

EFFETTI TOSSICOLOGICI DEL PARTICOLATO ULTRAFINE EMESSO DA IMPIANTI RESIDENZIALI A BIOMASSA: NOTE SUL PROGETTO TOBICUP

Senem Ozgen^{1*}, Donatella Caruso², Emanuela Corsini³, Paola Fermo⁴, Giovanni Lonati¹, Laura Marabini³, Roberta Vecchi⁵, Marina Marinovich²

¹Politecnico di Milano, Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Milano.

²Università degli Studi di Milano, Dipartimento di scienze farmacologiche e biomolecolari, Milano.

³Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze e Politiche Ambientali, Milano.

⁴Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Chimica, Milano.

⁵Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Fisica, Milano.

Sommario – In questo lavoro si riassumono i principali risultati ottenuti dal progetto TOBICUP (TOxicity of Biomass Combustion generated Ultrafine Particles) che ha investigato le caratteristiche chimico fisiche e gli effetti tossicologici del particolato ultrafine associato alle emissioni di impianti domestici di riscaldamento alimentati con biomassa legnosa. Le indagini sperimentali hanno riguardato tanto campioni di particolato raccolti all'emissione di stufe alimentate con legna in ciocchi e con pellet di diverse caratteristiche, quanto campioni ambientali raccolti durante campagne estive ed invernali effettuate in una località in cui l'utilizzo di biomassa per riscaldamento domestico è molto diffuso. I risultati ottenuti per i campioni all'emissione indicano una migliore combustione nelle stufe a pellet che si traduce, a parità di input energetico, in una minore reattività biologica (stress ossidativo, infiammazione, genotossicità) rispetto a quanto osservato per i campioni generati da stufe a legna. Per i campioni ambientali si riscontra un maggior contributo della combustione domestica nel periodo invernale, tracciato dai più alti livelli di levoglucosano e potassio nel particolato ultrafine rispetto all'estate. Le risposte tossicologiche, tuttavia, risultano influenzate dalle condizioni di reattività dell'atmosfera: infatti, se gli effetti genotossici prevalgono nella stagione invernale per i più alti livelli di IPA e levoglucosano, quelli pro-infiammatori sono più rilevanti nella stagione estiva a causa della maggiore ossidazione del particolato determinata dai più intensi processi fotochimici rispetto all'inverno.

Parole chiave: biomassa, tossicità, particolato ultrafine, combustione domestica.

TOXICITY OF BIOMASS COMBUSTION GENERATED ULTRAFINE PARTICLES: NOTES ON THE TOBICUP PROJECT

Abstract – This work summarises the main findings of the TOBICUP (Toxicity of Biomass Combustion generated Ultrafine Particles) project. The project has investigated the physio-chemical features and toxicological response of ultrafine particles (UFPs) from biomass-fuelled domestic stoves. Experimental deter-

minations consider both UFP samples collected at the stack of wood log and pellet stoves and environmental samples collected at a site where biomass burning for domestic heating is the main source of airborne UFPs. Results for the stack samples show that combustion in pellet stoves is more complete, producing UFPs that determine toxicological responses per unit input energy less relevant compared with wood log stoves. Results for the environmental samples show a larger contribution from domestic heating to airborne UFPs in wintertime, traced by the higher content of levoglucosan and potassium than in summertime. However, toxicological response are influenced by the different reactivity of the atmosphere at seasonal level: in wintertime, genotoxic effects prevail due to the larger concentration of PAH and levoglucosan; in summertime, pro-inflammatory effects are more relevant due to the higher degree of oxidation of UFPs, favoured by the stronger photochemical processes occurring in the warm season.

Keywords: biomass, toxicity, ultrafine particles, domestic combustion.

Ricevuto il 2-4-2018; Correzioni richieste il 18-4-2018; Accettazione finale il 22-5-2018.

1. INTRODUZIONE

Il particolato ultrafine (PU) per convenzione viene definito come “agglomerati solidi o liquidi” di dimensione inferiore a 0.1 μm ($1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{m}$). Esso può avere origine naturale (per es., dall'eruzione dei vulcani, da processi biologici) oppure antropogenica (per es., processi di combustione mobili o fissi, emissioni industriali, nanomateriali ingegnerizzati) (Farré et al., 2011). A quest'ultima categoria appartiene il PU da fonti di combustione domestica di biomasse.

L'interesse per le frazioni ultrafini nasce dal fatto che quest'ultime, per le loro ridottissime dimensioni, manifestano proprietà molto differenti da quelle della massa totale (costituita pressoché unicamente dalle granulometrie maggiori), soprattutto per il numero e la superficie specifi-

* Per contatti: Piazza Leonardo da Vinci 32, 20133 Milano. Tel. 02.123456789; fax 02.987654321. E-mail: senem.ozgen@polimi.it.

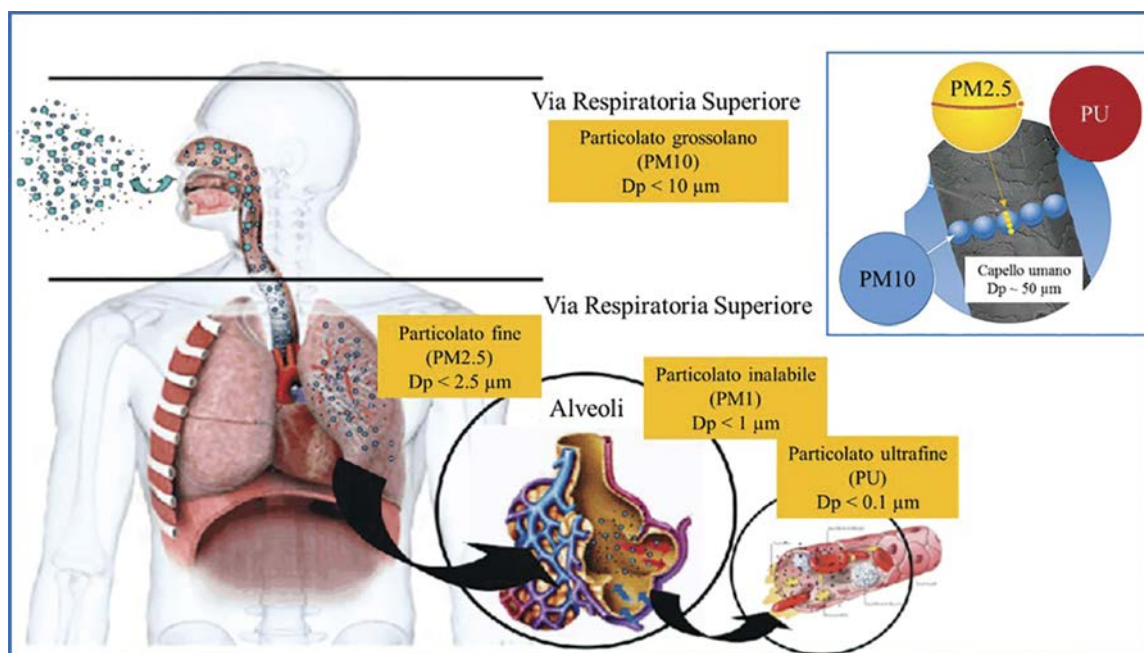


Figura 1 – Siti di deposizione per particolato atmosferico all'interno dell'apparato respiratorio. (Adattato da Guarieiro e Guarieiro, 2013)

ca molto più elevati. Tali proprietà comportano una maggiore reattività chimica, più resistenza o una più efficiente conducibilità elettrica e potenzialmente anche una più accentuata attività biologica (Marconi et al., 2006). Oltre a queste proprietà specifiche, ci sono differenze significative tra il PU e le particelle più grandi anche riguardo il loro sito di deposizione e la loro eliminazione dal tratto respiratorio; il PU si diffonde facilmente nelle vie aeree poiché segue il flusso d'aria mediante la diffusione browniana, mentre particelle più grandi si depositano in breve tempo per impatto inerziale e/o sedimentazione gravitazionale (Oberdörster et al. 2005). Quindi più il diametro delle particelle è piccolo, più esse potranno arrivare in profondità nell'apparato respiratorio fino al livello polmonare. Particelle che presentano un diametro più piccolo di $1 \mu\text{m}$ (PM1) possono depositarsi nelle regioni bronchiali e alveolari, mentre particelle più grandi (PM10, PM2.5) vanno a depositarsi nella regione nasofaringea (Figura 1). Queste differenze hanno delle conseguenze sui potenziali effetti delle particelle inalate. Infatti alcuni studi ritengono che il PU, una volta penetrato nell'organismo per via inalatoria, possa sfruttare la circolazione sanguigna per raggiungere e potenzialmente esercitare un'azione tossica sugli organi al di fuori dell'apparato respiratorio (Miller et al., 2017; L'Azou et al., 2008; Peters et al., 2006; Nemmar et al., 2002).

Il progetto TOBICUP si è collocato in questo ambito e copre alcune problematiche delle emissioni di polveri ultrafini generate dalla combustione domestica di biomasse, con un'indagine che ha compreso la valutazione e la caratterizzazione delle emissioni alla sorgente e l'indagine della presenza del PU nell'atmosfera di un'area di monitoraggio interessata dalle emissioni di questa fonte.

Il progetto ha visto la partecipazione del Politecnico di Milano (Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale) e dei diversi gruppi di ricerca afferenti all'Università degli Studi di Milano (Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Dipartimento di Fisica, Dipartimento di Chimica).

Il progetto si è sviluppato raccogliendo e caratterizzando da un punto di vista chimico (osservando la presenza di particolari sostanze come idrocarburi policiclici aromatici, metalli, ecc.) e fisico (studiando la grandezza delle particelle) il particolato ultrafine emesso da impianti di riscaldamento residenziale alimentati a biomasse e studiando la tossicità di tale particolato su linee cellulari in vitro. In particolare, lo studio ha riguardato i tre seguenti aspetti tossicologici:

- genotossicità (predittiva di situazioni che possono potenzialmente evolvere in senso cancerogenico);
- stress ossidativo (una delle cause del danno al DNA);

- infiammazione (processo che dà inizio a diverse manifestazioni tossiche).

Parallelamente a questa prima linea di ricerca è stata sviluppata una seconda linea dedicata alla valutazione delle caratteristiche chimico-fisiche e tossicologiche del PU atmosferico raccolto in un sito interessato dalle emissioni di combustione della legna. Questo perché dopo il rilascio dalla fonte emissiva, il PU nel suo percorso in atmosfera subisce trasformazioni di varia natura (dimensionale, di composizione, del livello di ossidazione, ecc.), che possono comportare conseguenze tossicologiche diverse da quelle indotte dal particolato emesso direttamente dalla fonte.

2. ATTIVITÀ SPERIMENTALE

2.1. Prove in laboratorio

Le prove sono state condotte nei laboratori del LEAP, Laboratorio Energie & Ambiente Piacenza, (www.leap.polimi.it) utilizzando l'assetto sperimentale indicato nella Figura 2. Le attività hanno riguardato la combustione di biomassa legnosa in impianti di piccola taglia (Figura 3) per la produzione di energia termica ad uso domestico, considerando sia impianti ad alimentazione manuale che impianti ad alimentazione automatica. Le misure

sono state eseguite con due distinte tipologie di combustibile: pellet di abete certificato come classe A1 secondo la norma UNI EN ISO 17225-2 e pellet non certificato (faggio) di consumo diffuso da un lato e legna in ciocchi di diverse essenze di comune utilizzo in Lombardia (abete e faggio) dall'altro. La legna è stata alimentata così come fornita dal rivenditore, senza alcuna modifica come ad esempio scortecciamento o selezione dei ciocchi. I cicli di combustione hanno simulato l'utilizzo reale dell'apparecchio seguendo per la stufa a pellet un ciclo di esercizio con potenza modulata e per la stufa a legna includendo anche transitori di accensione e spegnimento. I dettagli dei cicli di combustione applicati e dell'assetto di campionamento si trovano in Ozgen et al. (2017).

2.2. Prove in aria ambiente

Il PU atmosferico è stato campionato in un sito nel comune di Morbegno (SO) dove l'utilizzo delle biomasse per il riscaldamento domestico è molto diffuso. Le campagne di misura sono state effettuate sia nei mesi invernali sia nei mesi estivi in modo da stabilire il ruolo delle sorgenti attive nell'area. La fonte di emissione per il riscaldamento domestico è attiva solo in inverno e le altre sorgenti emissive (come il traffico) non presentano differenze stagio-

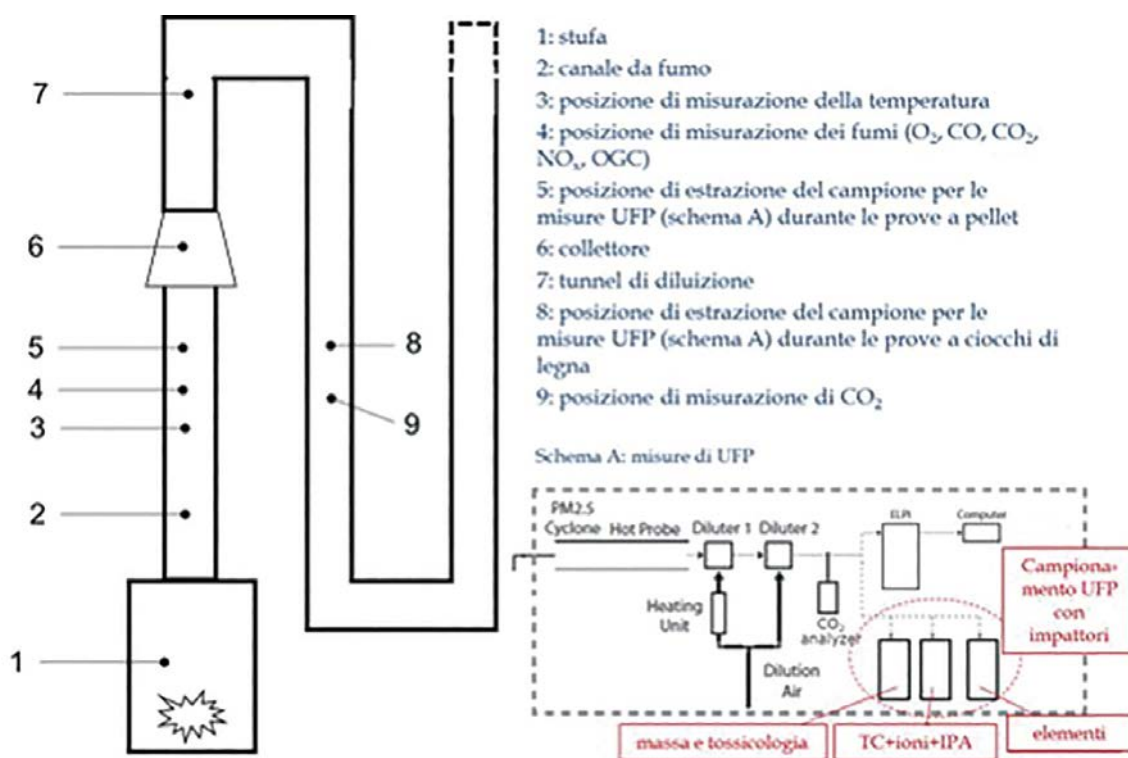


Figura 2 – Assetto sperimentale (Laboratori LEAP, www.leap.polimi.it) (Ozgen et al., 2017)



Figura 3 – Caratteristiche degli apparecchi investigati

nali significative. Le modalità di esecuzione delle campagne sono descritte in Corsini et al. (2017b).

2.3. Caratterizzazione chimico-fisica

Sia per le prove in laboratorio sia per quelle in aria ambiente i campioni di PU sono stati raccolti tramite impattori a cascata (Figura 4). Sono stati misurati il contenuto dei principali anioni e cationi, il carbonio elementare, gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), levoglucosano e i suoi isomeri, e numerosi metalli (Al, As, Ba, Cd, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, Ti, U, Zn).

2.4. Determinazione della tossicità

Le prove tossicologiche sono state effettuate in vitro utilizzando linee cellulari dei polmoni e del sangue, e considerando un intervallo di concentrazioni di materiale particolato. Lo studio, descritto in dettaglio da Corsini et al. (2017a e 2017b) e da Marabini et al. (2017), si focalizza su questi tipi cellulari, in quanto, come già detto in precedenza, a causa della ridotta dimensione, il particolato ultrafine può raggiungere in profondità nel tratto respiratorio e traslocare a organi extra-polmonari.

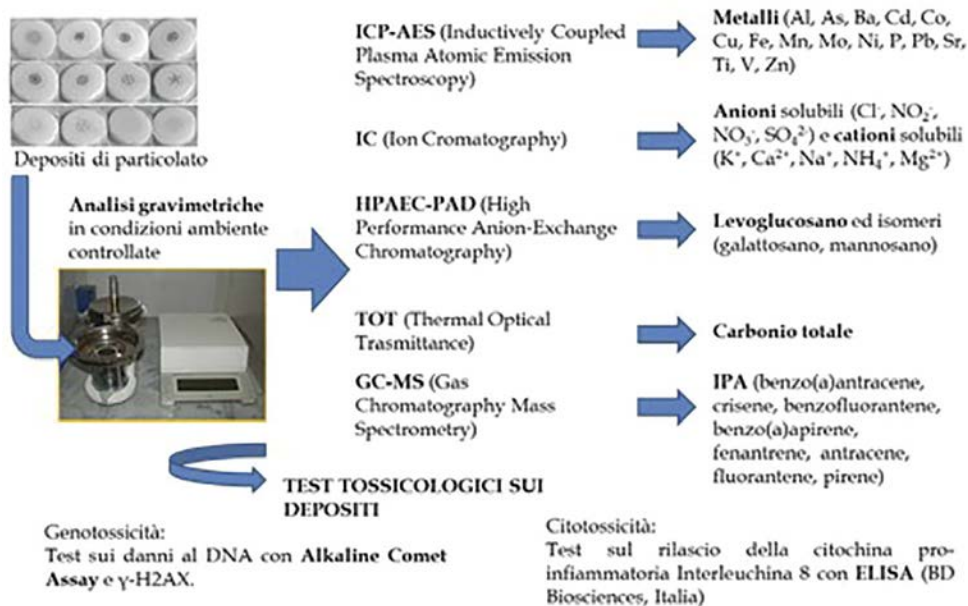


Figura 4 – Metodi analitici e test tossicologici

3. RISULTATI

Una prima osservazione del presente studio riguarda il PU emesso dalle stufe nei casi indagati e in particolare la verifica di un'interdipendenza tra la composizione chimica del particolato, le condizioni di combustione ed alcuni costituenti del combustibile (contenuto di ceneri soprattutto).

I campioni di PU emesso dalla stufa a pellet presentano le prove di una combustione quasi completa: una grande quantità di ioni solubili tra cui potassio e solfato ed un'esigua quota di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e di levoglucosano (Ozgen et al., 2017). Ciò dipende principalmente da una migliore miscelazione di aria comburente e combustibile, da un dosaggio accurato e le temperature di combustione più stabili grazie all'alimentazione automatica, unita alle caratteristiche distintive del pellet – bassa umidità e dimensioni più piccole rispetto ai ciocchi.

Al contrario, nel caso del PU emesso dalla stufa a legna è stata riscontrata una maggiore percentuale in massa sia di IPA, dovuta ad una combustione intensa con alte temperature e carenza di ossigeno, che di levoglucosano, dipendente da una combustione relativamente fredda nella fase di accensione.

Le analisi per la determinazione degli elementi nel PU rilevano, sia nelle emissioni della stufa a pellet che in quelle della stufa a legna, i metalli come lo Zn, Al, e Fe. Questi metalli provenienti dai costituenti della legna vaporizzano nella zona della fiamma e successivamente si aggregano per formare piccoli nuclei di particelle metalliche o condensano sulle superfici di altre particelle che si trovano nella zona a valle del focolare. Questi metalli hanno la capacità di indurre la produzione di radicali liberi nel tratto respiratorio, causando stress ossidativo.

Le risposte tossicologiche ottenute somministrando la stessa quantità di PU alle cellule (cioè il rilascio di biomarcatori per unità di massa del PU) sono state rapportate all'energia entrante al sistema con il combustibile tramite l'uso dei fattori di emissione (massa PU/GJ) delle particelle ultrafini. Si riporta in Tabella 1 il valore relativo di risposte per tutti i parametri tossicologici considerati (genotossicità, stress ossidativo ed infiammazione) rispetto al caso che manifesta minore attività biologica ovvero la stufa alimentata a pellet di faggio (non certificato). Essa funge dunque da parametro base per riportare in termini relativi la tossicità degli altri casi osservati.

Tabella 1 – Risposte tossicologiche relative rapportate all'energia entrante al sistema*

Caso indagato	Infiammazione	Genotossicità	Stress ossidativo
Stufa a pellets (abete)	1,4	1,3	1,3
Stufa a pellets (faggio)	1,0	1,0	1,0
Stufa a legna (abete)	1,4	2,5	1,3
Stufa a legna (faggio)	2,3	2,8	2,9

** Il valore 1 è assegnato alla risposta minore osservata per ciascun parametro (a parità di energia in ingresso con il combustibile).*

Il caso più critico che si osserva in Tabella 1 è quello della combustione di ciocchi di faggio nella stufa a legna: tale caso presenta valori di tossicità doppi rispetto al caso di riferimento. La stessa stufa alimentata con ciocchi di abete presenta invece risposte tossicologiche in termini di infiammazione e stress ossidativo simili a quelle delle stufe a pellet (sia faggio che abete), ma una differenza significativa sul fronte della genotossicità. I risultati discussi in dettaglio da Marabini et al. (2017) suggeriscono quindi che la composizione del PU influenza le risposte tossicologiche, indicando in particolare un nesso tra gli IPA e gli effetti genotossici. Viene invece specificata in Corsini et al. (2017a) che il levoglucosano e suoi isomeri sono in grado di produrre biomarcatori che segnalano effetti infiammatori lo stress ossidativo.

Nell'ambito delle misure ambientali (dettagli in Corsini et al, 2017b), le emissioni degli impianti di riscaldamento residenziali a biomassa risultano tra i fattori che più incidono sulla qualità dell'aria del sito di monitoraggio durante i mesi invernali. I campioni di PU invernali sono caratterizzati da un maggior contributo in massa di levoglucosano rispetto a quelli estivi. Questo composto organico che si forma dalla pirolisi della cellulosa, è considerato un tracciante specifico legato alle emissioni derivanti dalla combustione delle biomasse legnose. Un altro composto associato a questa fonte emissiva è il potassio, che in modo analogo al levoglucosano mostra un maggior contributo alla massa totale di PU in inverno, confermando il ruolo della combustione della legna come una sorgente emissiva significativa in grado di avere effetti, a livello locale, sullo stato della qualità dell'aria.

I dati relativi alla tossicità dei campioni ambientali, evidenziano che il PU è tossico per le cellule degli alveoli polmonari. Si nota una maggiore geno-

tossicità per i campioni invernali giustificata dall'elevata quantità di IPA e di levoglucosano. Gli idrocarburi policiclici aromatici sono ritenuti i componenti più genotossici, nonché i maggiori responsabili dei danni tossici al DNA. A ciò vanno aggiunti i danni ossidativi legati alla presenza di alcuni metalli (es. Zn, Al, Fe). L'opposto si osserva per gli effetti pro-infiammatori che sono più rilevanti d'estate, fenomeno ricollegabile ad una maggiore ossidazione del particolato atmosferico per mano dei processi fotochimici attivi nei mesi estivi.

4. CONCLUSIONI

I risultati del progetto TOBICUP, ottenuti utilizzando un modello in vitro basato su linee cellulari dei polmoni e del sangue, dimostrano che il particolato ultrafine emesso dalla combustione delle biomasse in apparecchi automatici a pellets è biologicamente meno reattivo rispetto alla combustione della legna in apparecchi ad alimentazione manuale. Non si osserva una differenza significativa tra le due qualità di pellet adoperate (certificato A1 e non certificato). In merito alla composizione chimica del PU, l'effetto tossicologico è dovuto non solo alla presenza nel PU dei componenti carboniosi come il levoglucosano e gli idrocarburi policiclici aromatici legati a una combustione incompleta ma anche alla presenza di alcuni metalli costituenti della legna. Le indagini svolte hanno evidenziato chiaramente come le condizioni di combustione, la composizione chimica e gli effetti tossicologici sono interrelati e che l'uso dei generatori di calore con regolazione automatica possa portare a un'efficace riduzione del potenziale tossicologico delle emissioni.

Lo studio fornisce inoltre indicazioni sulla tossicità del particolato ultrafine atmosferico e individua un'analogia tra la composizione del PU invernale e quello campionato direttamente dal flusso emissivo della stufa a legna, a conferma del ruolo del riscaldamento domestico a legna tramite le sostanze traccianti tra cui il levoglucosano. La ricerca sottolinea anche che le trasformazioni subite dal PU durante la sua permanenza in atmosfera possono potenziare il suo effetto tossicologico.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Corsini E., Ozgen S., Papale A. et al. (2017a) Insights on wood combustion generated proinflammatory ultrafine

particles (UFP). *Toxicology Letters*, 266, 74-84. doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.12.005.

Corsini E., Vecchi R., Marabini L. et al. (2017b) The chemical composition of ultrafine particles and associated biological effects at an alpine town impacted by wood burning. *Science of The Total Environment*, 587, 223-231. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.125

Guariero L.L.N. e Guariero A.L.N. (2013) Vehicle Emissions: What will change with use of biofuel? In: *Biofuels – Economy, Environment and Sustainability*. Z. Fang. Intech open. doi.org/10.5772/52513

L'azou B., Jorly J., On D. et al. (2008) In vitro effects of nanoparticles on renal cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 5(22). [doi: 10.1186/1743-8977-5-22](https://doi.org/10.1186/1743-8977-5-22)

Marabini L., Ozgen S., Turacchi S. et al. (2017) Ultrafine particles (UFPs) from domestic wood stoves: genotoxicity in human lung carcinoma A549 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 820, 39-46. doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.06.001.

Marconi A., (2006) Particelle fini, ultrafini e nanoparticelle in ambiente di vita e di lavoro: possibili effetti sanitari e misura dell'esposizione inalatoria. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia* 28(3), 258-265.

Miller M.R., Raftis J.B., Langrish J.P. et al. (2017) Inhaled Nanoparticles Accumulate at Sites of Vascular Disease. *ACS Nano*, 11(5), 4542-4552. [doi: 10.1021/acsnano.6b08551](https://doi.org/10.1021/acsnano.6b08551)

Nemmar A., Hoet P.H.M., Vanquickenborne B. et al. (2002) Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*, 105, 411-414. doi.org/10.1161/hc0402.104118

Oberdörster G., Oberdörster E. e Oberdörster J. (2005) Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113 (7), 823-839.

Ozgen S., Becagli S., Bernardoni V. et al. (2017) Analysis of the chemical composition of ultrafine particles from two domestic solid biomass fired room heaters under simulated real-world use. *Atmospheric Environment*, 150, 87-97. doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.11.048.

Peters A., Veronesi B., Calderón-Garcidueñas L., et al. (2006) Review: Translocation and potential neurological effects of fine and ultrafine particles a critical update. *Particle and Fibre Toxicology*, 3(13). [doi:10.1186/1743-8977-3-13](https://doi.org/10.1186/1743-8977-3-13).

RINGRAZIAMENTI

Il progetto TOBICUP (TOXicity of BIomass Combustion generated Ultrafine Particles) è stato finanziato dalla Fondazione Cariplo nel 2013 all'interno del Bando "Ricerca finalizzata allo studio dell'impatto del particolato ultrafine e delle nanoparticelle ingegnerizzate sulla salute dell'uomo". (Grant 2013-1040)



INGEGNERIA DELL'AMBIENTE

per il 2018 è sostenuta da:



Veolia Water Technologies Italia S.p.A.



INGEGNERIA
DELL'AMBIENTE



N. 1/2018

COLORSHADE



UNICALCE

Innoviamo la tradizione



RICREA

CONSORZIO NAZIONALE RICICLO
E RECUPERO IMBALLAGGI ACCIAIO



ecopneus

il futuro dei pneumatici fuori uso, oggi



EchOsid

Ingegneria e Impianti srl

STADLER®
STADLER ITALIA S.r.l.



ALLEGRI
ecologia
trattamento acque



comieco

Consorzio Nazionale Recupero e Riciclo
degli Imballaggi a base Cellulosica



PASSAVANT
IMPIANTI_{s.p.a.}

progettazione e costruzione impianti trattamento acque, fanghi e rifiuti



SEAM
engineering

l'acqua e l'ambiente

[www.ingegneria
dellambiente.net](http://www.ingegneria
dellambiente.net)

