12 è riportato uno schema di deposizione dei nucleotidi sulla clorite. Un recente risultato d'interesse per le nano-biotecnologie, è stato quello della possibilità di eseguire nanolitografia delle piste brucitiche della clorite (Valdrè, 2007c; Valdrè, 2007d). La figura 13 mostra delle piste artificiali create "scavando" parti di singoli monolayer brucitici. In questo modo si apre la possibilità di creare patterns ad-hoc per specifiche applicazioni biotecnologiche.

Le superfici minerali sono in grado di interagire in modo specifico anche con elementi biologici più complessi e organizzati quali le cellule. La figura 14 mostra un esempio di deposizione di globuli rossi su alcuni dei mi-

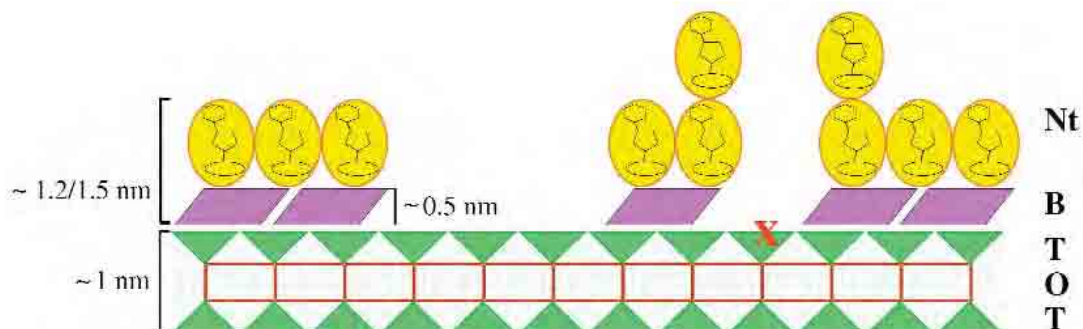


Figura 12. Schema di deposizione dei nucleotidi sulla clorite.

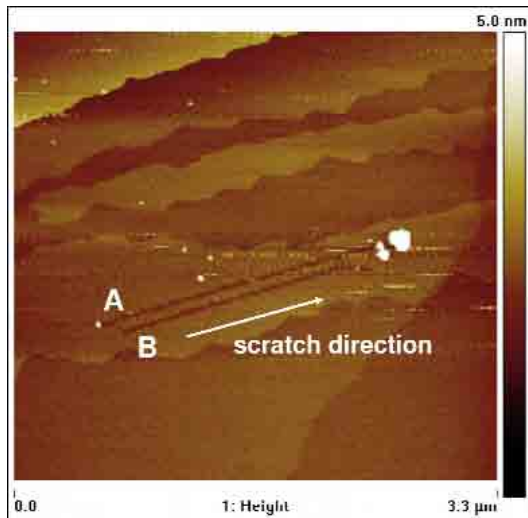


Figura 13. Dimostrazione della possibilità di eseguire "Nanolitografia" su clorite. La figura AFM riporta delle piste artificiali A e B create "scavando" parti di singoli molayer brucitici usando una punta AFM.

nerali che abbiamo osservato in precedenza e di cui abbiamo già una notevole banca dati. I globuli rossi sono stati fatti interagire, tutti quanti preparati nelle stesse condizioni, con superfici di fillosilicati, poi, utilizzando un microscopio AFM, si è tentato di sollecitare le cellule con la nanopunta del microscopio inducendo una componente di "shear" (scorrimento) alla cellula (Valdrè and Fabbrizioli, 2006).

La figura 14a, relativa alla muscovite ci mostra un'immagine del globulo rosso non adeso alla superficie, bensì si notano i movimenti indotti dalla nano-sollecitazione meccanica. In questo caso l'interazione con la superficie è bassa. Sulla biotite (fig 14b), invece, a parità di sollecitazione laterale, i globuli rossi sono ben fermi, ancorati, così come avviene sulla clorite e vermiculite (fig.14c). In quest'ultimo caso, nell'immagine 14d è possibile osservare un singolo canale molecolare alla superficie della membrana

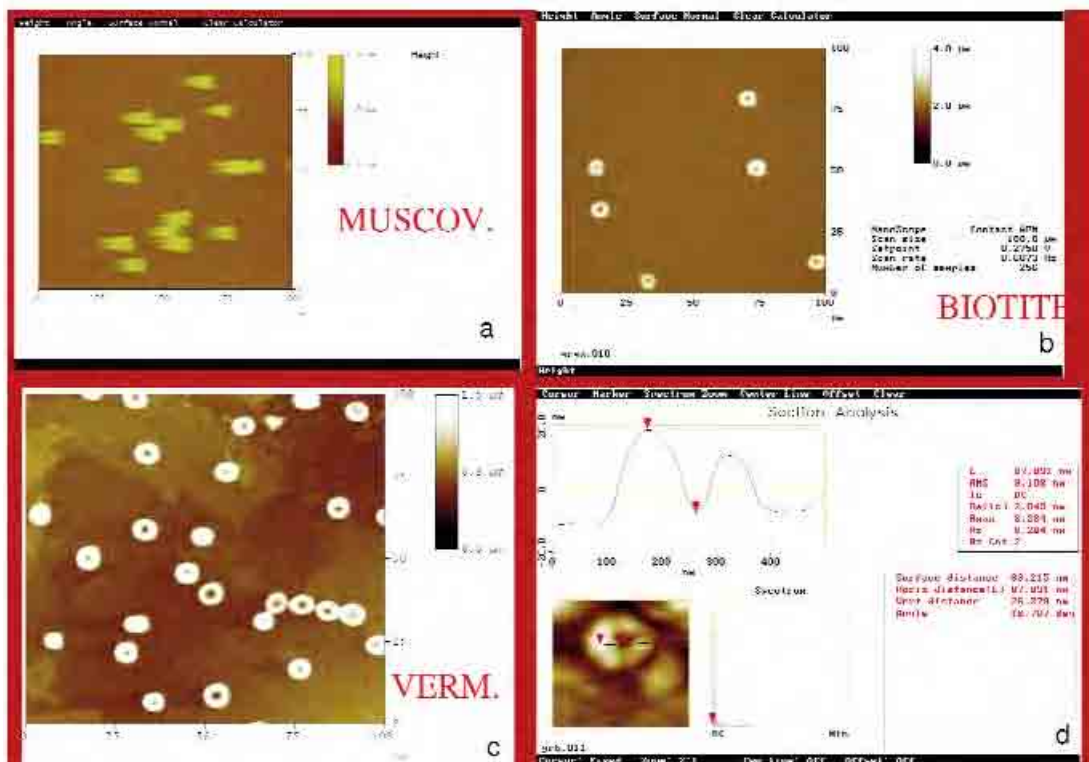


Figura 14. Immagini AFM dell'interazione di globuli rossi con alcune superfici fillosilatiche: (a) Muscovite; (b) Biotite; (c) Vermiculite; (d) Osservazione AFM e misura morfometrica del profilo di un canale molecolare di membrana di un globulo rosso depositato su Vermiculite.

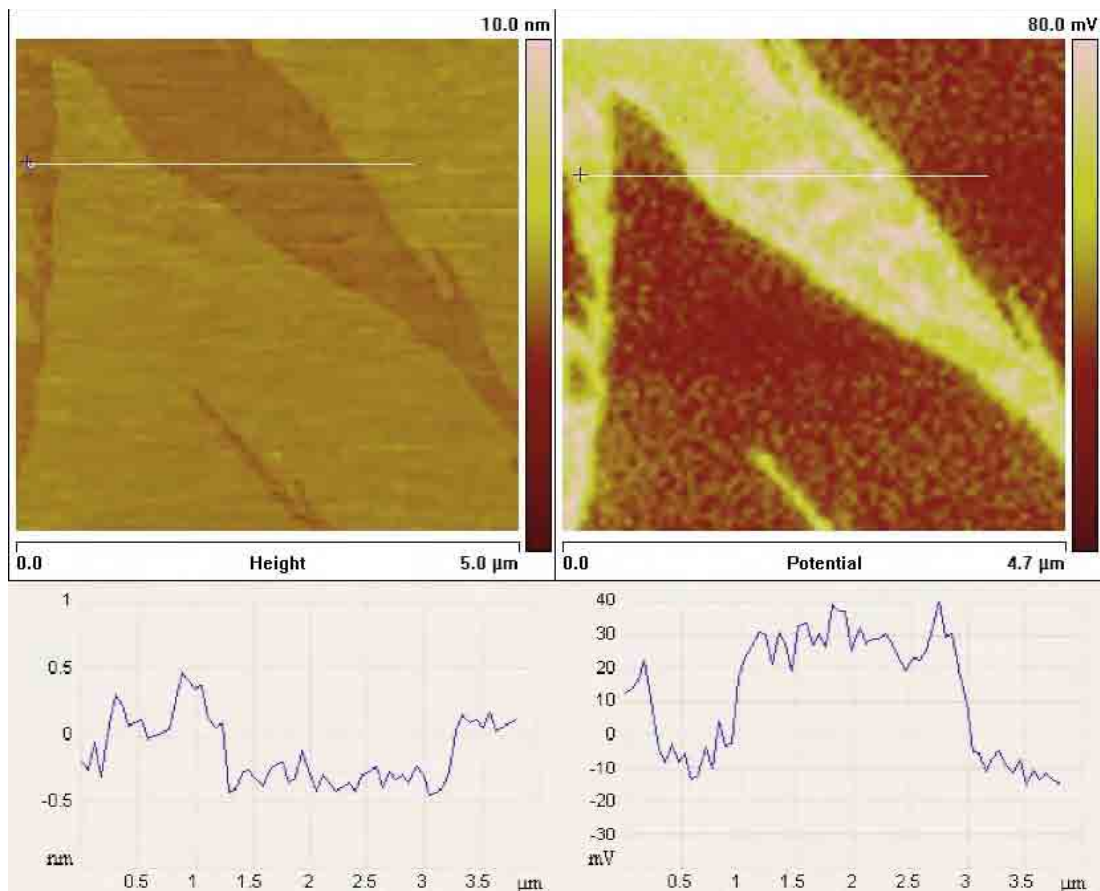


Figura 15. Osservazione sperimentale EFM di siti acidi di Brønsted in strati di dimensioni laterali variabili (dal nm al μm) presenti sulla superficie di clorite. Sinistra alto: Immagine AFM di una particolare clorite (ricca di Al in brucite) sfaldata. Sinistra basso: profilo dei gradini brucitici di 0.5 nm di spessore. Destra alto: Distribuzione del potenziale di superficie dell'immagine di sinistra. Destra basso: profilo del potenziale degli strati brucitici e silossanici; si nota che il potenziale in questa clorite è invertito: quello della brucite è negativo e quello del silossano positivo a causa dei siti acidi dovuti all'Al in brucite.

della parete del globulo. Queste superfici presentano quindi caratteristiche idonee per la morfometria globulare senza la necessità di dover ricorrere a particolari preparazioni, fissaggi o pretrattamenti che sono possibili cause di errori e artefatti.

La cristallochimica di queste fasi fillosilicatiche è complessa, ma è stato osservato di recente che numerose sostituzioni cationiche e anioniche sono presenti come difetti puntuali nella struttura cristallina (Valdrè, 2007a) e che alcune di queste possono agire come siti acidi e basici (Valdrè, 2007a; Valdrè, 2007c; Valdrè, 2007d). Viene riportata in figura 15 un'osservazione sperimentale EFM

di strati di dimensioni laterali variabili (dal nm al μm) di siti acidi di Brønsted presenti sulla superficie di particolari cloriti. Nel contempo, per sistemi modello semplici, è stato simulato teoricamente il ruolo dei siti catalizzatori di Lewis e Brønsted che in opportune condizioni possono ridurre l'energia di attivazione per processi di biopolimerizzazione (Rimola et al., 2005). Questa ultima caratteristica è fondamentale per studi in cui le superfici dei minerali svolgono ruolo di biocatalizzatori e per ricerche sull'origine della vita, e sarà argomento dei prossimi programmi di ricerca multidisciplinari (Valdrè, 2006d).

Conclusioni

Tramite microscopia a forza atomica ed elettrica (AFM, EFM) è stata studiata, a livello nanometrico, l'interazione tra il DNA, nucleotidi e cellule con la superficie della clorite e con quella di altri fillosilicati.

Una analisi dettagliata della clorite ha messo in evidenza variazioni di potenziale superficiale ΔV , tra 50 mV e 400 mV che sono stati correlati alla presenza di zone tipo brucite sopra zone TOT silossaniche. La variazione del potenziale dipende dalla chimica superficiale, dalla presenza di films d'acqua (water shielding) e dalle condizioni ambientali. E' possibile con la stessa metodologia AFM-EFM condurre operazioni di nanolitografia sulle superfici di clorite per creare zone bidimensionali controllate a gradiente di campo elettrico. La distribuzione dei potenziali di superfici di clorite può essere utilizzata in ricerche Nano-Bio-Tecnologiche (esempio DNA patterning, DNA-enzyme interactions). Altre possibili applicazioni dei fillosilicati possono riguardare i substrati per assays biochimici, superfici per AFM, elettronica a DNA, biochips e biosensori, polimerizzazione e catalisi di biomolecole. Anche le ricerche sugli aspetti ecologico-sanitari della salute dell'uomo, così come quelle sull'origine della vita, possono essere vantaggiosamente condotte con questi materiali e metodiche.

Referenze

Antognozzi, M., Wotherspoon, A., Hayes, J.M., Miles, M.J., Szczelkun, M., Valdrè, G., 2006. A chlorite mineral surface actively drives the deposition of DNA molecules in stretched conformations, *Nanotechnology*, 17, 3897 - 3902. Bruno, M., Prencipe, M., Valdrè, G., 2006. Ab initio quantum-mechanical modeling of pyrophyllite $[Al_2Si_4O_{10}(OH)_2]$ and talc $[Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2]$ surfaces, *Physics and Chemistry of Minerals*, 33, 63 - 71. Bustamante, C., Bryant, Z., Smith, S.B., 2003. Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics, *Nature*, 421, 423-427. Rimola, A., Tosoni, S., Sodupe, M., Ugliengo, P., 2005. Peptide bond formation activated by the interplay of Lewis and Brønsted ca-

talysts, *Chem. Physical Letters*, 408, 295-301. Valdrè, G., 2005. AFM observations of agglomerates, ordered structures and filaments after deposition of DNA nucleotides onto layer silicate mineral structures, *Scanning*, 27, pp. 101 - 102.

Valdrè, G., 2006a. Atomic and electric force microscopy of aligned nucleotides and DNA onto chlorite surfaces, *Scanning*, 28, 70 - 72.

Valdrè, G., 2006b. Electric force microscopy, *Imaging and Microscopy*, John Wiley, 8 (3), 44 - 46. Valdrè, G., 2006c. Experiments and simulations of electric force microscopy, *Imaging and Microscopy*, John Wiley, 8 (4), 40 - 43. Valdrè, G., 2006d. The contribution of mineralogy to the study of the origin of life, Published in: "Life in the Balance", Presented by Niles Eldredge, Introduction of Roland Robertson, Edited by "Pio Manzù" International Research Center - Organization enjoying United Nation General Consultive Status, volume 2, n.132/December 2006, 58-67, 81-83.

Valdrè, G., 2007a. Natural nanoscale surface potential of clinocllore and its ability to align nucleotides and drive DNA conformational change, *European Journal of Mineralogy*, 19(3), 309-319. Valdrè, G., 2007b. Controlled parallel DNA filament deposition in stretched conformations, *Scanning*, 29 (2) 54-56.

Valdrè, G., 2007c. Nanomorphology and surface potential of layer silicates by scanning probe microscopy, *Acta Crystallographica*, A63, 84. Valdrè, G., 2007d. Key-lecture: Surface potential and mineral nanolithography. In: "Nuovi percorsi per la mineralogia: superfici, nanominerali, biominerali", *Geoitalia 2007*, Rimini (Italy). Epitome, 2, 300.

Valdrè, G., Fabbrizioli, S., 2006. The role of layer silicate substrates on immobilization of red blood cells., *Scanning*, 28, pp. 72 - 73. Valdrè, G., Moro, D., 2006. Surface potential of clay particles by scanning probe microscopy: theoretical and experimental approaches. A cura di: Turkish National Committee of Clay Science and Middle east Technical University, Proceedings of the Fourth Mediterranean Clay Meeting, Ankara 2006. Fourth Mediterranean Clay Meeting. Ankara, Turkey. 5-

10 September 2006, (pp. 132 - 133). Valdrè, G., Moro D., 2007. Electrostatic force and resolution of EFM cantilevers modelled by Finite Element Analysis, *Scanning*, 29(2) 51-52. Valdrè, G., Antognozzi, M., Wotherspoon, A., Miles, M. J., 2004. Influence of properties of layered silicate minerals on adsorbed DNA surface affinity, self-assembly and nanopatterning. *Philosophical Magazine Letters*, 84, 539 - 545. Valdrè, G., Moro, D., Bacchin, P., 2006. Electric Force Microscopy of Cleaved Chlorite. A cura di: Ichinose H., Sasaki T., *Proceedings 16th International Microscopy Congress - Instrumentation. 16th International Microscopy Congress - Microscopy for the 21st Century. Sapporo, Japan. 3-8 September 2006, vol.2, pp. 766.*