

ARPA
Agenzia Regionale per la Prevenzione e l'Ambiente
dell'Emilia - Romagna

* * *

Atti amministrativi

Deliberazione del Direttore Generale	n. DEL-2013-100 del 20/12/2013
Oggetto	Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione. Presa d'atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con D.G.R. n. 1971 del 16/12/2013 in merito alla realizzazione del Progetto Supersito.
Proposta	n. PDEL-2013-105 del 17/12/2013
Struttura proponente	Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione
Dirigente proponente	Tibaldi Stefano
Responsabile del procedimento	Poluzzi Vanes

Questo giorno 20 (venti) dicembre 2013 (duemilatredici), presso la sede di Via Po n. 5, in Bologna, il Direttore Generale, Prof. Stefano Tibaldi, delibera quanto segue.

Oggetto: Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione. Presa d'atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con D.G.R. n. 1971 del 16/12/2013 in merito alla realizzazione del Progetto Supersito.

RICHIAMATA:

- la L.R. 19 aprile 1995, n. 44 e successive modifiche e integrazioni, istitutiva di Arpa, ed in particolare le seguenti disposizioni:
 - l'articolo 5, comma 1, lett. a) il quale prevede tra le funzioni, attività e compiti dell'Agenzia, la realizzazione, anche in collaborazione con altri organismi ed istituti operanti nel settore, di iniziative di ricerca applicata sui fenomeni dell'inquinamento e della meteorologia, sulle condizioni generali dell'ambiente e per i cittadini, sulle forme di tutela degli ecosistemi;
 - l'articolo 5, comma 1, lett. n) il quale prevede altresì, tra le funzioni, attività e compiti dell'Agenzia, il supporto alla Regione e agli Enti locali ai fini dell'elaborazione di piani e progetti ambientali;

PREMESSO:

- che Arpa Emilia-Romagna, in esecuzione della D.G.R. n. 1865 del 23 novembre 2009, ha provveduto ad elaborare il progetto di fattibilità relativo alla realizzazione di un sistema di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico e dei relativi effetti sulla salute della popolazione emiliano-romagnola, denominato "Progetto Supersito: realizzazione di uno studio integrato dell'inquinamento dell'atmosfera nella regione Emilia-Romagna attraverso misure di parametri chimici, fisici, tossicologici e valutazioni sanitarie, epidemiologiche e ambientali mediante modelli interpretativi";
- che con Deliberazione di Giunta n. 428 dell'8/2/2010 la Regione Emilia-Romagna ha approvato il progetto denominato "Supersito", impegnando la Direzione Generale Sanità e Politiche sociali, la Direzione Generale Ambiente e Difesa del Suolo e della Costa e Arpa Emilia-Romagna per la realizzazione delle attività in esso descritte ed affidando all'Agenzia la gestione operativa e finanziaria del progetto;
- che i principali obiettivi che il progetto intende raggiungere sono i seguenti:
 1. aumentare le conoscenze sui processi di formazione e sulla composizione degli inquinanti secondari in atmosfera (particolato fine e ultrafine);
 2. identificare i possibili legami tra la composizione del particolato presente in aria e le fonti di emissione;
 3. migliorare l'attuale capacità dei modelli matematici di elaborare scenari futuri di qualità dell'aria;

4. rispondere alle eventuali richieste derivanti dal recepimento della Direttiva 50/2008/CE, in materia di qualità dell'aria;
5. valutare gli effetti tossicologici dei campioni di particolato raccolto al fine di una maggiore comprensione degli aspetti infiammatori e di un complessivo risk assessment;
6. valutare con studi epidemiologici gli effetti a breve e lungo termine dell'esposizione a inquinamento atmosferico della popolazione;

PREMESSO INOLTRE:

- che la citata D.G.R. n. 428/2010 disponeva una durata complessiva quinquennale delle attività progettuali (a decorrere dal 2010 e fino al 2014) ed un costo complessivo pari ad Euro 7.256.305,00 (ad esclusione del costo del personale della Regione Emilia-Romagna impegnato nel progetto), di cui Euro 1.581.000,00 per costi di investimento ed Euro 5.675.305,00 per costi di funzionamento (di cui Euro 3.645.350,00 quali costi di funzionamento a carico della Regione stessa);
- che con la medesima D.G.R. veniva assegnato ad Arpa Emilia-Romagna un finanziamento complessivo di Euro 1.985.050,00, di cui Euro 1.581.000,00 per costi di investimento ed Euro 404.050,00 per costi di funzionamento per l'annualità 2010;
- che all'impegno di spesa e alla liquidazione dei finanziamenti relativi alle spese di funzionamento per le ulteriori annualità del progetto (2011-2014) si disponeva l'adozione di successivi atti da parte del Dirigente competente per materia della Direzione Generale Sanità e Politiche sociali della Regione, sulla base delle disponibilità finanziarie da autorizzarsi con le Leggi di bilancio e finanziarie regionali;
- che le attività oggetto del Progetto Supersito sono riconducibili ad attività istituzionali di Arpa e, pertanto, sono fuori dal campo di applicazione dell'IVA per carenza dei presupposti di imponibilità ai sensi degli articoli 3 e 4 del D.P.R. n. 633/1972;
- che le attività previste nel Progetto Supersito si articolano su sette linee progettuali, come di seguito specificato:
 1. Linea progettuale 1 - Campionamento, analisi chimica e distribuzione dimensionale del particolato;
 2. Linea progettuale 2 - Misure fisiche e modelli di qualità dell'aria;
 3. Linea progettuale 3 - Campagne di misure intensive in atmosfera;
 4. Linea progettuale 4 - Tossicologia predittiva;
 5. Linea progettuale 5 - Campagne di misure intensive in ambienti indoor;
 6. Linea progettuale 6 - Analisi epidemiologiche sugli effetti a breve e a lungo termine;

7. Linea progettuale 7 - Analisi dati ambientali;

PREMESSO INFINE:

- che con D.D.G. n. 29 del 15/03/2010 questa Direzione Generale ha preso atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con la citata Deliberazione di Giunta n. 428/2010 avente ad oggetto l'approvazione del progetto elaborato da Arpa Emilia-Romagna denominato "Progetto Supersito: realizzazione di uno studio integrato dell'inquinamento dell'atmosfera nella regione Emilia-Romagna attraverso misure di parametri chimici, fisici, tossicologici e di valutazioni sanitarie, epidemiologiche e ambientali mediante modelli interpretativi";
- che con la medesima D.D.G. n. 29/2010 si è inoltre provveduto ad individuare il Direttore Generale e il Direttore Tecnico di Arpa quali rappresentanti dell'Agenzia nel Comitato Guida, e a nominare il Dott. Vanes Poluzzi, Responsabile del Centro Tematico Regionale Aree Urbane, quale Project Manager per la componente ambientale del Comitato Guida e del Comitato di Progetto, nonché i responsabili delle 7 Linee progettuali in cui è articolato il Progetto;
- che con la medesima D.D.G. n. 29/2010 si è inoltre provveduto ad assegnare ai centri di costo di Arpa coinvolti nel Progetto Supersito il budget a copertura dei costi operativi riferiti alle diverse Linee progettuali;

RILEVATO:

- che il progetto ha avuto effettivo inizio in data 9 luglio 2010, come da dichiarazione di Arpa prot. n. PGDG/2010/3697 del 9 luglio 2010;
- che le attività relative alla prima e seconda annualità sono già state completate e rendicontate alla Regione mentre per quanto riguarda la terza annualità del progetto Arpa ha provveduto alla trasmissione della relazione tecnica finale;
- che Arpa ha richiesto alla Regione Emilia-Romagna la proroga della durata del progetto fino al 31 dicembre 2016 e, conseguentemente, la rimodulazione del piano finanziario a partire dall'annualità 2013 per quanto concerne le spese di funzionamento, fermo restando il valore complessivo del progetto nell'importo previsto nella citata D.G.R. n. 428/2010;

RILEVATO INOLTRE:

- che le motivazioni addotte da Arpa per la richiesta di proroga e rimodulazione del progetto sono state ritenute pertinenti e tali da mantenere le finalità ed i risultati attesi del progetto;
- che con Delibera di Giunta n. 1971 del 16/12/2013 la Regione Emilia-Romagna ha disposto la proroga del termine di scadenza del Progetto fino al 31 dicembre 2016 con

conseguente modifica, a decorrere dall'annualità 2013, degli importi del finanziamento regionale annuale previsto dalla citata D.G.R. n. 428/2010, fermo restando il valore complessivo del progetto;

- che con la medesima Delibera di Giunta n. 1971 del 16/12/2013 la Regione Emilia-Romagna ha ritenuto necessario apportare alcune variazioni alle attività previste dalle singole linee progettuali, procedendo, pertanto, ad una ridefinizione del Progetto Supersito;
- che il Progetto Supersito, così come aggiornato con la suddetta D.G.R. n. 1971/2013, è allegato sub A) al presente atto quale parte integrante e sostanziale ed è comprensivo della riformulazione delle attività inizialmente previste, delle tempistiche relative alle varie linee di lavoro nonché dei costi progettuali, così come dettagliatamente specificati nella tabella 1 "Costi per il funzionamento suddivisi per anno";

RITENUTO:

- di prendere atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con D.G.R. n. 1971 del 16/12/2013 in merito alla proroga al 31 dicembre 2016 del termine di scadenza del Progetto Supersito per la realizzazione di un sistema di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico e dei relativi effetti sulla salute della popolazione, approvato con D.G.R. n. 428/2010;
- di prendere atto della ridefinizione del Progetto Supersito approvata dalla Regione Emilia-Romagna con la medesima D.G.R. n. 1971/2013;
- di approvare il Progetto Supersito, allegato sub A) al presente atto quale parte integrante e sostanziale, comprensivo della riformulazione delle attività inizialmente previste, delle tempistiche relative alle varie linee di lavoro nonché dei costi progettuali, così come dettagliatamente specificati nella tabella 1 "Costi per il funzionamento suddivisi per anno";

DATO ATTO:

- che per quanto non espressamente previsto dal presente provvedimento si rinvia a quanto disposto dalla D.D.G. n. 29 del 15/03/2010 e successive modifiche;

SU PROPOSTA:

- del Direttore ad interim del Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione, Prof. Stefano Tibaldi, il quale ha espresso il proprio parere favorevole in merito alla regolarità amministrativa del presente atto;

DATO ATTO:

- del parere di regolarità contabile espresso dal Responsabile dell'Area Bilancio e Controllo

Economico, Dott. Giuseppe Bacchi Reggiani, ai sensi del Regolamento Arpa per il Decentramento amministrativo;

- del parere favorevole espresso dal Direttore Amministrativo Dott.ssa Massimiliana Razzaboni e dal Direttore Tecnico Dott. Franco Zinoni, reso ai sensi dell'art. 9, comma 5, della L.R. n. 44/95;
- che il responsabile del procedimento, ai sensi della L. 241/90 e della L.R. 32/93, è il Dott. Vanes Poluzzi, Responsabile del CTR Aree Urbane;

DELIBERA

1. di prendere atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con D.G.R. n. 1971 del 16/12/2013 in merito alla proroga al 31 dicembre 2016 del termine di scadenza del Progetto Supersito per la realizzazione di un sistema di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico e dei relativi effetti sulla salute della popolazione, approvato con D.G.R. n. 428/2010;
2. di prendere atto della ridefinizione del Progetto Supersito approvata dalla Regione Emilia-Romagna con la medesima D.G.R. n. 1971/2013;
3. di approvare il Progetto Supersito, allegato sub A) al presente atto quale parte integrante e sostanziale, comprensivo della riformulazione delle attività inizialmente previste, delle tempistiche relative alle varie linee di lavoro nonché dei costi progettuali, così come dettagliatamente specificati nella tabella 1 "Costi per il funzionamento suddivisi per anno";
4. di dare atto che i costi e i ricavi previsti a carico di Arpa in allegato sub A) nelle annualità 2014-2016 sono compresi nel conto economico preventivo annuale 2014 e pluriennale 2014-2016 e sono suddivisi nel budget annuale di esercizio 2014 dei Centri di Responsabilità interessati delle Sezioni provinciali, Strutture tematiche, Direzione Tecnica e Servizi di Direzione Generale;
5. di dare atto che per quanto non espressamente previsto dal presente provvedimento si rinvia a quanto disposto dalla D.D.G. n. 29 del 15/03/2010 e successive modifiche.

PARERE: FAVOREVOLE

IL DIRETTORE AMMINISTRATIVO

(F.to Dott.ssa Massimiliana Razzaboni)

IL DIRETTORE TECNICO

(F.to Dott. Franco Zinoni)

IL DIRETTORE GENERALE
(F.to Prof. Stefano Tibaldi)



PROGETTO “SUPERSITO”

Realizzazione di uno studio integrato dell'inquinamento dell'atmosfera nella regione Emilia-Romagna attraverso misure di parametri chimici, fisici, tossicologici e valutazioni sanitarie, epidemiologiche e ambientali mediante modelli interpretativi

1. Premessa

Con il termine “Supersito” s’intende l’insieme di osservazioni dettagliate di alcuni dei parametri chimici, fisici, tossicologici che normalmente non vengono monitorati nella rete di monitoraggio dell’inquinamento atmosferico della regione Emilia-Romagna e che si evidenziano per il loro valore innovativo e sperimentale nella caratterizzazione dell’inquinamento atmosferico.

Nella elaborazione del presente progetto si è fatto riferimento ad esperienze già consolidate a scala internazionale quali quelle relative ai “Supersiti” di Monaco (D) e degli USA.

La specificità del progetto della regione Emilia-Romagna risiede nella stretta integrazione tra i dati ambientali e quelli di tipo sanitario ed epidemiologico. Infatti parecchi studi epidemiologici hanno da tempo dimostrato la correlazione tra le concentrazioni di particolato presente in aria e una maggiore morbilità e mortalità.

Inoltre, la decisione della Commissione Europea del 28 settembre 2009, che non concede la deroga alle zone della regione Emilia-Romagna all’obbligo di applicare i valori limite di PM 10 in qualità dell’aria, comporta sostanzialmente la necessità di una maggiore conoscenza delle tematiche relative all’aerosol atmosferico, ai suoi precursori e alla sua composizione, anche ai fini di una miglior governance delle tematiche relative alla protezione dell’atmosfera e, di conseguenza, della salute.

I risultati delle misure precedentemente citate saranno dunque a supporto di successive valutazioni sanitarie, epidemiologiche e ambientali mediante modelli interpretativi, le quali diventano parti integranti del progetto “Supersito”.

2. Obiettivo generale

L’obiettivo generale del progetto è quello di migliorare le conoscenze relativamente agli aspetti ambientali del particolato fine ed ultrafine, nelle componenti primarie e/o secondarie, presente in atmosfera, al fine di avviare in Emilia-Romagna un programma sull’impatto sanitario dell’inquinamento atmosferico, fondato sull’utilizzo di indicatori ambientali e sanitari affidabili e standardizzati, da poter utilizzare, non solo per promuovere lo sviluppo di politiche di prevenzione, ma anche per valutare l’efficacia degli interventi preventivi intrapresi, a breve e a lungo termine.

3. Obiettivi specifici

Dal punto di vista ambientale risulta importante effettuare approfondimenti specifici relativi alla:

- Formazione e composizione degli inquinanti secondari in atmosfera (particolato fine e ultrafine);
- Identificazione del legame tra la composizione del particolato presente in aria e le fonti di emissione.

La disponibilità di tali informazioni consentirà di:

- Migliorare l'attuale capacità dei modelli matematici di effettuare scenari futuri di qualità dell'aria;
- Rispondere alle eventuali richieste derivanti dal recepimento della Direttiva 50/2008/CE.

Dal punto di vista sanitario il progetto permetterà di:

- Valutare gli effetti tossicologici dei campioni di particolato raccolto al fine di una maggior comprensione degli aspetti infiammatori e di un complessivo risk assessment;
- Valutare con studi epidemiologici gli effetti a breve e lungo termine dell'esposizione a inquinamento atmosferico della popolazione.

In particolare, gli obiettivi specifici sono i seguenti:

a - Stima del bilancio di massa chimico attraverso una dettagliata speciazione dell'aerosol fine;

b - Definizione dello spettro dimensionale delle particelle submicroniche, con alta risoluzione temporale;

c - Caratterizzazione della meteorologia del PBL e del Surface Energy Balance (SEB) durante episodi di nucleazione di UFP e trasporto di particelle di origine crostale;

d - Valutazione del comportamento e dei fenomeni che portano alla formazione e crescita del particolato secondario inorganico ed organico;

e - Utilizzo di modellistica meteorologica ad alta risoluzione (COSMO) e di modelli chimici di trasporto (Chimere) per la simulazione delle specie chimiche (particolato) di interesse epidemiologico;

f - Attribuzione dei pesi alle varie sorgenti di emissione attraverso determinazione della speciazione chimica e mediante modelli al recettore (source apportionment);

g - Risposta alla Direttiva 50/2008 relativamente a carbonio organico ed elementare, ioni sull'aerosol e al D. Lgs 183/04 per alcuni composti precursori dell'ozono in diverse aree della regione;

h - Determinazioni di tipo tossicologico per la valutazione delle tipologie di aerosol contenenti sostanze, elementi, composti o miscele di composti che hanno effetti sulla salute;

i - Realizzazione di indagini epidemiologiche attraverso lo studio degli eventi sanitari rilevanti:

- a breve termine, mediante correlazioni tra i flussi informativi correnti (SDO, banca dati farmaceutica, etc.) per patologie riconducibili ad esposizione a inquinanti e i valori di alcune sostanze trovate nell'aerosol atmosferico;

- a lungo termine, attraverso le analisi di fonti informative quali: registro tumori e registro mortalità e i valori di alcune specie chimiche determinate sistematicamente nell'aerosol, nel corso della durata del progetto;

I dati provenienti dai flussi/fonti informative sopra riportati verranno trattati ai sensi del D.lgs. 196/03 e ss.mm..

l - Valutazione e stima del rischio (risk assessment) attraverso le elaborazioni dei parametri chimici e tossicologici osservati e dalla comparazione con le analisi epidemiologiche di eventi a breve e a lungo termine;

m - Miglioramenti della valutazione dell'esposizione della popolazione attraverso studi della qualità dell'aria in ambienti indoor relativamente al particolato fine ed ultrafine.

4. Localizzazione dei punti di monitoraggio

Il progetto vedrà il campionamento di particolato atmosferico organizzato su n. 4 stazioni di monitoraggio, le quali verranno dotate di nuova e specifica strumentazione, posizionate nel territorio regionale in:

- area urbana di Bologna (Main Site – MS);
- area rurale di San Pietro Capofiume (Bo) (Rural Satellite 3 – RS3);
- area urbana di Parma (Urban Satellite – US1);
- area urbana di Rimini (Urban Satellite – US2);

Tali dati verranno integrati con quelli provenienti dall'esistente stazione remota di Monte Cimone, nell'Appennino Modenese (Remote Satellite – RS4).

5. Collaborazioni esterne

Vista la complessità del progetto, ARPA instaurerà rapporti di collaborazione con centri di ricerca internazionale di comprovata esperienza scientifica che potranno arricchire il progetto di rilevanti competenze non attualmente rinvenibili all'interno del Servizio Sanitario regionale e di ARPA.

Le collaborazioni che si intendono attivare coinvolgeranno strutture di rilievo internazionale, tra le quali:

- CNR ISAC (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze dell'Atmosfera e del Clima, Bologna), relativamente alle attività di misure chimiche, fisiche dell'atmosfera (campionamento ed analisi), elaborazioni dati ed interpretazioni dei fenomeni;
- Università di Bologna (Dipartimento di Patologia Generale), relativamente alle attività di valutazioni del rischio degli inquinanti monitorati;
- Università di Ferrara (Dipartimento di Chimica), relativamente alle attività di analisi chimica di microinquinanti organici polari;

- Università di Helsinki (SF) Dipartimento di Scienze Fisiche ;
- Università della Finlandia Orientale (SF), Dipartimento di Fisica;
- Finnish Meteorological Institute (SF), Istituto Meteorologico Finlandese;
I tre gruppi finlandesi sopra citati svolgeranno attività di misure chimico-fisiche di aerosol, elaborazioni dati ed interpretazione dei fenomeni;
- Dipartimento di epidemiologia dell'ASL Roma E, relativamente agli aspetti epidemiologici;
- Università di Bologna (Dipartimento di Statistica), relativamente alle attività di analisi dati di cui alle LP 1, 2, 3, 6, 7;
- Università dell'Insubria – Dipartimento di Scienza ed Alta Tecnologia, relativamente alle attività di misura degli inquinanti gassosi e dei tassi di ricambio dell'aria di cui alla LP 5.

6. Organizzazione del progetto

Il progetto si articola in 7 linee progettuali come di seguito rappresentate:

- LP 1: Campionamento, analisi chimica e distribuzione dimensionale del particolato;
- LP 2: Misure fisiche e modelli di qualità dell'aria;
- LP 3: Campagne di misure intensive in atmosfera;
- LP 4: Tossicologia predittiva;
- LP 5: Campagne di misure intensive in ambienti indoor;
- LP 6: Analisi epidemiologiche sugli effetti a breve e a lungo termine;
- LP 7: Analisi dati ambientali.

Il progetto viene organizzato in alcuni elementi strutturali di seguito definiti:

- *Comitato guida (CG): con funzioni e compiti decisionali di tipo strategico e di garante del corretto svolgimento del progetto*

Tale Comitato ha il compito di:

- verificare il corretto svolgimento del progetto,
- prendere eventuali atti di re-indirizzo delle attività previste,
- definire le eventuali azioni da intraprendere per una corretta realizzazione degli obiettivi

Composizione del Comitato guida:

- Direttore generale ARPA,
- Direttore tecnico ARPA,
- un rappresentante della Direzione generale Ambiente e Difesa del suolo e della costa,
- un rappresentante della Direzione generale Sanità e Politiche Sociali,
- n. 2 Project Manager.

- *Comitato di progetto (CP) con l'obiettivo di assicurare i flussi informativi tra le Linee Progettuali.*

Tale Comitato ha il compito di:

- esplorare i collegamenti le varie Linee Progettuali e le relative sottoarticolazioni,
- garantire il rispetto dei flussi informativi previsti nelle attività,

- elaborare la relazione conclusiva del progetto comprensiva di una valutazione e proposta per il successivo utilizzo delle infrastrutture di monitoraggio.

Composizione del Comitato di progetto:

- n. 2 Project Manager,
- Responsabili delle 7 linee progettuali,
- Responsabile ARPA - Centro Tematico Regionale Qualità dell'Aria

- *n. 2 Project Manager (PM): con funzioni di tipo gestionale-operativo e di coordinamento complessivo delle linee progettuali.*

I due PM, individuati rispettivamente da ARPA per la componente ambientale e dalla Regione Emilia-Romagna (Direzione generale Sanità e Politiche Sociali) per la componente sanitaria, hanno come obiettivo la verifica del rispetto dei costi, dei tempi e dei risultati attesi definiti nel progetto.

I compiti dei PM sono essenzialmente i seguenti:

- definire la pianificazione e la work breakdown structure dell'intero progetto,
- favorire la comunicazione e la coesione nel Comitato di progetto,
- distribuire le risorse sulle attività e monitorarne lo svolgimento,
- verificare periodicamente, riportandolo al Comitato guida, lo stato di avanzamento dei lavori descrivendo eventuali esigenze di interventi particolari o di azioni da intraprendere,
- partecipare alle riunioni del Comitato guida e metterne in atto le relative decisioni.

Ad ogni riunione del Comitato di progetto potranno essere inoltre invitati gli enti esterni che collaborano al progetto.

Infine, è prevista una Segreteria, composta da un rappresentante della Regione Emilia-Romagna e da un rappresentante di Arpa, con funzioni di supporto logistico ed amministrativo al Comitato Guida, ai Project Manager, al Comitato di Progetto.

7. Sintesi degli obiettivi delle linee progettuali

Linea progettuale 1 - Campionamento, analisi chimica e distribuzione dimensionale del particolato

Obiettivi specifici

La linea progettuale 1 ha l'obiettivo di fornire, sul lungo periodo, un flusso di dati sulla composizione chimica del particolato atmosferico PM 2.5. Inoltre lo studio della distribuzione delle particelle sub-microniche in atmosfera è determinante per poter comprendere le reazioni che avvengono e che portano a trasformazioni e crescita. L'analisi delle condizioni chimico-fisiche che pilotano tali reazioni di formazione e distruzione di particelle in un'area urbana e rurale è il secondo obiettivo della LP1.

In primo luogo, la LP1 gestisce ed esegue le attività di campionamento e le analisi chimico-fisiche dei campioni di aerosol nel main site (Bologna, MS) e nei satellites di Parma US1, Rimini US2, San Pietro Capofiume RS3 con frequenze e modalità diverse per ogni sito, relativamente ai parametri:

- carbonio organico ed elementare
- ioni
- metalli

per le valutazioni di tipo epidemiologico di cui alla LP6.

La determinazione di tali parametri permetterà inoltre una valutazione di quanto richiesto dalla Direttiva UE 50/08.

Con il primo obiettivo ci si propone anche di colmare la carenza di informazioni sulla composizione chimica dell'aerosol atmosferico sia primario, emesso direttamente dalle sorgenti, che secondario, derivante da reazioni chimiche in atmosfera.

Inoltre, verrà garantita la misura di alcuni parametri precursori dell'ozono, al rural site di San Pietro Capofiume, mediante un GC FID automatico per la misura di alcuni VOC.

Per quel che concerne il secondo obiettivo, le attività previste sono la gestione e l'esecuzione delle misure in tempo reale della distribuzione dimensionale dell'aerosol.

Verranno effettuate misure in continuo a partire da alcuni nanometri mediante misuratori differenziali di mobilità elettrica. Le determinazioni verranno eseguite sia nel main site di Bologna che nel rural site di San Pietro Capofiume, queste ultime effettuate dalle Università di Helsinki, Kuopio e dal Finnish Meteorological Institute.

I risultati ottenuti forniranno un quadro sulle condizioni e sulle modalità di formazione e di crescita delle particelle, sia nell'area urbana che in quella rurale.

Le analisi, eseguite sui filtri derivanti dal campionamento, riguarderanno i seguenti parametri:

1. metalli totali mediante ICP-MS (per MS, US1, US2, RS3);
2. composti inorganici cationici ed anionici mediante cromatografia ionica (tutte le stazioni);
3. carbonio organico ed elementare mediante un analizzatore termo-ottico (per MS, US1, US2, RS3);
4. carbonio totale e idrosolubile con analizzatore termico (per RS4)

La misura dei composti organici volatili precursori dell'ozono verrà effettuata mediante analizzatore in continuo GC-FID (per RS3).

Risultati attesi

La realizzazione delle attività previste nella presente linea progettuale determinerà il conseguimento dei seguenti risultati:

- circa 800 filtri/anno per il PM2.5 nel main site, campionati giornalmente. Successivamente alla misura della concentrazione in massa, tali filtri verranno destinati alle analisi chimiche: 1/3 per metalli, 1/3 per ioni e 1/3 per EC/OC;
- circa 300 filtri/anno per il PM2.5 per ogni sito satellite, campionati giornalmente (siti satellite: Pr, Rn, San Pietro Capofiume). Successivamente alla misura della

concentrazione in massa, tali filtri verranno destinati alle analisi chimiche: circa 1/3 per metalli, 1/3 per ioni e 1/3 per EC/OC. Le analisi chimiche per ioni, metalli e EC/OC garantiranno una copertura annua pari al 27 % circa per ogni specie analitica;

- stima di dati orari di PM al main site e al rural site;
- misure di alcuni precursori VOC dell'ozono nel sito rurale;
- circa 50 filtri/anno di PM1 e altrettanti di PM1-10 per analisi della componente carboniosa (carbonio totale e idrosolubile) e ionica derivante dal campionamento al Monte Cimone;
- distribuzione dello spettro dimensionale dell'aerosol submicronico con alta risoluzione temporale per i tre anni di misure sia al MS che al RS3;
- valutazione degli eventi di trasformazione in relazioni alle condizioni atmosferiche.

Attività della LP1 e loro descrizione

Attività n. 1: Acquisto strumentazione e realizzazione infrastrutture

L'attività 1 è stata volta alla:

- a) Acquisizione di strumenti e successiva loro manutenzione;
- b) Definizione microubicazione main site (Bo), nella zona nord dell'area urbana di Bologna.
- c) Progettazione e realizzazione di infrastrutture.

Relativamente al MS e al RS3 sono state progettate e realizzate le necessarie infrastrutture per l'alloggio degli strumenti di misura, contemplando le necessarie utenze elettriche e di trasmissione dati.

Tale attività è stata svolta anche a supporto delle LP 2, 3 e 4.

Attività n. 2: Campionamento di aerosol e gas

La presente attività ha la finalità di valutare la concentrazione in massa del particolato PM2.5 tramite misuratori automatici e di raccogliere il materiale da sottoporre ad analisi chimiche: carbonio elementare, carbonio organico, metalli, ioni.

Il campionamento sarà effettuato su filtro idoneo per essere sottoposto alle varie speciazioni chimico-fisiche. La scelta del supporto filtrante verrà effettuata sulla base di una indagine dei migliori materiali utilizzabili per le varie tecniche analitiche.

Verrà realizzato il campionamento di aerosol al fine di effettuare la speciazione chimica. I punti di campionamento saranno distribuiti col criterio di seguito descritto:

- PM2.5 (concentrazione in massa)
4 siti di campionamento di cui:
main site (Bo)
rural site (San Pietro Capofiume)
urban satellite site (Pr)
urban satellite site (Rn)
- PM 1 e PM 1 -10 (concentrazione in massa)
remote satellite site (Monte Cimone)
- PM (concentrazione numerica di diverse frazioni)
main site (Bo)
rural site (San Pietro Capofiume)

Per le attività di analisi/campionamento di routine il monitoraggio verrà svolto durante tutto l'anno assicurando circa un 75% di dati validi nel main site e circa il 27% nei siti satelliti di Pr, San Pietro Capofiume e Rn (per ogni specie chimica) per quanto riguarda il PM2.5. Il campionamento del PM 1 e del PM 1-10 verrà eseguito una volta alla settimana al Monte Cimone.

I campioni totali per anno ottenuti dal monitoraggio saranno in numero di circa:
800 (PM2.5 main site),
900 (PM2.5 satelliti di Pr, Rn e San Pietro Capofiume),
50 PM1 e 50 PM1-10 (Monte Cimone).

Presso le sezioni di Bologna, Parma e Rimini verranno validate le misure giornaliere di PM2.5 acquisiti mediante campionatori automatici.

Presso la sezione di Bologna verranno inoltre validate:

- le misure orarie di concentrazione numerica di PM;
- le misure di concentrazione di composti organici volatili mediante il misuratore in continuo GC/FID posto al rural site di San Pietro Capofiume.

L'attività di campionamento verrà intensificata nel main site e nel rural site con alcune campagne di misura intensiva, per il cui dettaglio si veda la LP 3.

Come già specificato, il campionamento al Monte Cimone avverrà con cadenza settimanale. Ogni campione avrà durata di 36 ore, cumulate su tre notti consecutive. La scelta del campionamento nelle sole ore notturne è motivata dall'esigenza di evitare gli effetti delle brezze di valle che trasportano inquinanti in quota.

Attività n. 3: Analisi chimica di metalli totali

Presso la sezione Arpa di Ferrara verranno svolte le analisi dei metalli totali. Dopo mineralizzazione acida i supporti filtranti verranno analizzati mediante Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry per l'analisi dei seguenti metalli: Ni, V, As, Cr, Zn, Fe, Mn.

Verranno inoltre forniti i dati relativi ai seguenti metalli, non presenti nella prima fase di progetto: Cd, Pb, Sn, Sb, La.

Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni di ognuno dei metalli elencati.

Attività n. 4: Analisi chimica della componente inorganica ionica

Presso la sezione Arpa di Ferrara verranno inoltre eseguite le analisi della componente inorganica ionica: NH_4^+ , NO_3^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Cl^- , K^+ . Verranno forniti anche i dati di Br^- , Mg^{2+} e Na^+ , anche se per queste specie, i valori rilevati nel primo periodo di progetto, si sono dimostrati frequentemente inferiori ai limiti di rivelabilità della tecnica di misura utilizzata.

Dopo estrazione dei supporti filtranti con acqua Milli-Q e successiva filtrazione, le soluzioni acquose sono analizzate mediante cromatografia ionica. Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni dei singoli composti inorganici ionici.

Attività n. 5: Analisi chimica di carbonio organico ed elementare

Verranno svolte le analisi del carbonio organico ed elementare mediante un analizzatore termo-ottico.

Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni di carbonio organico ed elementare.

Attività n. 6: Analisi chimica di carbonio totale, idrosolubile e composti ionici

Presso il CNR-ISAC, verranno eseguite le analisi dei campioni derivanti dal "remote satellite site" di Monte Cimone per la determinazione di carbonio totale, idrosolubile e composti ionici (NH_4^+ , NO_3^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , Na^+ , Mg^{2+}). Il carbonio totale e l'idrosolubile verranno determinati con analizzatore termico (Multi N/C 2100, Analytik Jena). Il metodo per il carbonio totale è conforme a quello della tecnica termooptica, come dimostrato da prove di intercomparison con campioni di particolato atmosferico. Gli ioni inorganici verranno determinati per cromatografia ionica.

Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni per il carbonio totale ed idrosolubile e per la componente ionica

Attività n. 7: Misura della distribuzione dimensionale dell'aerosol

Presso il main site di Bologna e il rural site di San Pietro Capofiume verranno posizionati gli strumenti per le successive misure di distribuzione dimensionale dell'aerosol mediante misuratori di mobilità differenziale. Le misure saranno eseguite rispettivamente:

San Pietro Capofiume a partire da novembre 2011,

Bologna main site a partire da agosto 2012,

per una durata di tre anni.

Tali misure verranno effettuate da Arpa e da FMI, Università della Finlandia Orientale e Università di Helsinki.

Attività n. 8: Analisi dati della distribuzione dimensionale dell'aerosol

Verranno analizzati i dati ottenuti dall'attività 7 al fine di valutare gli eventi di nucleazione e crescita delle particelle con particolare riferimento alle condizioni meteorologiche. Verranno inoltre valutate le correlazioni con i risultati ottenuti dalla LP 3, in particolare con i risultati derivanti dalle analisi dell'AMS e dalla speciazione derivante dal campionamento mediante gli impattori Berner.

La linea progettuale 1 svolge le proprie attività dal 2010 al 2016, in particolare:

- 2010: acquisto dei necessari investimenti attraverso le opportune procedure di gara, messa a punto delle metodiche e organizzazione delle attività degli anni seguenti.
- 2011: messa a punto delle metodiche, campionamento e analisi chimiche
- 2012: campionamento e analisi chimiche
- 2013: campionamento e analisi chimiche
- 2014: campionamento, analisi chimiche, elaborazione ed analisi dati
- 2015: campionamento, analisi chimiche, elaborazione ed analisi dati
- 2016: elaborazione dati, presentazione relazione scientifica ed economica definitiva

Linea progettuale 2 - Misure fisiche e modelli di qualità dell'aria

Gli obiettivi specifici della linea progettuale 2 sono:

- la caratterizzazione della meteorologia dello strato limite planetario (PBL) e del bilancio energetico superficiale (SEB) durante episodi di nucleazione e di trasporto di aerosol di origine crostale.
- l'utilizzo di modellistica meteorologica ad alta risoluzione (COSMO) e di modelli chimici di trasporto (Chimere) per la simulazione delle specie chimiche (particolato) di interesse epidemiologico.

I risultati attesi sono:

- fornitura di dati meteo di supporto alle altre LP, nel corso del Routine Measurements Program triennale;
- fornitura di dati meteo speciali, focalizzati sullo strato limite atmosferico e sulla turbolenza, nel corso programma intensivo di osservazione (IOP);
- algoritmi per il calcolo dell'altezza dello strato rimescolato;
- caratterizzazione meteo di episodi di nucleazione e di trasporto di aerosol di origine crostale;
- verifica/diagnostica del modello di trasporto chimico Chimere, con particolare riferimento al PM2.5;
- sviluppo/miglioramento delle parametrizzazioni e dei post-processing di Chimere;
- verifica/diagnostica del modello meteo COSMO, con particolare riferimento allo strato limite planetario (PBL) e al bilancio energetico superficiale (SEB);
- sviluppo/miglioramento delle parametrizzazioni e dei post-processing di COSMO, con particolare riferimento a SEB e PBL.

Attività della LP2 e loro descrizione

Attività n. 1: Misure meteo tradizionali

Fornitura di dati meteo (durante tutti i 3 anni di RMP) di supporto, dalla rete di stazioni meteo al suolo e dai radiosondaggi di S. Pietro Capofiume; durante gli IOP, in alcune giornate selezionate, verrà intensificata la frequenza di lancio delle radiosonde, che nella configurazione routinaria vengono lanciate alle 00 UTC. I dati della rete di stazioni al suolo saranno disponibili quasi in tempo reale tramite interfaccia web.

Attività n. 2: Misure lidar

Misure lidar; sviluppo, test e applicazione (durante i 3 anni di RMP) di codici per il calcolo dell'altezza dello strato rimescolato da lidar/ceilometer. Un lidar-ceilometer sarà operativo H24 per i tre anni di misura per fornire profili verticali dell'evoluzione dello strato mescolato, dello strato di entrainment, dello strato residuo, della base delle nubi, della presenza di nebbie e, in generale, della densità di aerosol in funzione della quota tra i 50 m ed i 4 km sls (dati mediati su 15 minuti e con risoluzione verticale di 7.5m).

Attività n. 3: Misure meteo speciali

Misure meteo speciali con stazione micrometeo (SEB) includente anemometro sonico e analizzatore di CO₂ e H₂O ad alta frequenza integrati, radiometro a 4 vie, sensore di flusso di calore nel terreno, profilo di sensori (TDR) di umidità e temperatura nel terreno (durante i 3 anni di RPM). I dati della stazione micrometeo saranno elaborati con tecniche di *eddy*

covariance, per calcolare i flussi energetici turbolenti tra suolo e atmosfera, determinanti le caratteristiche di stabilità dello strato limite superficiale (PBL) e dunque cruciali per la dispersione di inquinanti. Indicativamente 100 giorni/anno di misure.

Attività n. 4: Analisi episodi

Caratterizzazione meteo di episodi di nucleazione e di trasporto di aerosol di origine crostale (max 6 episodi analizzati). Specifici episodi della durata di pochi giorni, caratterizzati da episodi di nucleazione o di trasporto di aerosol di origine crostale, identificati e segnalati dai responsabili delle linee progettuali che svolgono campionamento e analisi dell'aerosol, saranno analizzati dal punto di vista meteo.

Attività n. 5: Diagnostica Chimere

Verifica/diagnostica del modello chimico di trasporto Chimere, nella sua implementazione "NINFA" sulla Pianura Padana. In particolare saranno verificate potenzialità e limiti del modello nel riprodurre gli andamenti giornalieri delle concentrazioni di aerosol simulate alla superficie, la loro composizione chimica e la loro distribuzione dimensionale.

Attività n. 6: Miglioramento Chimere

Miglioramento del modello Chimere. Anche in base ai risultati dell'attività 5, verranno pianificate specifiche azioni di sviluppo del modello Chimere e/o della sua implementazione presso ARPA-SIMC e/o del suo input emissivo. Tali azioni saranno sottoposte a test, applicate a casi studio, ed eventualmente implementate operativamente.

Attività n. 7: Postprocessing Chimere

Sviluppo di tecniche di postprocessing di Chimere, con particolare riferimento alle specie chimiche di interesse epidemiologico. Il sistema "PESCO" di post-elaborazione geostatistica delle simulazioni di Chimere nella sua implementazione sul Nord Italia (NINFA) consente di integrare dati simulati e misurati. Ad inizio progetto il sistema era in grado di elaborare dati di ozono e di PM10, mentre l'elaborazione del PM2.5 era in fase di avvio. Verranno quindi calibrati e consolidati gli algoritmi per l'analisi del PM2.5, al fine di produrre campi a risoluzione di 1km delle concentrazioni di PM2.5, su base giornaliera e/o su base mensile. Verranno prodotte le analisi giornaliere relative ad alcuni episodi di interesse epidemiologico e/o le analisi mensili relative ad un periodo di almeno un anno. Saranno sperimentate ulteriori elaborazioni geostatistiche per produrre informazioni relativamente alla distribuzione spaziale di specifiche componenti chimiche dell'aerosol di interesse epidemiologico.

Attività n. 8: Diagnostica COSMO

Verifica/diagnostica del modello meteo COSMO e del suo postprocessing, con particolare riferimento a SEB e PBL. Con i dati raccolti durante le campagne intensive (attività 3) saranno verificati limiti e potenzialità del modello COSMO e del suo postprocessing nel riprodurre: gli scambi turbolenti di energia alla superficie tra suolo e atmosfera, il contenuto d'acqua e la temperatura nel suolo. Con i dati raccolti ed elaborati dall'attività 2 sarà invece verificata l'altezza del PBL.

Attività n. 9: Sviluppo COSMO

Miglioramento di COSMO e del postprocessing, test di implementazioni ad alta risoluzione. Saranno sottoposti a test, calibrati ed eventualmente implementati operativamente algoritmi alternativi per il calcolo dell'altezza del PBL. Il modello sarà applicato a casi studio in configurazione ad alta risoluzione (~1km), anche con l'implementazione di specifici algoritmi per le aree urbane.

La linea progettuale 2 svolge le proprie attività dal 2010 al 2015, in particolare:

- 2010: organizzazione delle attività degli anni seguenti e inizio attività di misura.
- 2011: misure di grandezze fisiche dell'atmosfera mediante diverse metodologie, implementazione della modellistica e di tecniche di postprocessing.
- 2012: misure di grandezze fisiche dell'atmosfera mediante diverse metodologie, implementazione della modellistica e di tecniche di postprocessing e analisi degli episodi.
- 2013: misure di grandezze fisiche dell'atmosfera mediante diverse metodologie, implementazione della modellistica e di tecniche di postprocessing e analisi degli episodi.
- 2014: misure di grandezze fisiche dell'atmosfera mediante diverse metodologie, implementazione della modellistica e di tecniche di postprocessing e analisi degli episodi.
- 2015: misure di grandezze fisiche dell'atmosfera mediante diverse metodologie, implementazione della modellistica e di tecniche di postprocessing e analisi degli episodi.

Linea progettuale 3 - Campagne di misure intensive in atmosfera- Intensive observation program (IOP)

Obiettivi specifici

La strategia della LP3 è quella di concentrare misure sofisticate che richiedono lunghi tempi di analisi dei campioni o che fanno uso di strumenti inadatti a periodi prolungati di misura in periodi di osservazione intensiva ("intensive observation periods", IOP) presso due stazioni di misura, il "main site" (MS, a Bologna) e il vicino "rural satellite site" (RS3, a San Pietro Capofiume) ed in particolari periodi dell'anno in modo da ottenere le informazioni più complete possibili almeno per alcune condizioni ambientali giudicate di interesse. Tali condizioni verranno individuate per uno studio approfondito dell'evoluzione della composizione del particolato fine, specialmente in inverno, estate ed autunno, perché favorevoli all'accumulo del particolato in atmosfera e/o perché caratterizzate da una maggiore esposizione della popolazione (o da una maggiore sensibilità all'esposizione). La scelta dei due siti in cui concentrare le misure durante gli IOPs è dovuta al fatto che la stazione di Bologna (MS) è situata all'interno della maggiore conurbazione in regione, mentre la stazione di San Pietro Capofiume RS3 permette la caratterizzazione del fondo regionale di aerosol, permettendo di discriminare le dinamiche di evoluzione della composizione del particolato legate all'area urbana da quelle associate a un trasporto a più larga scala.

L'obiettivo della LP3 è la gestione, l'esecuzione delle attività di campionamento nel main site (Bologna) e nel rural site (San Pietro Capofiume) e delle attività di analisi chimico-fisiche dei campioni di aerosol relativamente ai seguenti parametri:

a) speciazione della sostanza organica presente nel particolato in composti organici polari, IPA, Nitro-IPA, alcani lineari a lunga catena e ossi-IPA. Lo scopo di questa analisi è la determinazione di inquinanti specifici, a completamento dei dati di carbonio organico (OC) forniti dal "routine measurement program", RMP (LP1).

b) trend di concentrazione dei maggiori costituenti chimici dell'aerosol misurati con elevata risoluzione temporale mediante l'impiego di un "aerosol mass spectrometer" (AMS). Le misure AMS consentiranno quindi di investigare i processi di formazione e accumulo del particolato in funzione dei parametri meteorologici, di trasporto (vento), fotochimici e al variare dell'intensità delle emissioni nel corso della giornata. Le scale temporali in esame sono quindi molto più brevi di quelle dell'RMP (LP1) che prevedono campionamenti su filtro che durano 24 ore.

c) distribuzioni dimensionali dei componenti chimici del particolato, ottenute tramite l'ausilio di impattori multistadio. Le specie chimiche misurate nei vari intervalli dimensionali dell'aerosol (da 0.05 a 10 μm) comprendono gli ioni inorganici, il carbonio totale ed il carbonio organico idrosolubile ("water-soluble organic carbon", WSOC) usato come proxy dell'aerosol organico secondario. La dimensione delle particelle è il parametro di maggiore importanza al fine di determinarne il tempo di vita in atmosfera, quindi le misure chimiche segregate dimensionalmente consentono di discriminare i componenti chimici emessi localmente da quelli trasportati da sorgenti lontane.

d) caratterizzazione della composizione organica del particolato fine ottenuta tramite spettroscopia a risonanza magnetica nucleare (NMR) per l'identificazione e quantificazione dei contributi da sorgenti naturali biologiche e da sorgenti inquinanti da combustione. La spettroscopia NMR impiega lo stesso approccio dell'AMS, con inferiore risoluzione temporale, ma con maggior dettaglio nel discernimento delle sorgenti, in particolare tra sorgenti naturali e antropiche.

Con tale obiettivo ci si propone di fornire ulteriori informazioni per le valutazioni ambientali di cui alla LP 7 e colmare l'assenza di informazioni sulla composizione chimica dell'aerosol atmosferico sia primario, emesso direttamente dalle sorgenti, che secondario, derivante da

reazioni chimiche in atmosfera, aumentando il dettaglio della speciazione dell'aerosol rispetto alle misure routinarie ottenute nella LP1.

La LP 3 eseguirà anche il campionamento a supporto delle attività di cui alla LP4.

Risultati attesi

La realizzazione delle attività previste nella presente linea progettuale verranno effettuate nei periodi più significativi dell'anno con campagne di misura che sono iniziate a partire dal 2011 fino al 2014. Ogni anno verranno dedicati circa 60 giorni di misura, con l'obiettivo di conseguire i seguenti risultati:

- quantificazione delle concentrazioni di microinquinanti organici e di traccianti di sorgenti di combustione (IPA, nitro-IPA, alcani lineari a lunga catena, oxo-ipa) e determinazione dei corrispondenti trend temporali attraverso l'analisi chimica del PM2.5, campionato giornalmente, nel main site e nel sito rurale di San Pietro Capofiume
- quantificazione delle concentrazioni di composti organici polari (acidi e zuccheri) e determinazione dei corrispondenti trend temporali attraverso l'analisi chimica del PM2.5, campionato giornalmente, nel main site e nel sito rurale
- determinazione della composizione chimica del particolato in funzione del diametro delle particelle e della sua evoluzione nel tempo durante episodi di accumulo di inquinamento, tramite l'impiego di impattori a 5 stadi (con cut-off: 0.05, 0.14, 0.42, 1.2 e 3.5 μm ed inlet con taglio a 10 μm), campionati nell'arco di 8 o 12 ore (differenziando tra condizioni diurne e notturne) nel main site di Bologna e nel rural site di San Pietro Capofiume
- ricostruzione dei trend di concentrazione dei principali componenti chimici non refrattari del PM2.5 con elevata risoluzione temporale (tempo di acquisizione ≤ 5 min) tramite misure di "aerosol mass spectrometer" (AMS) al main site e, per un numero inferiore di campagne, contemporaneamente al rural site. Ogni AMS è in grado di acquisire più di 5000 spettri di massa per la misura quantitativa di solfato, nitrato, ammonio e sostanze organiche dell'aerosol nel corso di ognuna delle campagne sperimentali. Inoltre, l'AMS verrà operato anche nella sua modalità "aerosol TOF" fornendo informazioni anche sulle distribuzioni dimensionali degli stessi composti;
- determinazione della composizione organica di serie di campioni di particolato fine PM1 tramite spettroscopia $^1\text{H-NMR}$ per l'identificazione delle sorgenti naturali e antropiche del particolato organico secondario;
- campionamento di PM1 e PM 2.5 mediante campionatori ad alto volume (volume campionato per campagna per frazione di PM di almeno 3000 m³) destinati all'analisi gravimetrica e per le caratterizzazioni tossicologiche al main site;
- campionamento su PUF (a valle del campionamento di PM2.5 o PM1 HV) per le caratterizzazioni tossicologiche al main site.

Attività della LP 3 e loro descrizione

Attività n. 1: Acquisto e manutenzione strumentazione

L'attività 1 è stata volta all'acquisto e alla successiva manutenzione dei seguenti strumenti:

- Aerosol Mass Spectrometer;
- Campionatore di materiale particolato PM 2.5 ad alto volume;
- Campionatore di materiale particolato PM 1 ad alto volume.

La realizzazione delle infrastrutture per l'alloggio degli strumenti di misura è rimandata all'attività 1 della LP1.

Attività n. 2: Campionamento di aerosol

a) Campionamento di massa di particolato per la speciazione organica.

La presente attività ha la finalità di valutare la massa di particolato PM_{2.5} e di raccogliere il materiale da sottoporre ad analisi chimiche di composti organici: IPA (nitro e oxo-IPA), alcani lineari a lunga catena, composti idrosolubili (acidi carbossilici e zuccheri) e relative loro concentrazioni.

Il campionamento sarà effettuato su filtro idoneo per essere sottoposto alle varie speciazioni chimico-fisiche. La scelta del supporto filtrante verrà effettuata sulla base di una indagine dei migliori materiali utilizzabili per le varie tecniche analitiche.

Al fine di effettuare la speciazione chimica i punti di campionamento saranno distribuiti col criterio di seguito descritto:

Main site:

N. 1 campionatore PM 2.5 per la speciazione organica polare di cui all'attività 5;

N. 1 campionatore PM 2.5 per la speciazione organica (nitro-IPA, oxo-IPA, e alcani lineari a lunga catena) di cui all'attività 3;

Rural site:

N. 1 campionatore PM 2.5 per la speciazione organica polare di cui all'attività 5;

N. 1 campionatore PM_{2.5} per la speciazione organica (nitro-IPA, oxo-IPA, e alcani lineari a lunga catena) di cui all'attività 3.

I campioni totali per anno ottenuti dal monitoraggio saranno destinati per il 50% all'analisi dei microinquinanti organici (nitro-IPA, oxo-IPA e alcani lineari a lunga catena) e per il 50% all'analisi della componente organica idrosolubile.

b) Campionamento di massa di particolato mediante campionatori Berner

La presente attività ha come finalità il prelievo di campioni di particolato ottenuti in funzione del diametro delle particelle grazie all'impiego di impattori multistadio. Si utilizzeranno impattori in grado di operare a flussi elevati (80 lpm) che consentono di campionare quantità sufficienti di materiale particolato in tempi relativamente brevi (8 – 12 ore) anche per le particelle più piccole. Il modello di impattore in questione è di tipo "Berner" a bassa pressione, in grado di campionare simultaneamente le particelle di aerosol aventi diametro aerodinamico compreso negli intervalli: 0.05 – 0.14 µm ("quasi-ultrafine range"), 0.14 – 0.42 µm ("small accumulation mode"), 0.42 – 1.2 µm ("large accumulation mode" o "droplet mode"), 1.2 – 3.5 µm ("small coarse mode" e particelle di polveri desertiche da lungo trasporto), 3.5 – 10 µm ("large coarse mode"). Ognuno di questi intervalli dimensionali caratterizza un diverso stadio del ciclo di vita delle particelle in atmosfera.

c) Campionamento e successiva analisi gravimetrica di materiale particolato e fase gas per la caratterizzazione tossicologica e successive valutazioni del rischio di cui alla LP 4.

I campionatori saranno di tipo ad alto volume per permettere il campionamento di almeno 3000 metri cubi d'aria (richiesti dalla LP 4) per ogni campagna:

- PM_{2.5} N. 1 punto di campionamento nel main site
- PM₁ N. 1 punto di campionamento nel main site
- PUF N. 1 punto di campionamento nel main site

L'attività di monitoraggio verrà svolta nel main site durante le campagne di misura intensive per una durata totale di circa 60 giorni/anno.

Presso la sezione Arpa di Bologna verrà eseguita la procedura per la determinazione gravimetrica dei filtri utilizzati per il campionamento. L'attività verrà realizzata mediante condizionamento dei supporti filtranti e successiva pesata, da effettuarsi prima e dopo il campionamento. Verranno restituiti i risultati in termini di massa di materiale particolato.

Tali campioni verranno forniti alla LP 4 per le successive caratterizzazioni tossicologiche. Il numero di determinazioni è definito dalla LP 4.

Attività n. 3: Analisi chimica di microinquinanti organici (IPA, nitro-IPA, oxo-IPA e alcani lineari a lunga catena)

Presso la sezione Arpa di Ravenna verranno svolte le analisi di IPA, nitro-IPA, oxo-IPA e alcani lineari a lunga catena.

Le strumentazione utilizzate saranno le seguenti:

- HRGC/LRMS gascromatografo HP-6890 interfacciato a quadrupolo HP-5975 (Agilent Technology);
- HRGC/LRMS/NCI gascromatografo ultratrace interfacciato trappola ionica Polaris Q (Thermo Fischer) in ionizzazione chimica negativa;
- HRGC/HRMS gascromatografo interfacciato a spettrometro di massa ad alta risoluzione.

Per la ricerca degli IPA, nitro-IPA, oxo-IPA e alcani lineari a lunga catena sarà utilizzato il metodo riportato nel DM 25/11/1994 modificato.

La determinazione analitica sarà effettuata in HRGC/LRMS per alcani lineari a lunga catena, i mononitro IPA e gli oxo-IPA (3-nitrobenzantrene, 2-nitrofluorenone); in alta risoluzione gli IPA e dinitro-IPA (1,6 e 1,8 dinitropirene).

Dinitro e oxo IPA costituiscono nuove classi di mutageni isolati dal particolato organico. Si tratta di composti non facilmente reperibili e di costo elevato.

Viste le basse concentrazioni determinate nei periodi primaverili/estivi, contrariamente ai periodi autunnali/invernali in cui si utilizzeranno campionatori a basso volume con misure bigiornaliere (periodi dalle 9 alle 17-18 e dalle 17-18 alle 9), si preleverà con campionatori alti volume per 24 h dalle ore 9.

Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni di alcani lineari a lunga catena, IPA, nitro-IPA e oxo-IPA.

Attività n. 4: Analisi chimica delle frazioni di particolato mediante campionatori Berner

I campioni di particolato segregati dimensionalmente campionati con gli impattori di Berner (Attività 2b) saranno sottoposti a determinazione della massa per gravimetria, all'analisi degli ioni solubili (SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^- , ossalato, Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) per cromatografia ionica e dell'analisi del carbonio totale (TC) e organico idrosolubile (WSOC) con metodi termici conformi alle metodiche standard per l'analisi dell'OC/EC. Le analisi forniranno la composizione chimica essenzialmente completa in cinque intervalli dimensionali tra 0.05 e 10 μm . In particolare l'analisi della frazione dimensionale compresa tra 0.05 e 0.14 μm consentirà di ottenere dati unici sul particolato emesso da sorgenti locali come l'emissione di particelle ultrafini da sorgenti da traffico urbano o industriali.

Si prevede di analizzare il 50 % dei campioni prelevati durante le campagne intensive al MS e al rural site.

Attività n. 5: Analisi chimica della componente organica polare

Presso l'Università di Ferrara, Dipartimento di Chimica, verranno eseguite le analisi per la determinazione delle specie organiche idrosolubili, con particolare riferimento agli acidi organici ed agli zuccheri.

Si impiegherà la tecnica GC-MS in quanto la più adatta per la determinazione di questi analiti. Poiché si tratta di molecole molto polari è necessaria una procedura di derivatizzazione chimica per rendere i composti volatili per l'analisi GC. Data la complessità della miscela si prevede di caratterizzare i composti per classe e quantificare marker di sorgenti emissive e specifici processi fotochimici secondari. Verranno utilizzati agenti sililanti per ottenere sililderivati. Verranno studiate e confrontate diverse procedure di estrazione del campione dal filtro (utilizzando acqua o solventi polari) e diverse condizioni di derivatizzazione per scegliere le più idonee per analizzare il più elevato numero di analiti nel campione con la maggiore accuratezza e sensibilità.

Per studiare i cromatogrammi complessi ottenuti, saranno utilizzate opportune procedure di interpretazione del segnale sviluppate dal gruppo di ricerca. L'impiego di uno strumento MS ion trap permette di utilizzare spettri MS/MS per procedere alla identificazione di composti incogniti.

Verranno restituiti i risultati in termini di concentrazioni di acidi carbossilici e zuccheri.

Attività n. 6: Determinazione della composizione chimica di diverse frazioni dell'aerosol nell'intervallo sub-micronico (0.04 - 0.7 μm) mediante aerosol mass spectrometer.

Presso il *Main Site* per la determinazione in tempo reale della concentrazione e della composizione chimica del particolato fine nell'intervallo dimensionale 40 - 700 nm verranno eseguite misure con uno spettrometro di massa ad alta risoluzione a tempo di volo HR-ToF-AMS. Questo strumento è in grado di analizzare la componente non refrattaria dell'aerosol, ovvero sia vaporizzabile a 600 °C, che include i principali sali inorganici (ammonio, cloruro, solfato, nitrato) e la maggior parte delle sostanze organiche. Il limite di detezione per ognuna di queste sostanze è inferiore a 0.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Grazie alla misura di spettri di massa tramite la modalità a tempo di volo (ToF), lo strumento garantisce una risoluzione fino a 0.01 m/z, che è la più alta attualmente raggiungibile da spettrometri di massa per gli aerosol e che permette la misura della massa molecolare esatta in un intervallo tra 10 e 200 m/z. Questa tecnologia è in grado quindi di fornire importanti informazioni sulla natura delle sostanze organiche presenti nel particolato fine, sul loro stato di ossidazione e sulla distribuzione dei gruppi funzionali. L'HR-ToF-AMS è stato quindi impiegato in supersiti americani ed europei per distinguere le sostanze organiche prodotte dagli scarichi autoveicolari, quelle formate dalla combustione di biomasse e quelle prodotte in atmosfera da processi secondari.

L'HR-ToF-AMS è dotato anche di un classificatore dimensionale delle particelle, chiamato "aerosol-ToF", che consente di operare lo strumento in modo da analizzare le distribuzioni dimensionali di composti chimici selezionati sulle particelle di aerosol tra 40 e 700 nm. Questa modalità consentirà di determinare l'evoluzione della composizione chimica del particolato fine segregata dimensionalmente in maniera più veloce rispetto al campionamento con gli impattori di Berner, anche se limitatamente alle sostanze analizzabili con l'AMS.

L'HR-ToF-AMS verrà utilizzato con queste finalità nel corso degli IOP presso il MS e affiancato da un secondo analogo AMS ad alta risoluzione collocato presso il rural site durante un numero più limitato di campagne (Finnish Meteorological Institute). La misura simultanea con due AMS nei due siti, urbano e rurale, permette di studiare il trasporto di aerosol di fondo nella pianura padana e la sua influenza sulle concentrazioni e sulla composizione del particolato fine in città, così come il trasporto (in direzione opposta) e la

trasformazione di particolato fine emesso nell'area urbana ed esportato verso le aree di pianura.

Attività n. 7: Determinazione della composizione chimica della frazione organica del particolato mediante spettroscopia a risonanza magnetica nucleare (NMR)

Campioni di PM1 prelevati con un campionatore a medio volume (300 lpm) nel corso degli IOPs al MS e contemporaneamente al rural site saranno estratti e la loro frazione idrosolubile verrà analizzata tramite spettroscopia di risonanza magnetica nucleare al protone ($^1\text{H-NMR}$). La spettroscopia NMR fornisce informazioni sull'origine della sostanza organica e costituisce un approccio complementare a quello dell'AMS. Rispetto a quest'ultimo, l'analisi NMR garantisce maggior dettaglio nella discriminazione del contributo delle emissioni da combustione del legno e delle componenti biogeniche e antropogeniche dell'aerosol secondario. Il campionamento su filtro per l'analisi NMR avrà durata di circa 12 ore, e consentirà di rilevare le principali differenze tra la composizione del particolato tra ore diurne e notturne dovute alle variazioni nell'attività fotochimica e nelle condizioni di stabilità atmosferica.

Attività n. 8: Misure Lidar a polarizzazione

Osservazioni da microlidar a polarizzazione operante a 532 nm saranno effettuate in modo continuativo (almeno un profilo ogni 30') nel corso degli IOP a S. Pietro Capofiume. I profili di estinzione dell'aerosol ricavati da queste osservazioni (fino a circa 12 km) forniranno indicazioni complementari a quelle del Lidar/Ceilometer (operante h/24 nella LP2), in particolare:

- 1) evidenzieranno la non-sfericità (fase solido/liquido) dell'aerosol con la quota (permettendo tra l'altro un'identificazione più accurata di eventuali trasporti sahariani);
- 2) rileveranno la presenza e la fase di cirri;
- 3) permetteranno un confronto con le quote dell'altezza di mescolamento ottenute dal Lidar/Ceilometer.

La linea progettuale 3 svolge le proprie attività dal 2010 al 2015, in particolare:

- 2010: acquisto dei necessari investimenti attraverso le opportune procedure di gara, messa a punto delle metodiche e organizzazione delle attività degli anni seguenti.
- 2011: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2012: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2013: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2014: campionamento e analisi chimico-fisiche/elaborazione ed analisi dati
- 2015: elaborazione ed analisi dei dati

Linea progettuale 4 - Tossicologia predittiva

Gli obiettivi specifici della linea progettuale 4 sono:

- Determinazioni di tipo tossicologico/ecotossicologico per valutare le tipologie di aerosol contenenti sostanze, elementi, composti o miscele di composti che hanno effetti sulla salute
 1. Valutazione comparata della genotossicità dell'aerosol urbano: PM2,5, PM1 e fase gassosa;
 2. Valutazione della qualità dell'aria mediante test di cancerogenesi in vitro;
 3. Biomarcatori di rischio e di effetto;
 4. Determinazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti.

- Valutazione e stima del rischio (risk assessment) attraverso le elaborazioni dei parametri chimici e tossicologici osservati e dalla comparazione con le analisi epidemiologiche di eventi a breve e a lungo termine
 5. Valutazione del rischio cancerogeno

Negli anni successivi alla stesura e l'approvazione del progetto Supersito, il campo della tossicologia predittiva, e in particolare l'applicazione dei metodi alternativi in tossicologia, ha subito una intensa evoluzione.

Sulla spinta delle necessità portate dalle normative europee sui composti chimici (REACH) e sui cosmetici (7th Amendment), che stimolano o addirittura impongono la valutazione tossicologica senza il ricorso alla sperimentazione nell'animale, la ricerca scientifica nel campo dei test alternativi in tossicologia ha compiuto sforzi rilevanti per la messa a punto e la validazione di test predittivi anche per endpoint complessi, quali la cancerogenesi, la tossicità acuta e cronica e l'attività di interferenza endocrina.

Di conseguenza, pur mantenendo costanti gli obiettivi finali e lo scopo del presente studio, si ritiene opportuno adeguare alle più recenti conoscenze le metodologie e il piano di lavoro proposto in precedenza, in particolare per quanto concerne le attività 2 e 3.

I risultati attesi sono:

1. Valutazione comparata della genotossicità dell'aerosol urbano: PM2.5, PM1 e fase gassosa
2. Valutazione della qualità dell'aria mediante test di cancerogenesi in vitro
3. Biomarcatori di rischio e di effetto
4. Determinazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti
5. Valutazione del rischio cancerogeno

Attività della LP4 e loro descrizione

Il campionamento verrà effettuato nell'ambito della LP3 nella zona urbana di Bologna utilizzando 2 campionatori che funzioneranno in parallelo per PM1 e PM2.5. Entrambe le frazioni subiranno doppia estrazione: acetone, per valutare la componente organica e acqua, per valutare la componente inorganica, considerata in letteratura responsabile del danno ossidativo in cellule eucariotiche. Verranno anche campionate le sostanze in fase gassosa con spugne di poliuretano (PUF), trattate con estrazione organica. I puf verranno posti in uno dei 2 campionatori (dopo il filtro per il PM). Le spugne di poliuretano (polyurethane foam - PUF) vengono di norma utilizzate per la determinazione di IPA, dibenzo-diossine e dibenzofurani così come di PCP/lindane.

Su un'aliquota degli stessi estratti organici da sottoporre ai test di mutagenesi e di cancerogenesi verrà effettuata anche la determinazione di IPA e derivati (NitroIPA, OssilIPA e DinitroIPA) e su un'aliquota degli estratti acquosi la determinazione dei metalli. Per ottenere una quantità di materiale sufficiente per l'esecuzione dei test di mutagenesi e di cancerogenesi e per le determinazioni chimiche (almeno 3000 m³) e a causa della stagionalità delle sostanze aerodisperse che andremo a determinare con i test proposti, i campionamenti verranno effettuati tramite campionatori ad alto volume, per un periodo di circa venti giorni nel primo anno, nei seguenti mesi:

- gennaio o febbraio come mese rappresentativo dell'inverno;
- luglio come mese rappresentativo dell'estate;
- novembre come mese rappresentativo dell'autunno.

Attività n. 1: Valutazione comparata della genotossicità dell'aerosol urbano: PM2.5, PM1 e fase gassosa

La presenza di sostanze genotossiche e quindi potenzialmente cancerogene, nel particolato atmosferico urbano nelle frazioni 2.5 e 1 e nella componente volatile, verrà caratterizzata mediante test con endpoints genetici differenti per valutare la presenza di sostanze in grado di provocare danni al materiale genetico con diversi meccanismi d'azione. L'informazione che questi test forniscono è molto importante in quanto segnalano un possibile rischio, derivante dall'esposizione alle sostanze che agiscono sul DNA, sia per l'uomo che per l'ambiente.

Elementi di novità, rispetto a quanto finora effettuato nell'ambito dell'attività della Rete Regionale di monitoraggio della mutagenicità del PM urbano dell'Emilia-Romagna (gestita da Arpa), saranno la determinazione della genotossicità della componente volatile, del PM₁, della componente inorganica di PM₁ e PM_{2,5} e l'applicazione di un nuovo test di reversione batterica, evoluzione di quello finora utilizzato, per un futuro utilizzo nel monitoraggio della genotossicità del PM urbano.

I test che verranno effettuati sono complementari fra loro e il loro utilizzo ricalca quanto descritto nelle linee guida internazionali per valutare la genotossicità delle sostanze farmaceutiche (ICH - International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use) che prevedono l'utilizzo di una batteria di test *in vitro* (e *in vivo*) composta da test di reversione batterica e da sistemi che prevedono la rilevazione del danno cromosomico, fissato o ancora da fissare, in cellule di mammifero.

Infatti su tutti i campioni, estratti con solvente organico, verrà utilizzato il **test di reversione** batterica su ceppi di **Salmonella**. Il test su Salmonella, validato ed ampiamente utilizzato sia nella valutazione di sostanze singole che in campo ambientale per le miscele complesse, identifica mutazioni puntiformi del DNA con un riscontro di positivi/negativi che correla fra il 60 e l'80% con le sostanze ritenute cancerogene nell'uomo.

Al test su Salmonella "classico" verrà affiancata la sua evoluzione, definita **Ames II** che ha il grande vantaggio di richiedere una quantità minore di tempo, di reagenti e di campione.

Per un'ulteriore valutazione del danno verrà effettuato, su tutte le componenti campionate, il **test della Cometa**, test rapido e ampiamente utilizzato nel monitoraggio ambientale, in grado di rilevare rotture alla singola o doppia elica del DNA non ancora fissate e che possono essere, quindi, ancora riparate. Inoltre verrà valutata anche la componente del danno dovuta all'ossidazione delle basi del DNA, ovvero il danno ossidativo, che, da letteratura, sembra principalmente coinvolto nell'induzione del danno da PM sulle cellule umane ed è rilevante nella genesi di malattie degenerative.

Infine è stato previsto l'utilizzo del **test dei Micronuclei** che mette in evidenza sostanze che inducono la rottura (sostanze clastogene) e/o la perdita (sostanze aneugeniche) di cromosomi, portando alla formazione nel citoplasma di piccoli nuclei, detti micronuclei. Questo è un danno fissato e l'aumento della frequenza di micronuclei è ritenuto un

marcatore biologico precoce per il rischio di cancro. Questo test è stato previsto solo sugli estratti del PM₁ e PM_{2,5} (componente organica ed inorganica) nella stagione invernale e sulla componente volatile estiva, in quanto dalla nostra esperienza diretta abbiamo riscontrato la presenza di sostanze clastogene/aneugeniche negli estratti organici di PM invernali e l'utilizzo dei PUF ci permette di valutare se l'assenza di genotossicità estiva del PM possa essere dovuta al concentrarsi delle suddette sostanze nella fase gassosa.

Nel 2010 sono previste prove finalizzate alla messa a punto delle seguenti attività:

- esecuzione del test Ames II;
- trattamento delle spugne in poliuretano utilizzate per il campionamento della componente volatile;
- trattamento con acqua di filtri di PM per la valutazione della componente inorganica.

Attività n. 2: Valutazione della qualità dell'aria mediante test di cancerogenesi in vitro

Per il monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria, il modello sperimentale che verrà utilizzato, rappresentato dal **test di trasformazione in vitro in cellule BALB/c 3T3**, è già stato utilizzato con risultati promettenti in precedenti progetti. Tale protocollo verrà implementato alla luce sia dei risultati dello studio di prevalidazione coordinato da ECVAM, che sono stati presentati alla comunità scientifica negli ultimi 2 anni (Corvi, 2012), che dell'attività del panel OECD di esperti internazionali che sta lavorando alla stesura delle Testing Guidelines per il test di trasformazione in vitro.

Uno dei principali risultati delle attività coordinate da ECVAM e OECD è stata la messa a punto e la validazione di un protocollo ripetibile e trasferibile, che costituirà la base della Testing Guideline OECD. Il protocollo sperimentale per le cellule BALB/c 3T3 A31-1-1 (protocollo ECVAM) è stato utilizzato da ECVAM nel corso della pre-validazione con una serie di composti chimici (tra cui alcuni idrocarburi policiclici aromatici, IPA). Non è stata eseguita una validazione formale per la sua applicabilità a miscele o formulazioni e alla valutazione di miscele complesse di origine ambientale, quali gli estratti di PM.

Il protocollo impiegato storicamente nel nostro laboratorio (*in house*) differisce dal protocollo ECVAM per alcuni aspetti significativi, tra i quali il numero delle cellule bersaglio e il tempo di esposizione al trattamento.

Il protocollo ECVAM è già attualmente disponibile nel Laboratorio di Tossicologia Sperimentale ed è già stato condotto un *proficiency test* con un composto chimico scelto tra quelli valutati nella pre-validazione, il benzo(a)pirene (B(a)P), che costituisce anche il composto di riferimento per gli IPA presenti nella matrice aria.

I 2 protocolli di trasformazione cellulare saranno valutati in parallelo per la *performance* su alcuni estratti di PM rappresentativi (ad esempio estratto organico di PM_{2,5}, per cui esistono già dati disponibili), proponendo nel contempo degli adattamenti che consentano di lavorare con le "piccole" quantità disponibili tipicamente per i campioni di origine ambientale.

Successivamente la sperimentazione verrà condotta con il protocollo ritenuto più idoneo allo scopo del progetto, sulle seguenti tipologie di campione:

- estratti organici di PM 2.5 e PM 1
- estratti acquosi di PM 2.5 e PM 1

Vista la notevole richiesta di campione per l'esecuzione di questa attività, il test di trasformazione non verrà eseguito sugli estratti relativi a tutte le campagne di prelievo eseguite nel *Main Site*, ma verranno selezionati campioni prelevati in stagioni diverse per comprendere nella valutazione della attività citotossica e trasformante eventuali differenze stagionali.

A supporto dell'interpretazione dei dati ottenuti con gli estratti di PM, sarà valutata nel test di trasformazione cellulare anche l'attività di composti che sono presenti nell'estratto di PM in quantità determinabili, comprendendo nell'intervallo di concentrazioni saggiate anche concentrazioni comparabili a quelle effettivamente misurate.

E' stato previsto inoltre l'utilizzo di un test quantitativo, rapido e riproducibile di citotossicità denominato Neutral Red Uptake in cellule 3T3 (NRU) per poi valutarne l'applicabilità al monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria. Il test NRU mostra una buona correlazione *in vivo/in vitro* e una buona riproducibilità tra laboratori.

Il saggio NRU si basa sull'abilità delle cellule vitali di incorporare e legare il Neutral Red (3-amino-7-dimethyl-amino-2-methylphenazine hydrochloride), che diffonde rapidamente attraverso la membrana plasmatica e si concentra nei lisosomi dove si lega elettrostaticamente alla matrice lisosomiale. La morte cellulare e/o l'inibizione della crescita diminuiscono l'ammontare del colorante trattenuto dalla coltura. Dal momento che la concentrazione del Neutral Red estratto dalle cellule è direttamente proporzionale al numero di cellule vitali, la citotossicità è espressa come una riduzione, concentrazione-dipendente, dell'uptake del Neutral Red in seguito all'esposizione a sostanze chimiche.

Per sviluppare e mettere a punto il metodo interno per la valutazione della tossicità acuta *in vitro* su cellule BALB/c 3T3 A31, ci si è basati sulla GD No. 129 "Guidance document on using cytotoxicity tests to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests" pubblicata nel 2009 dall'OECD. Il protocollo operativo per la metodica Neutral Red Uptake in cellule 3T3 è stato messo a punto presso il Laboratorio di Tossicologia Sperimentale e testato con composti chimici di riferimento.

Le prove per la valutazione dell'applicabilità del protocollo al monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria, in programma a breve, guideranno il futuro sviluppo di questa attività.

In riferimento all'acquisizione di un protocollo di trasformazione *in vitro* su cellule bersaglio umane, sebbene i test di trasformazione cellulare che utilizzano cellule di roditore abbiano dato un contributo determinante allo screening di cancerogenesi *in vitro*, lo sviluppo di modelli basati su linee cellulari umane potrebbe portare ad un ulteriore incremento della predittività del test di trasformazione rispetto alla cancerogenesi nell'uomo. Per lo studio del potenziale cancerogeno di agenti ambientali e occupazionali si era previsto di sviluppare un **modello in vitro di cellule umane rappresentative dell'organo bersaglio**.

A differenza di quanto avvenuto negli ultimi anni per il test di trasformazione su cellule murine, nel campo del test di trasformazione con cellule umane non sono stati registrati significativi progressi verso un protocollo condiviso e/o validato. Restano ancora aperte diverse problematiche cruciali, quali la linea bersaglio e l'endpoint finale da valutare (ad esempio trasformazione morfologica o crescita ancoraggio-indipendente).

Per queste motivazioni, nonostante il valore aggiunto che la messa a punto di un protocollo di trasformazione con cellule umane potrebbe portare in termini di predittività per lo studio del potenziale cancerogeno di agenti ambientali e occupazionali, si ritiene più funzionale alle esigenze del progetto **sospendere questa attività** e dirottare le risorse stanziate all'implementazione dell'attività di monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria.

Si è invece ritenuta importante la valutazione dell'attività di interferenza endocrina di estratti di PM 2.5 e PM1. L'inalazione di composti con attività di interferenza endocrina potrebbe rappresentare una importante via di esposizione e dovrebbe essere presa in considerazione nel risk assessment per l'uomo. Nella valutazione della capacità di **interferenza endocrina** di campioni ambientali, ci si trova di fronte a miscele in cui molti degli interferenti endocrini presenti non sono identificati e risulta praticamente impossibile analizzare tutti i singoli costituenti. Inoltre composti che contribuiscono alla potenza della miscela in termini di interferenza endocrina possono essere presenti a livelli tanto bassi da non essere rilevati o da non causare effetti misurabili se considerati singolarmente. Nel corso degli ultimi anni anche nel campo dei test *in vitro* per lo *screening* di interferenti

endocrini sono stati messi a punto e validati diversi test, alcuni dei quali vedono già una linea guida OECD approvata o in discussione come *draft* (test OECD 455 Estrogen Receptor (ER)-alpha Transcriptional Activation Assay for Estrogenic Agonist-Activity per l'attività agonista sul recettore estrogenico o il saggio BG1Luc ER TA Test Method). Questi test permettono di valutare l'effetto complessivo del campione misurando marcatori che rispondono in modo specifico e di dare una risposta integrata relativa agli effetti della sommatoria dei contaminanti ambientali nelle miscele complesse.

Il reporter gene assay DS-CALUX® per diossine e composti dioxin-like, che era stato inizialmente proposto nell'ambito del progetto per la valutazione della capacità di interferenza endocrina di campioni ambientali che interagiscono con il recettore arilico, non è stato oggetto di ulteriore evoluzione e non è riportato nella batteria dei test consigliati per lo screening (OECD; GD 150, 2012).

Recentemente, inoltre, è stato pubblicato da OECD il DRP 178 «Detailed Review Paper on the State of the Science on novel in vitro and in vivo screening methods and endpoints for evaluating endocrine disruptors» nel quale viene sottolineata la necessità di affiancare, ai test in vitro validati o in corso di validazione per lo screening di *endpoint* definiti, la valutazione meccanicistica dell'attività di interferenza endocrina sui diversi *pathway* biologici tramite analisi di trascrittomiche su linee cellulari bersaglio.

Si propone quindi di **valutare l'attività di interferenza endocrina di estratti di PM nell'ambito di studi di trascrittomiche su linee bersaglio (come ad esempio la linea cellulare T47D)** ed eventualmente mediante il supporto di test di screening e di tecniche di RT-PCR per la valutazione della modulazione di geni specifici (quali ad esempio CYP1A1), la cui espressione viene indotta dall'esposizione a contaminanti ambientali.

Attività 3: Biomarcatori di rischio e di effetto

Il sequenziamento del genoma umano ha fornito nuove opportunità, nuove tecnologie e nuovi strumenti per studiare l'impatto ambientale su organismi viventi e processi vitali.

La genomica funzionale basata su tecnologia microarray è uno dei approcci più innovativi per l'identificazione di specifici biomarcatori utilizzati come strumento per comprendere il meccanismo d'azione delle molecole saggiate e per prevedere gli effetti tossici dei composti in esame. Le nuove tecnologie "omiche", con particolare riferimento alla trascrittomiche, possono essere utilizzate per l'identificazione di profili tossicologici e di **biomarcatori precoci di rischio e di effetto** per la caratterizzazione su base genomica delle miscele complesse presenti nell'aerosol.

Verrà effettuata l'analisi mediante tecnica **microarray** delle modulazioni dei profili trascrizionali, allo scopo di definire i profili di espressione genica delle cellule bersaglio esposte agli estratti del PM. Il disegno sperimentale e i metodi di analisi saranno scelti per tener conto di tutte le potenziali fonti di variabilità tecniche e biologiche, che potrebbero influenzare un esperimento di microarray. In seguito, sarà effettuata una accurata e vasta analisi biostatistica dei risultati ottenuti dai microarray, al fine di individuare geni e pathway legati agli effetti indotti dai diversi campioni.

Come prima linea bersaglio è stata individuata la linea di origine polmonare A549, utilizzata anche per altre attività nell'ambito della Linea Progettuale 4 (messa a punto del metodo di ibridazione genomica comparativa e Comet assay). Dopo alcune prove preliminari finalizzate a stabilire le dosi di lavoro e i tempi di esposizione, sono state condotte le prove con gli estratti sia organici che acquosi di PM2.5 e PM1 raccolto nel corso della prima campagna (autunno-inverno 2011).

Alla luce dei risultati ottenuti nel progetto Monitor e delle indicazioni degli organismi internazionali, si intende **implementare l'attività di trascrittomiche, prendendo in considerazione altre due linee bersaglio**: 1) linea T47D, come rappresentativa della mammella, per valutare la possibile risposta a interferenti endocrini; 2) linea BALB/c 3T3 A 31-1-1, per delucidare i pathway sottesi alla tossicità e alla trasformazione morfologica e per ancorare tali effetti a modulazioni trascrizionali. Approfondire gli effetti di PM

sul'espressione genica in cellule T47D, in particolare, può consentire di confermare la significatività e approfondire il significato biologico di quanto già osservato nel progetto Monitor, ad esempio nel contesto del *pathway* "female pregnancy".

L'attività di trascrittomica verrà condotta su estratti provenienti da campagne con alti livelli di PM (ad esempio invernali).

Il metodo di **ibridazione genomica comparativa (CGH)** è un approccio "omico" che consente di valutare i danni citogenetici, permettendo una migliore comparazione con i risultati di mutagenesi. La tecnica consente di individuare le alterazioni cromosomiche che includono la perdita o la duplicazione di regioni del DNA cromosomico di diversa entità, da cromosomi interi a regioni cromosomiche specifiche, oltre a traslocazioni non bilanciate. In tal modo si raggiunge una copertura genomica totale su sequenze codificanti e non codificanti con particolare enfasi sui geni correlati al cancro, microRNA, promotori e regioni sub-telomeriche.

L'attività finora svolta ha condotto all'acquisizione del protocollo sperimentale in accordo con gli standard di performance stabiliti dal produttore. Le prove eseguite con reference chemicals (controlli positivi usati nei saggi di citogenetica classica) hanno dimostrato che tale tecnica, che pure presenta notevoli potenzialità e che è già ampiamente sperimentata in diagnostica, non risulta particolarmente informativa nel campo di applicazione da noi scelto.

Il trattamento di linee cellulari con agenti genotossici induce infatti mutazioni rilevabili in una frazione molto piccola della popolazione totale, quindi difficilmente evidenziabili con la CGH. Solo con il prolungamento dell'esposizione a genotossici si potrebbe raggiungere lo scopo di arricchire per selezione clonale la popolazione che porta mutazioni riscontrabili.

Si propone di **non proseguire** ulteriormente con questa attività alla valutazione dei campioni di particolato, concentrando le risorse umane e finanziarie su sperimentazioni più informative nel contesto del monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria.

Si analizzerà invece il danno al DN tramite analisi di tipo double strand breaks (DSB). L'**istone H2A.X** è una proteina istonica che viene fosforilata in conseguenza di danni tipo rotture a doppia elica (DSB). Costituisce un marcatore di danno molto interessante nell'ambito di un monitoraggio per l'esposizione umana a contaminanti ambientali.

In questo contesto è nostro interesse acquisire un metodo per lo studio di questo sensore di danno da effettuarsi in ELISA.

Infine, l'integrazione delle informazioni derivanti da approcci "omici" diversi può fornire in questo contesto un contributo di rilievo.

MetaCore™ è un software di analisi dei dati in grado di integrare i dati sperimentali provenienti da approcci "omici" diversi tra cui trascrittomica e CGH array, fornendo una analisi completa dei pathway coinvolti nella risposta alle molecole in esame. MetaCore™ si basa su un database proprietario di interazioni proteina-proteina, proteina-DNA, proteina-composto ed RNA-composto, che consente un'interpretazione più completa rispetto ai tool che organizzano le liste geniche nel contesto di Gene Ontology.

I software GeneSpring GX e Genomic Workbench per l'analisi dei dati provenienti rispettivamente da esperimenti di gene expression e di CGH sono già stati acquisiti e testati analizzando dati disponibili. Lo stesso è stato eseguito con il software MetaCore™ che, identificando perturbazioni in pathway e processi correlati a effetti avversi in dataset derivanti da diversi esperimenti "omici", può fornire una analisi completa dei pathway coinvolti nella risposta alle molecole in esame, mediante l'integrazione di dati sperimentali provenienti da approcci "omici" diversi.

MetaDrug™ è invece una piattaforma che permette di sviluppare un approccio in silico per la analisi di pathway basata sulla struttura chimica del composto in esame. Anche in questo caso il software lavora nel contesto di un database curato manualmente sull'effetto degli xenobiotici. Non si ritiene che, per i livelli attuali di conoscenza, il software MetaDrug™, piattaforma che permette di sviluppare un approccio in silico per la analisi di

pathway basata sulla struttura chimica del composto in esame, possa fornire informazioni utilizzabili nel contesto del monitoraggio tossicologico della qualità dell'aria.

Attività n. 4: Determinazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti

Il test di tossicità con *Vibrio fischerii* è un test di screening rapido per l'individuazione e la misura degli effetti tossici presentati dalle diverse matrici analizzate. L'applicazione del test agli estratti di particolato atmosferico può permettere di valutarne la tossicità: considerando le classi di molecole che vengono adsorbite dal particolato, quali ad esempio IPA, PCB, e metalli pesanti, è ipotizzabile una buona risposta del test.

Dopo una serie di prove preliminari per la standardizzazione del metodo, verrà effettuata la determinazione della tossicità acuta su *Vibrio fischerii* dei medesimi estratti di PM utilizzati per i test di mutagenesi e cancerogenesi. Sarà utile inoltre effettuare dei test paralleli sul particolato intero ottenuto da standard o da stazioni di monitoraggio appartenenti alla rete della Mutagenesi per ottenere ulteriori informazioni sull'applicabilità del metodo.

Attività n. 5: Valutazione del rischio cancerogeno

La valutazione e stima del rischio cancerogeno si baserà sull'applicazione delle principali modellistiche oggi disponibili alle elaborazioni dei parametri chimici osservati, in comparazione con i dati derivanti dai modelli *in vitro* e con le analisi epidemiologiche di eventi a breve latenza e di eventi temporali più lunghi relativi alla mortalità per cancro nell'area di indagine.

Tali valutazioni riguarderanno l'impiego di metodi a soglia e probabilistici a seconda delle patologie/effetti tossici considerati e saranno eseguiti nell'arco di tempo relativo alla ricerca prevista dal progetto. Questo in relazione agli effetti attesi in base alla misurazione quantitativa di determinate classi di inquinanti. Attenzione verrà pure data alle previsioni di effetti su tossicità sullo sviluppo ad esempio riferibili all'esposizione alle diossine a significato tossicologico. Elemento di interesse è la comparazione delle stime di rischio derivate dall'applicazione delle principali modellistiche oggi disponibili, da un lato con i risultati degli studi effettuati *in vitro* sul modello convalidato di trasformazione cellulare su BALB/c 3T3 e dall'altro con le analisi epidemiologiche di eventi a breve latenza e di eventi temporali più lunghi relativi alla mortalità per cancro nell'area di indagine. Nelle valutazioni e stime saranno considerate le evoluzioni più recenti degli approcci al risk assessment: modo di azione, meccanismi, margine di esposizione, ecc.

La linea progettuale 4 svolge le proprie attività dal 2010 al 2016, in particolare:

- 2010: acquisto dei necessari investimenti attraverso le opportune procedure di gara, messa a punto delle metodiche e organizzazione delle attività degli anni seguenti.
- 2011: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno.
- 2012: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno.
- 2013: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno.
- 2014: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno.
- 2015: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno.
- 2016: analisi tossicologiche/ecotossicologiche e valutazione del rischio cancerogeno; rendicontazione finale delle attività.

Linea Progettuale 5 - Campagne di misure intensive in ambienti indoor

Obiettivi specifici

Considerata l'ampiezza e l'importanza della problematica della valutazione dei fattori di rischio per la salute presenti in ambiente indoor, si ritiene importante evidenziare i limiti all'interno dei quali si intende fissare gli obiettivi della LP.

La prospettiva delle attività proposte è quella di una caratterizzazione dell'esposizione della popolazione in ambiente indoor agli inquinanti tipici dell'ambiente outdoor e non quindi di una indagine sui fattori di rischio tipici dell'ambiente indoor. L'attenzione prioritaria, coerentemente con gli obiettivi generali del progetto, sarà dedicata al particolato e alla sua composizione chimica. Non saranno oggetto di indagini specifiche quei fattori che influenzano i livelli di inquinamento indoor quali la ventilazione naturale, l'efficienza di penetrazione, la velocità di deposizione delle particelle. Lo studio di questi aspetti richiederebbe infatti un impegno prolungato e specifico che si ritiene vada oltre gli scopi della presente proposta. Una adeguata attenzione verrà dedicata solo all'efficacia del sistema di ventilazione forzata utilizzato in ogni sito indoor per regolare il tasso di ricambio dell'aria.

Le attività sperimentali saranno quindi incentrate sulla raccolta di dati di concentrazione di PM2.5, di numero di particelle e di composizione chimica del particolato nell'ottica di un loro utilizzo in chiave interpretativa rispetto a due importanti questioni aperte in ambito epidemiologico:

- il rischio sanitario connesso con la residenza in prossimità di strade trafficate;
- la differenza del rischio sanitario associato alle esposizioni al particolato nel periodo estivo e in quello invernale.

Per quanto riguarda il primo aspetto, si propone di indirizzare l'indagine sulla valutazione delle differenze di esposizione all'interno dell'ambito urbano evidenziando la variabilità spaziale del particolato. L'obiettivo è quindi approfondire le seguenti questioni:

- le differenze di esposizione tra chi risiede in zone trafficate e chi risiede in zone residenziali
- le differenze di esposizione tra chi risiede nello stesso edificio sul fronte strada e chi sul retro
- le differenze di esposizione tra chi risiede ai diversi piani dello stesso edificio

Gli ambienti indoor verranno selezionati seguendo il criterio della massima comparabilità delle caratteristiche (analoga volumetria, analoghi materiali da costruzione, analogo collocazione in altezza rispetto al piano strada etc). Questo criterio ha come obiettivo il ridurre al minimo l'influenza delle caratteristiche specifiche dell'ambiente indoor considerato per poter focalizzare l'indagine sull'impatto della prossimità alle emissioni dirette da traffico.

Per quanto riguarda il secondo aspetto, l'analisi si concentrerà sulla variabilità stagionale del rapporto outdoor/indoor rispetto alla concentrazione numerica, alla distribuzione dimensionale e alla composizione chimica del particolato.

Risultati attesi

I principali risultati attesi nell'ambito della LP5 sono:

- Stima dei rapporti di concentrazione outdoor/indoor per le concentrazioni di particolato fine PM2.5 in diverse condizioni ambientali di inquinamento da traffico;
- Stima dei rapporti outdoor/indoor della concentrazione numerica delle particelle in diverse condizioni ambientali di inquinamento da traffico;

- Stima dei rapporti di concentrazione outdoor/indoor per le concentrazioni di alcuni inquinanti in fase gas in diverse condizioni ambientali di inquinamento da traffico;
- Stima delle differenze nella distribuzione dimensionale tra ambiente indoor e outdoor in diverse condizioni di inquinamento da traffico;
- Analisi della composizione chimica del PM2.5 indoor e outdoor in diverse condizioni di inquinamento da traffico;
- Analisi della variabilità stagionale delle stime sopra riportate.

Attività della LP5 e loro descrizione

Attività n. 1: Scelta e predisposizione siti di campionamento

Obiettivo dell'attività n.1 è la scelta dei siti di campionamento, la predisposizione delle attività di misura nei siti prescelti e alcune verifiche di precisione e accuratezza sugli strumenti stessi.

I siti indoor e verranno selezionati in base a criteri di opportunità e fattibilità tra abitazioni e uffici, avendo sempre due criteri guida:

1. che i siti siano il più possibile assimilabili ad ambienti abitativi tipici
2. che sia ridotta al minimo l'influenza delle caratteristiche specifiche e delle emissioni proprie dell'ambiente indoor considerato. Scopo prioritario è infatti concentrarsi sulle differenze relative tra i diversi siti rispetto alla idealmente unica caratteristica distintiva e cioè la diversa esposizione alle emissioni dirette da traffico.

Nel caso della scelta di uffici, che presentano maggiori garanzie rispetto all'assenza di sorgenti interne e alla minimizzazione del disagio provocato dalle attività di misura, si avrà una speciale cura nel controllo dei sistemi di ventilazione e di ricambio d'aria nella prospettiva della miglior comparabilità con una abitazione tipica.

Attività n. 2: Campionamento

Il campionamento verrà effettuato in aree diversamente esposte alle emissioni dirette da traffico. Si valuterà al termine di ogni anno di misure l'opportunità e la fattibilità di una modifica dei siti di campionamento.

Il campionamento sarà strutturato per il primo anno in 3 campagne di circa 15 giorni ognuna distribuite uniformemente nelle diverse stagioni. Dopo il primo anno di attività di osservazioni intensive il piano di campionamento e di conseguenza il piano delle attività della LP5 potranno subire delle rimodulazioni sulla base delle osservazioni effettuate e dei risultati conseguiti. Le attività di misura si protrarranno per 3 anni.

Nei diversi siti verranno effettuate durante le campagne di misura, misure indoor e outdoor relative alla concentrazione in massa di PM2.5 (dato giornaliero) e al numero di particelle.

La caratterizzazione chimica del particolato PM2.5, in stretta analogia con le analisi previste per il monitoraggio routinario nel main site e compatibilmente con le risorse disponibili, sarà effettuata rispetto alle seguenti famiglie chimiche:

- Ioni: NH_4^+ , NO_3^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , Verranno forniti anche i dati di Br^- , Mg^{2+} e Na^+ , anche se per queste specie, i valori rilevati nel primo periodo di progetto, si sono dimostrati frequentemente inferiori ai limiti di rivelabilità della tecnica di misura utilizzata
- Carbonio organico ed elementare
- Metalli (Ni, V, As, Cr, Zn, Fe, Mn), Verranno inoltre forniti i dati relativi ai seguenti metalli, non presenti nella prima fase di progetto: Cd, Pb, Sn, Sb, La.

Le misure, a causa della disponibilità di un solo filtro per ogni giorno in ogni sito, verranno effettuate a giorni alterni per ognuno dei 3 gruppi di componenti chimiche.

Per ogni campagna di misure verrà selezionato uno dei siti di misura per l'analisi della distribuzione dimensionale del particolato.

Saranno infine effettuate misure di alcuni inquinanti gassosi di particolare rilevanza rispetto all'esposizione diretta alle emissioni da traffico, tramite campionatori passivi. I dati raccolti avranno una scansione temporale variabile a seconda dell'inquinante da 1 giorno a una settimana. Per la misura degli inquinanti gassosi e dei tassi di ricambio dell'aria ci si avvarrà della collaborazione dell'Università dell'Insubria – Dipartimento di Scienza ed Alta Tecnologia.

Attività n. 3: Elaborazione dati

Obiettivo dell'attività n.3 sarà l'elaborazione dei dati raccolti rispetto alla stima delle relazioni esistenti tra le grandezze oggetto delle attività di misura nelle diverse tipologie di siti e stagioni. Verranno effettuate analisi preliminari al termine delle attività di misura di ogni anno per verificare eventuali problematiche di tipo sperimentale e per verificare l'opportunità di modifiche nella scelta dei siti di misura. Verrà infine realizzato un report con la presentazione dettagliata dei risultati delle stime elencate nella sezione "Risultati attesi".

La linea progettuale 5 svolge le proprie attività dal 2010 al 2016, in particolare:

- 2010-2011: acquisto dei necessari investimenti attraverso le opportune procedure di gara, messa a punto delle metodiche e organizzazione delle attività degli anni seguenti.
- 2012: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2013: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2014: campionamento e analisi chimico-fisiche.
- 2015-2016: analisi e presentazione dati.

Linea progettuale 6 - Analisi epidemiologiche sugli effetti a breve e a lungo termine

Obiettivi specifici

L'analisi preliminare della letteratura porta a differenziare le priorità e gli obiettivi a seconda che si studino gli effetti a breve o a lungo termine.

Emerge la necessità di approfondire meglio la caratterizzazione dell'esposizione, sia per quanto riguarda la forma chimica con cui i componenti, e soprattutto i metalli, sono presenti nelle particelle sia rispetto alla misura dell'esposizione. Si discute oggi quale sia la modalità migliore per studiare l'effetto sanitario dei componenti del particolato, se attraverso il rapporto componenti/massa totale delle particelle o la concentrazione dei singoli componenti.

Il limite più importante evidenziato concordemente negli studi epidemiologici riguarda le modalità del monitoraggio dei componenti del PM_{2.5} che viene effettuato nell'esperienza americana con schemi non continui (ogni 3 o 6 giorni). Emerge quindi la necessità di disporre di misure giornaliere continue dei componenti del particolato e di definire le esposizioni dopo una attenta valutazione delle correlazioni tra i singoli elementi e i loro composti all'interno delle particelle.

Per gli effetti a lungo termine, vi è la necessità di studi sulla mortalità e sulle patologie cardiovascolari e respiratorie. In particolare è importante approfondire quali inquinanti (e quali composti) siano associati alla mortalità causa-specifica o all'insorgenza di malattie e quali gruppi di popolazione siano più suscettibili.

E' importante eseguire nuovi studi sull'inquinamento e gli esiti della gravidanza, ed è cruciale identificare i periodi della gravidanza di più alta vulnerabilità e comprendere il ruolo dei diversi inquinanti.

Gli obiettivi specifici della LP6 si possono quindi così riassumere:

1) Effetti a breve termine:

- Valutazione degli effetti sanitari a breve termine del particolato e delle sue componenti (mortalità e morbosità);
- Valutazione dell'esposizione della popolazione residente nelle macroaree in studio attraverso i dati forniti dal main site e satellite sites, unitamente e misure di routine dalla rete delle stazioni fisse di monitoraggio del fondo urbano;
- Valutazione degli effetti sanitari in sottopopolazioni in condizioni di suscettibilità agli inquinanti;
- Verifica della modalità migliore per studiare l'effetto sanitario dei componenti del particolato (rapporto componenti/massa totale delle particelle vs concentrazione dei singoli componenti).

2) Effetti a lungo termine

- Valutazione dell'esposizione della popolazione residente nelle macroaree in studio attraverso diversi approcci geografici;
- Valutazione dell'associazione tra effetti sanitari ed esposizione a lungo termine al particolato e alle sue componenti

- Valutazione delle associazioni fra composti di inquinanti e mortalità e morbosità causa-specifica in sottopopolazioni in condizioni di suscettibilità agli inquinanti
- Valutazione degli esiti in gravidanza in rapporto all'esposizione agli inquinanti considerati.

Risultati attesi

I risultati attesi sono:

- Arruolamento di 3 coorti residenziali: urbana, costiera, rurale.
- Caratterizzazione dell'esposizione della popolazione nelle aree in studio compresa la valutazione sulla modalità migliore di utilizzo del dato ambientale;
- Analisi della mortalità per tutte le cause e causa-specifica, a breve e lungo termine;
- Analisi della morbosità a breve e lungo termine, per cause cardiovascolare e respiratoria, in adulti e bambini;
- Analisi degli esiti della gravidanza.

Attività della LP6 e loro descrizione

Attività n. 1: Valutazione della letteratura e definizione dei protocolli di indagine

L'attività prevede il completamento della valutazione della letteratura, al fine di:

- Valutare lo stato dell'arte relativo alle indagini epidemiologiche sugli effetti a breve e lungo termine dell'inquinamento, con particolare attenzione alle polveri, le sue componenti e frazioni granulometriche, e a quali inquinanti (e quali composti) siano associati alla mortalità causa-specifica o all'insorgenza di malattie e quali gruppi di popolazione siano più suscettibili;
- Identificare le priorità di ricerca;
- Redigere il protocollo di indagine definitivo.

Attività n. 2: Raccolta dati ambientali e sanitari

Sono state identificate 3 macroaree per le indagini epidemiologiche, corrispondenti ai supersiti urbani di Parma e Bologna (area urbana), al sito di Rimini (area costiera) e al sito di San Pietro Capofiume (area rurale). Un'analisi di omogeneità, a livello comunale, dei fattori di pressione ambientale e delle concentrazioni di inquinanti di fondo (tramite modellistica) permetterà di individuare i comuni afferenti a ciascuna area di indagine.

Effetti a breve termine

L'osservazione avverrà in modo prospettico prevedendo di raccogliere i dati per almeno 3 anni; questi saranno correlati con quelli derivanti dalle analisi chimiche eseguite nelle stazioni MS, US1, US2, RS3 e l'esposizione sarà quindi legata al dato di speciazione.

I dati sanitari saranno raccolti dal registro di mortalità, dall'archivio delle SDO e accessi al Pronto Soccorso. I casi oggetto di indagine verranno classificati in base a gruppi di patologie come specificato più sotto.

Effetti a lungo termine

L'arruolamento della popolazione in studio avverrà secondo le specifiche degli studi di coorte. Occorre conoscere il tempo di esposizione per l'intero periodo di follow-up della coorte, quindi la storia residenziale passata e futura.

Dalle anagrafi dei comuni identificati si otterranno i dati dei residenti all'ottobre 2001 con le informazioni sociodemografiche di censimento (istruzione, occupazione, condizione abitativa, stato civile) e la loro storia residenziale fino al momento dello studio (via, numero civico, CAP, sezione di censimento, quartiere, data di inizio e di fine residenza). L'anagrafe può fornire i nati, residenti nella città, dalle famiglie della coorte. La coorte sarà pertanto definita come tutti i residenti nelle aree di studio censiti al Censimento 2001 e i loro figli, nati successivamente, seguiti fino al momento dell'emigrazione dalla città o della morte. E' previsto un coinvolgimento delle software-house di riferimento per i comuni che non riuscissero autonomamente a far fronte alla richiesta di fornitura dei dati.

Il follow-up della coorte sarà effettuato tramite procedure di record-linkage con gli archivi della mortalità e delle SDO dall'ottobre 2001 in poi. Si tratta quindi di una coorte retrospettiva.

Attività n. 3: Valutazione dell'esposizione della popolazione in studio

Effetti a breve termine

Per valutare l'esposizione a breve termine della popolazione oggetto di studio, gli inquinanti di interesse sono:

- componenti gassosi primari e secondari, quali O₃, NO_x, NO₂ (dati provenienti dalla rete di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico della Regione Emilia-Romagna);
- ioni;
- Carbonio elementare e Carbonio organico;
- metalli quali Ni, V, As, Cr, Zn, Fe, Mn, verranno inoltre forniti i dati relativi ai seguenti metalli, non presenti nella prima fase di progetto: Cd, Pb, Sn, Sb, La.
- frazioni di particolato a diversa granulometria derivante dal campionamento al MS e RS3.

Il piano di campionamento al *Main Site* garantirà un monitoraggio continuo per tutto il periodo di studio con una completezza di misure giornaliere del 75% almeno per stagione. A questa serie si aggiungeranno le misurazioni effettuate nei siti satellite (garanzia di completezza del 27% almeno per stagione). La valutazione dell'esposizione verrà integrata inoltre con alcune misure effettuate di routine dalla rete delle stazioni fisse di monitoraggio del fondo urbano, e con i dati derivanti dai modelli di dispersione della LP.

Effetti a lungo termine

Considerando le tre macroaree identificate come siti di indagini epidemiologiche, si propone un approccio a diverso grado di complessità per la valutazione dell'esposizione a lungo termine sulle intere aree.

Gli approcci (a) e (b) proposti sotto sono adatti alle aree urbane, caratterizzate, da un lato da informazioni geografiche facilmente reperibili, dall'altro da un inquinamento che risulta "somma" di background regionale, background urbano e "hot spot" urbano. La variabilità intraurbana è data soprattutto da questo ultimo tipo, che risulta essere modellizzabile con successo tramite un approccio di tipo land-use regression (LUR). L'approccio utilizzato per la valutazione dell'esposizione sarà di tipo geografico e basata sulla residenza. Tramite le coordinate della residenza si attribuirà ai soggetti una misura di esposizione a inquinamento atmosferico la cui caratterizzazione è di 3 tipi:

- a. puramente geografica. Tramite sistemi geografici (GIS) si possono calcolare degli indici di esposizione a traffico veicolare per ogni indirizzo: distanza da strade ad alto traffico ed intensità di traffico nel buffer di 150 metri dalla residenza;
- b. basata su Land-use Regression model (LUR). Il LUR viene sviluppato per stimare le concentrazioni degli inquinanti in tutti gli indirizzi a partire dai dati delle concentrazioni ottenuti con campagne specifiche e variabili di uso del territorio come densità abitativa, altitudine, distanza da strade ad alto traffico, etc. Si propone l'applicazione della metodologia LUR ad aree urbane di comuni capoluogo appartenenti alle 3 macroaree identificate nel presente progetto, in linea con le attività di altri progetti nazionali ed europei;
- c. basata su un modello di dispersione nelle aree che aggiunga un dato di background regionale al valore degli inquinanti misurati in questo progetto e a quelli stimati su base modellistica in tutto il territorio con l'obiettivo di arrivare a modelli in grado di dare una stima di esposizione alle intere aree di studio.

Attività n. 4: Analisi epidemiologiche

Effetti a breve termine

Si prevede l'utilizzo di serie temporali, per la valutazione di impatto del particolato e delle sue componenti.

Il disegno di serie temporali è quello più utilizzato per valutare gli effetti a breve termine degli inquinanti atmosferici. Esso confronta le variazioni giornaliere degli inquinanti ambientali con il numero di esiti osservati nelle singole giornate, al fine di stimare quanto della variazione degli esiti è associata alle variazioni degli inquinanti. L'analisi prevede il controllo per le variabili tempo dipendenti (trend e stagioni) e per i dati meteorologici (temperatura apparente e pressione barometrica).

Le analisi saranno ristrette ai residenti delle tre macroaree in studio, laddove vi sia garanzia di un denominatore certo e la disponibilità delle informazioni anagrafiche, ivi comprese variabili socio-economiche di area.

L'osservazione avverrà in modo prospettico prevedendo di raccogliere i dati per almeno 3 anni; questi saranno correlati con quelli derivanti dalle analisi chimiche fatte dal supersito e l'esposizione sarà quindi legata al dato di speciazione.

Valutazione della mortalità

I dati dei residenti del singolo comune saranno linkati ai dati del Registro di mortalità, che riportano la data e la causa di morte, per un arco temporale pari ad almeno tre anni, in cui saranno disponibili i dati sui composti del PM_{2.5}. Le analisi dei dati saranno condotte per tutte le cause naturali, e per cause specifiche, quali le patologie cardiovascolari e cerebrovascolari, le malattie respiratorie e il diabete. Le analisi terranno conto di fattori di confondimento quali età, sesso, posizione socioeconomica e patologie croniche rilevate mediante record-linkage con il registro delle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO) nei cinque anni precedenti l'esito.

Valutazione della morbosità

Ricoveri ospedalieri Anche i ricoveri saranno analizzati per le patologie cardiovascolari, cerebrovascolari, le malattie respiratorie e il diabete. Tuttavia in questo caso saranno analizzate singole patologie, già note in letteratura come esiti dell'inquinamento e di cui siano in studio i meccanismi patogenetici.

Accessi al Pronto soccorso. Saranno analizzati i dati derivanti dalle analisi di Pronto Soccorso, per una stima più accurata dell'effetto degli inquinanti su alcune patologie, quali diabete, trombo-embolie periferiche, BPCO e asma, sono necessari i dati del ricorso al pronto soccorso (PS), in quanto gli episodi di esacerbazione non richiedono abitualmente il ricovero in questi casi.

Per studiare i meccanismi patogenetici degli inquinanti, l'approccio migliore è quello degli studi di panel, che consentono lo studio della funzionalità respiratoria e cardiaca e la misura dei marcatori biologici del danno. Su questi aspetti potranno essere definiti protocolli specifici, anche in accordo con altre LP del progetto.

Effetti a lungo termine

Il disegno di studio previsto per valutare gli effetti a lungo termine dell'esposizione ad inquinamento atmosferico è quello di coorte. Si prevede il coinvolgimento delle anagrafi comunali per ottenere i dati dei residenti all'ottobre 2001 con le informazioni sociodemografiche di censimento (istruzione, occupazione, condizione abitativa, stato civile) e la loro storia residenziale fino al momento dello studio (via, numero civico, CAP, sezione di censimento, quartiere, data di inizio e di fine residenza).

Il follow-up della coorte sarà effettuato tramite procedure di record-linkage con gli archivi della mortalità e delle SDO dall'ottobre 2001 in poi. Si tratta quindi di una coorte retrospettiva.

Valutazioni della mortalità

I dati della coorte verranno linkati ai dati del Sistema Informativo della Mortalità (SIM) dal 2001 al 2014, contenenti la data di morte e la causa del decesso. Verranno valutati l'associazione tra esposizione ad inquinamento dell'aria e mortalità per cause naturali, cardiovascolari, cerebrovascolari, malattie respiratorie, diabete, tumore al polmone. Le analisi terranno conto di fattori di confondimento quali età, sesso, e posizione socioeconomica definita per sezione di censimento.

Valutazione delle malattie cardiovascolari

Verrà analizzata l'associazione tra inquinamento dell'aria e eventi coronarici acuti (infarto del miocardio e angina instabile) linkando i dati della coorte con i dati delle SDO e del SIM.

Valutazione delle malattie respiratorie (adulti e bambini)

Utilizzando i dati delle SDO e delle prescrizioni farmaceutiche si potranno analizzare le ospedalizzazioni e l'uso dei farmaci per malattie respiratorie degli arruolati nella coorte (distinguendo età adulta ed età pediatrica) in relazione all'esposizione ad inquinamento atmosferico.

Valutazione degli esiti di gravidanza

I dati dei CedAP (Certificati di assistenza al parto) verranno linkati con le donne in età fertile della coorte. Verranno calcolate le esposizioni medie nei tre trimestri di gravidanza e verrà studiata con modelli di regressione lineare e logistica l'associazione tra inquinamento e basso peso alla nascita, nascite pre-termine, ritardo della crescita in utero. Utilizzando i dati di mortalità sotto al primo anno di età verranno studiate anche la mortalità infantile e neonatale.

Eventuali altri esiti infantili

I dati di esposizione ad inquinamento atmosferico potranno essere attribuiti anche ai registri di malformazioni congenite per analizzare le malformazioni cardiache, ai registri tumori per le leucemie e a coorti di nati esistenti, in modo da studiare oltre agli esiti della gravidanza l'eventuale associazione con lo sviluppo cognitivo.

La linea progettuale 6 svolge le proprie attività dal 2010 al 2016, in particolare:

- 2010-2011: valutazione della letteratura, definizione dei protocolli di indagine
- 2012: raccolta dati ambientali e sanitari e valutazione dell'esposizione della popolazione
- 2013: raccolta dati ambientali e sanitari e valutazione dell'esposizione della popolazione
- 2014: raccolta dati ambientali e sanitari, valutazione dell'esposizione della popolazione e analisi epidemiologiche.
- 2015-2016: analisi epidemiologiche e redazione report finali

Linea Progettuale 7 - Analisi dati ambientali

Obiettivi specifici

L'obiettivo principale della LP7 è l'identificazione e la quantificazione dei contributi delle varie sorgenti primarie e secondarie di particolato fine ("source apportionment") basate sull'analisi, effettuata principalmente con modelli a recettore, delle serie di dati sperimentali riguardanti la composizione chimica del PM2.5.

La LP7 utilizza quindi come dati di input i risultati delle misure di chimica del particolato effettuate con campionamenti giornalieri (LP1) presso il main site (MS) e i siti satelliti (US1/2), ed i dati forniti dal MS e dal sito satellite rurale (RS3) durante le campagne di misura intensive (LP3). Si serve inoltre delle misure di distribuzione dimensionale del particolato e degli andamenti dei parametri ambientali (LP1). Infine si focalizza sull'identificazione delle sorgenti di particolato responsabili dell'accumulo in atmosfera delle sostanze per le quali si sono dimostrati effetti tossici (LP4) ed epidemiologici (LP6). La LP7 produce come output stime del contributo delle sorgenti di emissione che possono essere utilizzate per il confronto con i modelli di qualità dell'aria (LP2) e per la stima della popolazione esposta (LP5) e quindi per la valutazione del rischio (LP4).

La serie di misure della composizione chimica del particolato presso il MS e i siti satelliti verrà analizzata per la determinazione dei processi e delle sorgenti responsabili delle variazioni stagionali dei vari componenti chimici primari e secondari nei vari settori geografici della regione. Inoltre verranno identificati e quantificati i fattori riconducibili a fenomeni di trasporto da fuori regione.

I dati forniti dai periodi di osservazione intensiva (IOP) saranno invece utilizzati per lo studio della variabilità delle concentrazioni dei componenti chimici su brevi scale temporali, legate non solo a variazioni del contributo relativo delle sorgenti ma anche ai processi fotochimica e trasformazione chimica del particolato ("ageing"). Sarà inoltre studiata la distribuzione dimensionale del particolato durante episodi di picchi di inquinamento con lo scopo di determinare le sorgenti e i processi responsabili degli andamenti osservati. Siccome i dati saranno forniti con elevata risoluzione temporale, si potranno investigare i fattori e i contributi delle sorgenti responsabili dei cicli giornalieri e degli andamenti orari delle concentrazioni. Inoltre, le informazioni dettagliate sulla composizione chimica organica permetteranno la valutazione del contributo delle varie sorgenti primarie e secondarie del particolato fine organico con un'accuratezza che non è possibile ottenere dalla sola analisi delle serie temporali di organic carbon (OC) fornite dal "routine measurement program". L'analisi delle molteplici sorgenti del particolato organico necessita infatti metodologie specifiche e uno studio dedicato.

I metodi utilizzati si rifanno al concetto dei modelli a recettore, che sono stati ampiamente usati nell'ambito dell'analisi dei dati sperimentali ottenuti nell'ambito di passati progetti di supersiti (specialmente negli USA; si veda ad esempio <http://www.epa.gov/scram001/receptorindex.htm>). Tra questi metodi, alcuni, come la "positive matrix factorization" (PMF), verranno privilegiati in quanto ideati specificatamente per applicazioni allo studio delle sorgenti di particolato atmosferico. La PMF è stata inoltre ampiamente sviluppata per l'analisi degli spettri di massa delle sostanze organiche dell'aerosol misurate con metodi AMS, che hanno permesso la quantificazione del contributo delle emissioni da scarichi autoveicolari e quello da sorgenti di tipo secondario. Questi metodi di indagine basati sull'analisi degli spettri AMS sarà impiegata nella sua versione più aggiornata in questo progetto. Sarà affiancata da un'analoga trattazione statistica di spettri a risonanza magnetica nucleare (NMR) per lo studio dettagliato delle sorgenti di sostanze organiche da fonti secondarie e dalla combustione di biocombustibili. L'analisi statistica multivariata di serie di spettri NMR per campioni di aerosol atmosferici si basa sull'applicazione di tecniche già consolidate in altri ambiti scientifici ("metabolomica", analisi biochimiche).

Infine, se nella letteratura scientifica saranno disponibili profili chimici rappresentativi delle fonti emmissive del bacino padano, la stima in dettaglio dei

contributi delle emissioni alle concentrazioni di sostanze organiche potrà effettuarsi anche con modelli a recettore del tipo “chemical mass balance” (CMB) che usano i profili emissivi delle fonti inquinanti come input.

Risultati attesi

I risultati attesi sono:

- Compilazione di una fenomenologia delle concentrazioni delle particelle ultrafini e dei componenti chimici del particolato fine e valutazione dei loro cicli stagionali per il main site (MS) e i siti satelliti, basata su tre anni di osservazioni;
- Caratterizzazione dell’andamento giornaliero dei componenti del particolato fine nelle varie stagioni per il main site (MS) ed i siti satelliti;
- Andamento dei componenti chimici del particolato fine e delle particelle ultrafini durante episodi di picchi di inquinamento in estate, autunno e inverno, e quantificazione del contributo dei singoli componenti chimici alla massa di particolato nei vari momenti di sviluppo e risoluzione del picco di inquinamento;
- Quantificazione, tramite modelli a recettore, delle sorgenti di particolato fine responsabili del ciclo annuale e delle loro concentrazioni al main site (MS) e presso i siti satellite;
- Quantificazione, tramite modelli a recettore, delle sorgenti di particolato fine responsabili del loro ciclo giornaliero al main site (MS) e presso i siti satellite;
- Quantificazione, tramite analisi di spettri di massa e NMR, delle sorgenti primarie e secondarie di particolato fine di natura organica durante episodi di picchi di inquinamento;
- Studio delle correlazioni tra i contributi delle varie sorgenti di particolato fine identificate con l’andamento dei parametri meteorologici e ambientali e con gli output dei modelli di qualità dell’aria;
- Attività di policy support.

Attività della LP7 e loro descrizione

Le attività previste in questa LP sono di tipo compilativo o di analisi dati e prevedono l’utilizzo di metodi matematici e statistici.

Attività n. 1: Valutazione dei contributi delle componenti chimiche misurate alla concentrazione di PM2.5 e chiusura del bilancio di massa del particolato fine

Le serie temporali di dati di composizione chimica forniti dal “routine measurement program” sono analizzate per fornire il contributo delle varie specie chimiche alla concentrazione di particolato fine (PM2.5). Verranno adottati metodi di chiusura del bilancio di massa del PM2.5 per compensare la frazione mancante, ovvero non analizzata direttamente con metodi chimici. A tal fine, si valuteranno appropriati fattori per derivare la massa di sostanza organica dalla massa misurata di carbonio organico (OC) in base all’abbondanza di sostanze ossidate idrosolubili e alla analisi elementare

dell'aerosol organico submicrometrico da AMS. Inoltre, la massa delle polveri minerali verrà stimata a partire dalle concentrazioni di calcio, alluminio e di elementi in tracce. Il risultato finale sarà la ripartizione della massa di PM_{2.5} nei suoi componenti chimici maggiori (sostanze organiche e carbonio elementare, sali inorganici, ossidi metallici, materiale crostale, sale marino) per il main site (MS) e i siti satelliti e in funzione delle diverse stagioni dell'anno. Lo studio delle concentrazioni di materiale crostale e sale marino nella varie stazioni fornirà una misura del contributo del "fondo naturale" (inorganico) alle concentrazioni di PM_{2.5} sul territorio regionale. Infine la stima delle sorgenti primarie e secondarie del carbonio organico per il MS e i siti satellite potrà essere effettuata tramite la tecnica dei rapporti OC/EC.

Attività n. 2: Analisi degli andamenti stagionali dei componenti chimici del PM_{2.5} al main site (MS) e nei siti satellite e valutazione delle loro sorgenti principali e dei contributi da fenomeni di trasporto tramite modelli a recettore

Le serie temporali di dati di composizione chimica forniti dal "routine measurement program" per il main site (MS) e i siti satelliti sono analizzati tramite modelli a recettore (UNMIX, "positive matrix factorization" o PMF) per identificare e quantificare i maggiori fattori nella composizione chimica del PM_{2.5} che ne determinano la variabilità su scale temporali di settimane e mesi. Tali fattori possono racchiudere contributi da più specie chimiche legate da analoghi meccanismi di emissione o formazione. Questo tipo di analisi, già largamente impiegato in supersiti americani ed europei, consente di stimare il contributo dei principali fattori di emissione (sorgenti primarie da combustione legate a processi industriali o da traffico) e di formazione da processi secondari (condensazione di nitrati e solfati).

Attività n. 3: Valutazione delle sorgenti di particelle fini ed ultrafini sulla base delle loro distribuzioni dimensionali e analisi dell'evoluzione temporale della distribuzione dimensionale delle particelle e dei componenti chimici del PM (MS, RS3).

Le serie di dati osservati sia della distribuzione dimensionale delle particelle ultrafini sia della composizione chimica del PM submicrometrico segregato dimensionalmente (mediante misure AMS e impattori multistadio nel corso delle LP3) saranno analizzati al fine di ricavare informazioni sulle correlazioni dei trend temporali.

Inoltre, i dati di distribuzione dimensionale (numerica) di particelle ricavati mediante OPC e SMPS (nel corso della LP1) verranno utilizzati per effettuare analisi statistiche multivariate (cluster o PMF) al fine di ottenere informazioni sulle sorgenti e sui processi.

Attività n. 4: Analisi dei cicli giornalieri dei componenti chimici del particolato fine presso il main site (MS) e il rural satellite site (RS3)

L'analisi con modelli al recettore dei dati di composizione chimica del particolato ottenuti con elevata risoluzione temporale (LP3) consente di discriminare i contributi delle sorgenti la cui intensità è caratterizzata un'elevata variabilità nel corso delle 24 ore. In particolare, con questa analisi effettuata tramite modelli di PMF o UNMIX si andranno a identificare e a quantificare fattori nella composizione chimica nel particolato riconducibili alle emissioni da impianti industriali e da traffico urbano, che presentano massimi sistematici in determinate ore del giorno, o alla formazione di aerosol secondario per processi fotochimici, che è massima nelle ore centrali della giornata. Ci si servirà inoltre di dati di correlazione con le concentrazioni di gas in tracce (NO_x, O₃, VOC) usati come traccianti.

Attività n. 5: Determinazione delle sorgenti primarie e secondarie di particolato

organico fine tramite metodi di analisi multivariata applicata

Un'attività dedicata all'identificazione e quantificazione delle sorgenti delle sostanze organiche presenti nel PM2.5 si deve al fatto che, al contrario delle altre componenti dell'aerosol, il carbonio organico (OC) presenta una speciazione in composti estremamente complessa e si forma da una molteplicità di sorgenti sia naturali che antropiche. In quest'attività verranno impiegate tecniche di analisi statistica multivariata a set di dati di concentrazione associate a variabili che descrivono la composizione chimica del carbonio organico nel PM2.5. Queste variabili possono essere sia composti specifici usati come traccianti, sia picchi dello spettro di massa o NMR dei campioni. Recentemente, lo sviluppo di approcci del tipo "positive matrix factorization" (PMF) applicati all'analisi di serie temporali di spettri di massa dell'aerosol ottenuti con misure AMS ha permesso la quantificazione delle frazioni primarie e secondarie dell'aerosol organico con elevata risoluzione temporale e quindi lo studio delle variazioni dei contributi di queste sorgenti con cadenza oraria o sub-oraria. Queste tecniche tipo PMF verranno applicate nella loro versione più aggiornata anche all'analisi dei dati AMS ottenuti durante i periodi di osservazione intensiva (LP 3). Analogamente ai dati AMS, le serie temporali di spettri NMR ottenuti per i campioni di PM1 nel corso degli esperimenti intensivi saranno sottoposti ad analisi multivariata (ad esempio, la "non-negative matrix factorization", NMF) per l'identificazione e la quantificazione del contributo delle sorgenti di particolato secondario dovuto a fonti naturali ed antropiche. Si valuterà anche la possibilità di utilizzare tecniche di "chemical mass balance" (CMB) per stabilire correlazioni tra la concentrazione di carbonio organico OC con le concentrazioni di traccianti molecolari appartenenti allo stesso profilo di emissione. L'utilizzo di tali tecniche è complementare ad approcci tipo PMF, ma la buona riuscita nella loro applicazione è subordinata alla disponibilità di profili emissivi locali da poter utilizzare come input. L'applicazione del CMB dipenderà quindi dallo stato dell'arte della letteratura scientifica sulla conoscenza dei profili emissivi nel bacino padano.

La linea progettuale 7 ha la finalità di effettuare diverse elaborazioni e valutazioni modellistiche al fine di interpretare i risultati ottenuti di natura ambientale.

La linea progettuale n. 7 svolge le proprie attività dal 2010 al 2016, in particolare:

- 2010: valutazione della letteratura sull'analisi multivariata dei dati ambientali con particolare riferimento alla modellistica al recettore;
- 2011: scelta del modello al recettore, analisi della letteratura dell'incertezza e sulle fonti di inquinamento locale;
- 2012: analisi esplorative dei primi dati raccolti anche allo scopo di valutarne l'idoneità rispetto alle indagini da effettuare;
- 2013: prima stima delle incertezze a partire dai dati raccolti e prime analisi mediante PMF e altre tecniche su particolato fine e ultrafine;
- 2014: analisi dei dati diversificata per stagione;
- 2015: valutazione definitiva delle incertezze e prime analisi sull'intero set di dati di progetto;
- 2016: conclusione dell'analisi previste sull'intero set di dati di progetto e stesura del report definitivo.

8. Tempi

Il progetto, in seguito alla ridefinizione dei tempi inizialmente previsti, ha la **durata di 7 anni**, dal 2010 al 2016, secondo le specifiche indicate nelle singole linee progettuali.

Il primo anno – 2010 – è stato utilizzato per la realizzazione delle infrastrutture e per l'acquisizione degli strumenti con le necessarie gare d'acquisto, oltre che per la messa a punto delle metodiche di analisi chimiche, fisiche, bio-tossicologiche, dei protocolli d'indagini epidemiologiche e delle tecniche di valutazione modellistica.

Gli anni 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 sono dedicati alle attività sperimentali di misure e analisi modellistiche.

Infine, l'anno conclusivo - 2016 - sarà dedicato all'analisi dei dati ottenuti nei tre anni precedenti e alla ridefinizione del progetto per i successivi anni.

9. Costi

L'impostazione dello studio epidemiologico degli effetti a breve termine si basa su una serie temporale di n. 3 anni di misure giornaliere di un gruppo di inquinanti.

Oltre al pool di indagini di cui sopra che verranno eseguite con strumentazione già presente presso Arpa, al fine di realizzare il completo set di attività previste dal progetto è stato necessario acquisire nuova strumentazione, attualmente non disponibile né in Arpa né nelle strutture di ricerca presenti in regione (CNR e Università).

I costi relativi ad ogni anno, suddivisi per voci relative al funzionamento e per investimenti, sono riportate nelle tabelle 1 e 2 che seguono. Si specifica che le attività di che trattasi sono riconducibili ad attività istituzionali di ARPA e, pertanto, le stesse sono fuori dal campo di applicazione dell'IVA per carenza dei presupposti di imponibilità ai sensi degli artt. 3 e 4 del D.P.R. n. 633/1972.

**Tabella 1: Costi per il funzionamento suddivisi per anno,
espressi in euro**

Anni	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Totale
Personale (comprese missioni e formazione)	270.727	462.127	697.035	9.909	408.045	332.038	155.022	2.334.903
Convenzioni con partner tecnico-scientifici	161.794	494.111	384.414	132.571	466.630	259.375	75.000	1.973.895
Servizi	3.337	150.905	156.385	21.000	175.000	41.335	3.000	550.962
Beni di consumo (attività di laboratorio e campionamento)	9.327	132.861	135.188	15.000	161.100	60.300	17.503	531.279
Spese generali	29.165	163.731	45.313	1.020	9.950	9.270	25.817	284.266
totale	474.350	1.403.735	1.418.335	179.500	1.220.725	702.318	276.342	5.675.305
Totale costi a carico Arpa ER	70.300	477.785	584.785	74.562	455.614	262.797	104.112	2.029.955
Totale costi a carico RER (escluso personale RER)	404.050	925.950	833.550	104.938	765.111	439.521	172.230	3.645.350

**Tabella 2: Costi sostenuti per gli strumenti,
espressi in euro**

Strumentazione		Costo (IVA inclusa)
1	Spettrometro di massa per aerosol	433.606,69
2	Spettrometro per l'analisi dimensionale del particolato	295.215,64
3	Campionatori automatici per PM 2.5, PM 1 e contatori di numero di particelle per in/outdoor	261.723,00
4	Gas Cromatografo con FID per VOC	108.900,00
5	Strutture per alloggio strumenti	62.747,88
6	Campionatori alto volume	11.740,63
7	Spettrofotometri	36.084,00
8	Hardware, Software	28.577,89
9	Analizzatore Carbonio	65.940,00
10	Cofinanziamento spettrometro di massa ad alta risoluzione	240.000,00
11	Potenziamento cromatografo ionico	23.640,00
12	Spese pubblicazione gare	9.845,88
Totale		1.578.021,61

N. proposta: PDEL-2013-105 del 17/12/2013

Centro di Responsabilità: Servizio Affari Istituzionali, Pianificazione e Comunicazione

OGGETTO: Servizio Affari istituzionali, Pianificazione e Comunicazione. Presa d'atto di quanto disposto dalla Regione Emilia-Romagna con D.G.R. n. 1971 del 16/12/2013 in merito alla realizzazione del Progetto Supersito.

PARERE CONTABILE

Il sottoscritto Dott. Giuseppe Bacchi Reggiani, Responsabile dell'Area Bilancio e Controllo Economico, esprime parere di regolarità contabile ai sensi del Regolamento Arpa sul Decentramento amministrativo.

Data 20/12/2013

Il Dirigente
