

PARTICELLE FINI, ULTRAFINI E NANOPARTICELLE IN AMBIENTE DI VITA E DI LAVORO: POSSIBILI EFFETTI SANITARI E MISURA DELL'ESPOSIZIONE INALATORIA

Achille Marconi, Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Corresponding Author: Dott. Achille Marconi

Istituto Superiore di Sanità
Dipartimento Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria
(Department of Environment and Prevention)
Viale Regina Elena 299,
00161 Rome-ITALY
E-mail: marconi@iss.it

RIASSUNTO

L'evidenza sperimentale più recente ha fornito risultati che indicano come l'esposizione a particelle aerodisperse con dimensioni più fini, comprese quelle ultrafini o nanometriche (PN, dimensioni < 100 nm) di origine secondaria negli ambienti lavorativi e di vita (scarichi diesel, fumi di saldatura, particelle ultrafini in aria urbana), sia responsabile di effetti negativi per la salute. Benchè i meccanismi di azione biologica non siano ancora sufficientemente noti, la considerevole base di dati sanitari e ambientali sulle particelle aerodisperse negli ambienti lavorativi e di vita ha fornito indicazioni sulle caratteristiche che possono influenzare la tossicità e la relazione dose-risposta. Diversamente dalle particelle con dimensioni supermicrometriche, per le quali l'esposizione è caratterizzata tradizionalmente in termini di massa, i parametri apparentemente più rilevanti nel caso delle particelle più fini, ed in particolare delle PN (o ultrafini), comprendono il numero, la morfologia, la solubilità, l'area superficiale e la sua reattività chimica.

Il rapido sviluppo del settore delle nanotecnologie, basato sull'impiego di una varietà di tipi di PN (generate intenzionalmente e dotate di proprietà uniche e specifiche), configura ulteriori scenari di esposizione le cui caratteristiche sono ad oggi ancora sconosciuti. La preoccupazione dei potenziali effetti sanitari derivanti dall'esposizione inalatoria alle PN ha accelerato in questi ultimi anni l'attività di studio per individuare la strumentazione appropriata a caratterizzare l'esposizione associata alle diverse potenziali sorgenti di particelle con dimensioni nanometriche. In questa breve rassegna vengono descritti i principali problemi attualmente esistenti per affrontare le esigenze di misurazione dei livelli di concentrazione/esposizione biologicamente rilevanti nell'atmosfera degli ambienti lavorativi in cui sono presenti sorgenti di particelle molto fini ed, in particolare, nanometriche (generate intenzionalmente o non).

Parole chiave: aerosol, particelle ultrafini, particelle nanometriche, nanotecnologie, salute, rischio, inalazione, esposizione, misura dell'esposizione, ambiente.

ABSTRACT

Recently, experimental evidence has shown that exposure to very fine particles including those ultrafine or nanometric (NP, size < 100 nm) may cause severe health effects after inhalation in ambient and occupational environments (ultrafine particles in urban air, diesel emissions, welding fumes). Although the toxicological mechanisms for these effects have not yet been explained, the considerable body of existing data on occupational and environmental impact of airborne particles provides indications on the

characteristics that influence toxicity and dose-response relationships. While for supermicrometric particles it is sufficient measuring exposure in terms of mass, for very fine particles, and in particular for NP, the characteristics that are more biologically relevant include the number, size, surface area, shape, solubility, and chemical reactivity. The rapidly developing field of nanotechnology, based on the use of a variety of NP (engineered or intentionally produced and with unique and specific properties), will certainly create new exposure scenarios which actually are largely unknown. The concern of potential health impact from the exposure to NP, during the last years has accelerated the development of systems for characterizing the exposures associated to the different potential sources of particles in the submicrometer and nanometer size ranges in both the environment and the workplace. In this review the current problems for characterizing the biologically relevant exposure to very fine and nanometric particles are discussed mainly in the context of occupational aerosols.

Key words: aerosol, ultrafine particles, nanoparticles, nanotechnology, health, risk, inhalation, exposure, exposure measurement, environment.

Introduzione

Sin dagli inizi degli anni '90 è emersa l'evidenza tossicologica che indicava come gli effetti biologici associati all'inalazione delle particelle molto piccole non fossero dipendenti solo dalla massa delle particelle. Ad esempio alcuni studi sulle particelle di politetrafluoroetilene con dimensioni molto al di sotto di $0,1 \mu\text{m}$ hanno mostrato che concentrazioni aeree non elevate di questo materiale, supposto inerte ed insolubile, potevano essere fatali per i ratti (1). Successivamente si sono moltiplicati gli studi che hanno confermato l'aumento di tossicità da parte di materiali insolubili con il diminuire delle dimensioni delle particelle, a parità di massa. Inoltre i modelli sperimentali animali hanno segnalato che, oltre ai classici processi di epurazione polmonare attivi per le particelle fini e grossolane, nel caso delle particelle nanometriche (PN) o ultrafini (PUF) possono agire meccanismi di trasferimento ad organi extrapolmonari e di attraversamento della barriera cellulare (2). Contemporaneamente numerosi studi epidemiologici, per lo più eseguiti sulla popolazione generale, hanno evidenziato una serie di effetti sanitari negativi associati all'esposizione a particelle aerodisperse con caratteristiche dimensionali fini ($< 2,5 \mu\text{m}$) ed ultrafini ($< 0,1 \mu\text{m}$) (3).

Globalmente, quindi, l'attuale evidenza sperimentale ed epidemiologica pone a carico delle particelle aerodisperse più fini la responsabilità di una varietà di patologie, non solo nei riguardi dell'organo respiratorio, ma anche di altri organi, i quali verrebbero colpiti in particolare dalle particelle appartenenti alla classe dimensionale ultrafine.

Queste evidenze sono alla base delle preoccupazioni sui potenziali rischi sanitari associati al settore in rapida crescita delle nanotecnologie, incentrato sull'impiego di particelle ed oggetti a scala nanometrica deliberatamente costruiti.

Mentre esiste una non trascurabile quantità di informazioni, anche se non definitive, sui livelli di esposizione a particelle fini prodotte da processi di combustione, saldatura, o da emissioni diesel, sono essenzialmente molto scarse e del tutto preliminari quelle relative alle PUF ed ancor più alle particelle nanometriche costruite (PNC) ed utilizzate nel settore delle nanotecnologie. Ciò è dovuto anche alle difficoltà d'impiego di strumenti di nuova concezione, in grado di misurare i diversi parametri (area ed attività

di superficie, numero di particelle, solubilità) ritenuti più rilevanti rispetto alla massa ai fini dell'anticipazione del rischio sanitario.

In questa rassegna verranno esaminati i problemi salienti connessi con la misura dei parametri più rappresentativi per gli effetti sanitari dell'esposizione inalatoria alle particelle con dimensioni estremamente fini.

Produzione, caratteristiche chimico-fisiche e classificazione

Particelle con dimensioni molto fini e nanometriche esistono in modo esteso in natura. Esse vengono prodotte dai vulcani, microbi, alghe, e dai vari processi di cottura e combustione. Un passo critico nel processo di sviluppo di appropriati sistemi di monitoraggio dell'esposizione alle particelle aerodisperse è la definizione delle dimensioni di specifico interesse delle particelle stesse. In attesa di una definitiva e generale categorizzazione delle particelle con dimensioni nanometriche, cioè particelle con dimensioni inferiori a 0,1 μm (o 100 nm), si può fare riferimento alla loro origine, che può essere suddivisa in naturale e antropica. A quest'ultima appartengono le PNC (o intenzionali) e quelle non intenzionali, generalmente denominate PUF (Tabella 1). Le PNC comprendono una vasta classe di materiali a scala nanometrica con la comune caratteristica di avere almeno una delle dimensioni critiche inferiore a 100 nm (4). Le differenze tra le particelle nanometriche di origine antropica non intenzionali e quelle costruite sono la natura polidispersa e chimicamente complessa (composizione elementare, solubilità, presenza di composti organici più o meno volatili e di inorganici più o meno solubili) delle prime, di fronte alle caratteristiche di monodispersione, precisa composizione chimica e forma solida delle seconde.

Le nanoparticelle ultrafini (PUF) definite casuali (incidentali), sono quelle generate dai processi fotochimici e di combustione o, in generale, originate come prodotti secondari di numerose operazioni, spesso svolte negli impianti industriali (saldatura, fusione e trattamento di metalli). Queste particelle sono già largamente presenti nell'atmosfera degli ambienti di vita e di lavoro (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13).

Le PNC, dotate di caratteristiche chimico-fisiche molteplici ed estremamente specifiche, sono alla base dell'emergente settore delle nanotecnologie, le quali vengono ritenute portatrici di una rivoluzione in diversi settori industriali e scientifici, tra cui risalta quello relativo ai progressi nella diagnosi, prevenzione e cura del cancro (14, 15, 16, 17). Il settore delle nanotecnologie è attualmente in rapida crescita ed è previsto il suo significativo impatto anche sugli ambienti di lavoro, ma sono ancora molte le incertezze sui potenziali rischi sanitari eventualmente derivanti dalle particolari ed uniche caratteristiche delle PN costruite, le stesse, d'altra parte, che ne determinano il grande interesse commerciale.

E' stato stimato che attraverso i processi di combustione (inclusi i diesel) vengono prodotti circa 50.000 kg/anno di materiali nanometrici. Per confronto, i dati disponibili indicano che nel 2003 la produzione mondiale di nanotubi di carbonio (NTC) non ha superato 3000 kg, ma è noto che il Giappone ha pianificato un'espansione di questa produzione fino ad arrivare a 120.000 kg/anno nel 2008 (18). I livelli di produzione hanno rilievo anche per la valutazione dell'adeguatezza dell'attuale quadro normativo di tutela sanitaria, in quanto il regime previsto dal sistema europeo REACH richiede la registrazione di sostanze chimiche prodotte o importate annualmente in quantità superiori ad una tonnellata.

Nell'intervallo dimensionale nanometrico <100 nm i materiali possono presentare proprietà sostanzialmente diverse da quelle possedute dagli stessi materiali con dimensioni maggiori. Tipicamente aumentano il rapporto tra area superficiale e massa ed il numero per unità di massa e ciò comporta una maggiore reattività chimica, più

resistenza o una più efficiente conducibilità elettrica e potenzialmente anche una più accentuata attività biologica.

Effetti sanitari

Malgrado l'incompletezza delle conoscenze sui fattori essenziali per la stima dei rischi sanitari associati all'esposizione a PN (o PUF), i risultati degli studi sugli animali o gli umani realizzati finora, possono fornire la base per anticipare ipotesi preliminari sulla risposta biologica e sui possibili effetti negativi per l'uomo da parte di questa classe di particelle.

Gli studi sperimentali su animali hanno mostrato che dosi in massa equivalenti di PUF insolubili sono più potenti di particelle di maggiori dimensioni con simile composizione nell'induzione di infiammazione polmonare, danno ai tessuti, e tumore polmonare (19, 20, 21, 22, 23). Recenti studi hanno anche evidenziato la capacità da parte di PUF di TiO_2 e di polistirene (microsfere fluorescenti) di accedere direttamente agli organi intracellulari (proteine, organelli, DNA) tramite meccanismi diffusivi e adesivi, evitando i consueti processi endocitici (24).

Gli studi epidemiologici su lavoratori esposti a particelle fini e PUF hanno riportato decrementi nella funzione polmonare, sintomi respiratori negativi, patologie ostruttive croniche, e fibrosi (25, 26, 27). Inoltre, alcuni studi hanno riscontrato aumento di incidenza di cancro polmonare tra i lavoratori esposti a PUF emesse dai diesel (28, 29) o dai fumi di saldatura (27, 30). Le implicazioni di questi studi, tuttavia, sono ancora incerte poiché altri studi non hanno ottenuto gli stessi risultati ed il contributo preciso della frazione ultrafine agli effetti negativi osservati è ancora in discussione e materia di attive ricerche.

Anche gli studi epidemiologici nella popolazione generale hanno mostrato associazioni tra livelli atmosferici di particelle fini ed ultrafini ed incrementi di morbilità e mortalità per patologie respiratorie e cardiovascolari (31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39), ed hanno inoltre fornito fondate indicazioni di possibili effetti cancerogeni per il polmone (40).

Benchè gli studi sperimentali sulle PNC siano appena agli esordi, alcuni risultati preliminari indicano un'attività tossica differenziata in funzione della specifica forma da esse posseduta, in analogia con quanto è conosciuto nel caso delle fibre minerali. Ad esempio nanotubi di carbonio (NTC), che possono raggiungere rapporti di allungamento > 100 e lunghezza $> 5 \mu\text{m}$, a singola parete (SWCNT) instillati nei polmoni di animali hanno prodotto fibrosi, granulomi, e tossicità nell'interstizio polmonare con effetti infiammatori più o meno transitori (41, 42). Anche i primi studi *in vitro* hanno indicato una accentuata citotossicità molto maggiore da parte dei SWCNT, rispetto a quella dei NTC a parete multipla o dei fullereni (43, 44). In questi studi resta da valutare il possibile contributo delle impurezze metalliche derivanti dal processo di generazione dei nanotubi.

Un quadro aggiornato complessivo sui potenziali effetti tossici dei NTC, anche in relazione alla rilevanza per l'esposizione occupazionale, viene illustrato in una recentissima rassegna da Donaldson et al. (45).

I risultati degli studi *in vivo* hanno anche fornito indicazioni che le PUF ed i fullereni possono essere traslocati in altri organi, direttamente o no, attraverso il flusso sanguigno, le vie linfatiche ed anche il nervo olfattivo (46, 47, 48), producendo effetti ossidativi nel cervello di alcune specie ittiche (49).

Queste evidenze hanno indotto alcuni ricercatori ad ipotizzare potenziali effetti mutageni ereditari associati all'esposizione alle particelle più fini (50).

Esposizione

La via di esposizione più comune alle particelle aerodisperse negli ambienti lavorativi è quella inalatoria. Come avviene per altri tipi di particelle, la deposizione di PN (o PUF) nel tratto respiratorio è determinata dalle loro dimensioni, anche se i meccanismi sono essenzialmente diffusivi. Conformemente al modello di deposizione accreditato (52) è prevista una sostanziale deposizione delle PN in tutte le diverse regioni polmonari, in modo predominante nella regione alveolare, ma anche nelle regioni tracheobronchiale ed extra-toracica (51, 52) (Figura 1). Inoltre è stato notato che la deposizione delle PN risulta più uniforme rispetto alle particelle micrometriche (53). Da considerare che gli agglomerati di PN si depositeranno in funzione del loro diametro e non di quello delle PN costituenti.

Occorre, altresì, notare che, a seguito della deposizione, il destino delle PN dipende dalla loro biopersistenza e dal loro potenziale trasloco ad altri organi e tessuti. Sono tuttora in corso ricerche per determinare i fattori che regolano tali fenomeni ed i meccanismi che contribuiscono all'agglomerazione e de-agglomerazione delle PN, nonché il loro ruolo nell'attività tossica dopo l'inalazione (11).

Oltre alla via inalatoria, è stato suggerito che anche le vie di esposizione ingestiva e dermica possono avere un rilievo importante durante l'attività lavorativa comportante la manipolazione di PNC (11, 15, 54).

Mentre numerose sono le occasioni di esposizioni ambientali alle PUF (5, 6, 7, 8), esistono molte circostanze comportanti esposizione a PUF anche in molti ambienti lavorativi, in particolare nel caso di processi di combustione, saldatura, emissioni diesel, trattamento a caldo di metalli, o manipolazione di materiali con dimensioni ultrafini, come nero di carbone ed alcuni ossidi metallici (Si, Ti, Zn, Mg) (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61). Diverse condizioni lavorative sono in grado di generare livelli di esposizione spesso più elevati di quelli tipici ambientali, quando l'esposizione viene espressa in termini numerici piuttosto che in massa di particelle. Nella Tabella 2 sono riportati i livelli tipici di PUF in termini di concentrazione numerica associati a varie attività lavorative (61).

L'attesa diffusione delle applicazioni industriali delle PNC ed il loro utilizzo determineranno verosimilmente occasioni di esposizione il cui rilievo richiede una approfondita attività di valutazione. Una recentissima indagine nelle industrie che producono NTC a partire da processi di catalisi ha evidenziato una ridotta capacità di liberazione di nanoparticelle di carbonio durante le operazioni lavorative e concentrazioni in massa inferiori a 55 mg/m^3 (54). Nella Tabella 3 vengono illustrate in modo sintetico le potenziali sorgenti espositive a PNC associate alle diverse fasi dei possibili processi produttivi.

In questo contesto merita particolare attenzione lo studio delle caratteristiche espositive negli ambienti lavorativi in cui sono presenti ambedue le sorgenti di PUF o di PNC.

Misura dell'esposizione

Fintantoché non saranno disponibili informazioni sui meccanismi di azione biologica associati alle PUF, non vi è certezza sulla più appropriata tecnica di misura per determinare l'esposizione lavorativa. Sulla base delle conoscenze disponibili, numerosi sono i parametri con potenziale rilievo sanitario che occorrerebbe conoscere per caratterizzare l'esposizione alle PUF. Mentre sono stati sviluppati i criteri per il campionamento con selezione dimensionale delle frazioni di particelle aerodisperse in relazione agli specifici effetti sanitari ad esse associati, ancora non esiste un criterio di riferimento per le PUF, anche se recentemente Vincent (62) ha fornito interessanti suggerimenti sul possibile approccio da adottare per il suo sviluppo.

Per la valutazione dell'esposizione, e della dose, oltre alle informazioni tradizionali sulla massa, e la sua caratterizzazione, sarebbero necessari dati sulla distribuzione dimensionale, sul numero e/o sulla area superficiale, e, possibilmente, sul chimismo superficiale delle particelle.

Benché esistano attualmente le tecniche appropriate alla misura di questi parametri, solo alcune di queste sono applicabili per la determinazione routinaria dell'esposizione.

Nel caso delle PUF, la completa caratterizzazione dell'esposizione mediante la determinazione di tutti i parametri che possono avere rilevanza tossicologica, appare attualmente di difficile realizzazione.

La valutazione delle emissioni, dell'efficienza dei controlli, e dell'esposizione umana sono state finora basate su criteri diversi. Il monitoraggio dell'esposizione sul luogo di lavoro, ad esempio, richiede tecniche di misura robuste, compatte, con costi moderati e rilevanti per il confronto con gli standard esistenti. La misura gravimetrica della concentrazione rappresenta la continuità con l'approccio al monitoraggio storico ed attuale, ma risulta molto poco sensibile nel caso delle PUF.

Nella **Tabella 4** vengono indicati i potenziali sistemi di campionamento ed analisi per i diversi tipi di PN e le loro principali caratteristiche.

I campioni di aerosol possono essere prelevati con sistemi che selezionano la frazione inalabile, la toracica e la respirabile. Poiché le attuali conoscenze suggeriscono che le regioni di scambio gassoso sono potenzialmente più suscettibili alle PN (51, 52), la frazione da prelevare dovrebbe essere quella respirabile.

Tale determinazione di massa (associata eventualmente alla sua caratterizzazione chimica), tuttavia, non fornisce informazioni sul numero, le dimensioni, e la superficie, ma può essere utilizzata come una misura surrogata, se si possiedono informazioni sulla distribuzione dimensionale o sull'area superficiale specifica (63).

L'uso dei sistemi ad impatto convenzionali per la determinazione dell'esposizione alle PN (o PUF) risulta limitato, in quanto la dimensione limite di impatto è situata in pratica tra 200 e 300 nm. Esistono impattori a bassa pressione del tipo ELPI (www.dekati.com), il quale campiona le particelle dopo averle caricate elettricamente.

La loro carica in ogni stadio di impatto viene misurata da un elettrometro multicanale. Un sistema simile (nano-MOUDI) è stato introdotto recentemente sul mercato (<http://appliedphysicsusa.com/moudi.asp>). Questi strumenti possono misurare particelle fino a circa 10 nm, ma come prelevatori statici, poiché le loro dimensioni e complessità precludono l'utilizzo come campionatori personali.

Attualmente, tuttavia, è disponibile sul mercato (distribuito dalla SKC) un tipo di impattore personale che fornisce una dimensione di taglio a 250 nm (64) e potrebbe essere usato per approssimare la misura della concentrazione di massa di PN nella zona respiratoria del lavoratore.

Questi strumenti offrono il vantaggio di consentire la caratterizzazione chimico-fisica delle particelle raccolte sui singoli substrati, ma hanno la limitazione di non discriminare gli agglomerati di PN da singole particelle con le stesse dimensioni.

La concentrazione numerica di particelle aerodisperse a partire da 10 nm risulta relativamente semplice da misurare mediante i contatori a condensazione (Condensation Particle Counters-CPC) e può essere estesa senza difficoltà fino a 3 nm. Questi sistemi convogliano le particelle entranti in una camera sovrasatura di vapore (alcol butilico, isopropilico), in tal modo sulle particelle più piccole si ha la formazione di goccioline da 100 a 1000 volte maggiori delle dimensioni iniziali delle particelle (65). Le goccioline, quindi, attraversano un sensore ottico che misura l'attenuazione della luce ed i risultati vengono convertiti in concentrazione.

Questi strumenti vengono largamente utilizzati per la misura delle PUF nell'atmosfera urbana (6, 7, 8, 9). Poiché questi sistemi non forniscono la separazione in classi

dimensionali (salvo l'eventuale selezione all'ingresso), risulta difficile distinguere tra diverse sorgenti di PN generate dai singoli processi, o tra queste e quelle presenti nel fondo dell'ambiente. Queste limitazioni sono state evidenziate nel recente studio in un impianto per la produzione di nero di carbone (66). Malgrado ciò, l'utilizzo di queste misure, eseguite vicino alle potenziali sorgenti, è stato proposto per l'identificazione grezza delle PN emesse dalle sorgenti lavorative (10).

I dispositivi di questo tipo sono utilizzabili solo in modo statico, ma recentemente è disponibile un tipo portatile che opera in un intervallo da 10-1000 nm ed a concentrazioni fino a 10^5 p/cm³ (www.tsi.com).

Strumenti che forniscono ambedue le informazioni sul numero e le dimensioni sono oggi disponibili commercialmente. Benchè siano più complessi e costosi, gli Scanning Mobility Particle Sizers (SMPS) consentono la misura della distribuzione dimensionale approssimativamente da 3 nm a 800 nm (68; www.tsi.com). Questi dispositivi operano fornendo una carica elettrostatica alle particelle e separandole in funzione della loro mobilità elettrica tramite il passaggio tra due elettrodi o tra una nube di ioni generati da una sorgente radioattiva. Le particelle così separate vengono conteggiate mediante un CPC. La più recente versione di questo tipo di strumentazione, il Fast Mobility Particle Sizer (FMPS), consente di ottenere la distribuzione dimensionale ancora più rapidamente (in pochi secondi, rispetto a qualche minuto dello SMPS) e, grazie ad una serie di elettrometri come sensori della carica delle particelle, evita l'uso della sorgente radioattiva.

Le tecniche finora descritte, benchè sensibili per la determinazione di particelle con dimensioni di qualche nanometro, sono limitate nella loro capacità di distinguere le singole PN da quelle formate da agglomerati di particelle più piccole.

Diversi studi tossicologici supportano la necessità di misurare l'area superficiale delle PN, in quanto maggiormente correlata con i potenziali effetti biologici (56, 68). Tradizionalmente questo parametro viene misurato con la tecnica analitica BET (Brunauer-Emmet-Teller), che viene applicata ai materiali pulverulenti in massa, sfruttando le caratteristiche di assorbimento di gas quali azoto, kripton, argon. I campioni forniti dal monitoraggio (su filtri o substrati) negli ambienti lavorativi non consentono di ottenere una massa sufficiente per questo tipo di analisi, che potrebbe, invece, avere un ruolo in una complessiva strategia di monitoraggio se applicato al materiale in massa entrante nel processo lavorativo in esame.

Lo strumento che attualmente consente la misura diretta dell'area superficiale delle particelle aerodisperse è l'epifaniometro (69). Esso misura la quantità di radioattività generata da ioni aderenti alla superficie delle particelle, la quale risulta proporzionale all'area superficiale attiva, almeno per dimensioni inferiori a 100 nm. L'epifaniometro, non risulta adatto ad un largo utilizzo negli ambienti lavorativi a causa della sua dipendenza da una sorgente radioattiva.

Strumenti di più recente generazione (*diffusion chargers* o elettrometri a carica diffusa) potrebbero trovare un uso più largo in ambienti lavorativi, in quanto basati sullo stesso principio del precedente dispositivo, ma operanti con la generazione e l'adesione di ioni positivi unipolari alla superficie delle particelle di aerosol (70).

Tali strumenti sono soggetti a possibili errori se le particelle aerodisperse sono dotate di cariche preesistenti o multiple, tuttavia studi di laboratorio hanno mostrato una buona correlazione con le misure di area superficiale derivate dall'esame in TEM per particelle < 100 nm (71), mentre una recentissima versione di questo tipo di strumento ha fornito dati che correlano bene con l'area superficiale delle particelle depositate nel tratto respiratorio umano (72).

Per la misura dell'area superficiale è possibile partire dalle informazioni sulla distribuzione dimensionale, in quanto è stata dimostrata l'associazione tra il diametro di

mobilità delle particelle e l'area superficiale nel campo del cammino libero molecolare (71, 73). In tal modo può essere effettuata una stima ragionevole dell'area superficiale, partendo dalla distribuzione dimensionale che abbia un diametro modale fino a 100 nm (56). Questo approccio, tuttavia, richiede strumentazione e sistemi di calcolo difficilmente applicabili al monitoraggio sistematico dell'esposizione.

Infine una tecnica comunemente usata per la misura dell'area superficiale delle PN è la microscopia elettronica a trasmissione (TEM). Essa fornisce una misura areale della proiezione delle particelle, che può non rappresentare l'effettiva tridimensionalità delle stesse, ed inoltre è una tecnica *off-line*.

Una considerazione particolare merita la strategia per la valutazione dell'esposizione alle PUF negli ambienti lavorativi. Attualmente le stime dell'esposizione personale vengono derivate da misure ottenute con strumenti statici. Per un'affidabile interpretazione dei risultati è essenziale identificare tutte le potenziali sorgenti di PUF, interne all'ambiente lavorativo ed esterne, registrare il regime di correnti d'aria, e gli spostamenti dell'addetto rispetto alle sorgenti ed alla posizione dello strumento (74).

Conclusioni

Benchè le caratteristiche delle PUF e delle PNC possano sostanzialmente differire, i principi tossicologici e dosimetrici derivati dagli studi esistenti dovrebbero essere considerati rilevanti per ambedue le classi di particelle. Tra queste caratteristiche, l'area e l'attività di superficie, il numero di particelle e la loro solubilità sembrano costituire migliori parametri anticipatori del potenziale rischio rispetto alla massa.

Malgrado i moderni sviluppi della tecnologia offrano strumentazioni in grado di misurare gran parte dei parametri considerati più significativi, le caratteristiche di questi strumenti non ne consentono l'uso personale, inoltre la determinazione simultanea di più caratteristiche richiede l'impiego contemporaneo di apparecchiature multiple. Per il momento è necessario operare disegnando un'appropriata strategia di campionamento che tenga conto delle limitazioni interpretative per la stima dell'esposizione basata su campionamenti di area.

Uno strumento propedeutico, utile a caratterizzare l'esposizione, ma anche a supportare le ricerche riguardanti i fondamentali aspetti che regolamentano la tossicità delle PN (intenzionali e non intenzionali), appare la creazione di una banca di materiali ben caratterizzati in termini di proprietà chimico-fisiche, che dovrebbe essere resa disponibile ai ricercatori. A tali fini meritano particolare attenzione le iniziative attualmente in corso nell'ISO da parte dei comitati tecnici (TC) 146 e 229.

Bibliografia

1. Oberdörster G, RM Gelein, J Ferin, B Weiss. Association of particulate air pollution and acute mortality: involvement of ultrafine particles ? *Inhal Toxicol* 1995; 7, 111-124.
2. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. The Royal Society and the Royal Academy of Engineering, 2004 (<http://www.nanotec.org.uk/>).
3. World Health Organization (WHO) 2004. Health aspects of air pollution results from the WHO project "Systematic review of health aspects of air pollution in Europe". WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, WHO 2004.

4. International Standardization Organisation (ISO) (2005). Workplace Atmospheres-Ultrafine, nanoparticle and nano-structured aerosol-Exposure characterization and assessment. Working document ISO/TC 146/SC 2 N 399, 15.12.2005.
5. Zimmer AT. The influence of metallurgy on the formation of welding aerosols. *J Environ Monit* 2002; 4, 628-632.
6. Kim S, S Shen, C Sioutas, Y Zhu, W Hinds. Size distribution and diurnal and seasonal trends of ultrafine particles in source and receptor sites of the Los Angeles Basin. *J Air Waste Manag Assoc* 2002; 52, 297-307.
7. Zhu, Y., Hinds, W.C., Kim, S., Sioutas, C. Concentration and size distribution of ultrafine particles near a major highway. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 2002; 52(9), 1032-42.
8. Aalto P, P Paatero, M Kulmala, K Hameri, F Forastiere, G Cattani, A Marconi, J Cyrus, S Von Lot, K Zetzsche, A Peters, L Bouso, G Castano-Vinyals, J Sunyer, T Lanki, J Pekkanen, B Sjobvall, N Berglund, T Bellander, F Nyberg. Aerosol number concentration measurements in five European cities using TSI-3022 condensation particle counter over three year period during HEAPSS (Health Effects of Air Pollution on Susceptible Subpopulations). *J Air Waste Manag Assoc* 2005; 55, 1064-1076.
9. Marconi A, G Cattani, M Cusano, M Ferdinandi, M Inglessis, G Viviano, G Settimo F Forastiere. Two years fine and ultrafine particles measurements in Rome, Italy. In: *Strategies for Clean Air and Health*, Proceedings of AIRNET Annual Conference/NERAM International Colloquium, November 5-7, 2003, Rome, Italy. Eds. L.Craig, D. Krewski, J.Shortreed, J. Samet, Waterloo, Ontario, 2005; 35-46.
10. Brouwer DH, JH Gijbbers, MW Lurvink. Personal exposure to ultrafine particles in the workplace: exploring sampling techniques and strategies. *Ann Occup Hyg* 2004; 48 (5), 439-453.
11. Health and Safety Executive (HSE). Nanoparticles: An occupational hygiene review. Research report 274, 2004 (<http://www.hse.uk>)
12. Maynard AD. and ED. Kuempel. Airbone nanostructured particles and occupational health. *Journal of Nanoparticle Research* 2005; 7, 587-614.
13. Sioutas C; RJ Delfino, M Singh. Exposure assessment for atmospheric ultrafine particles (UFPs) and implications in epidemiologic research. *Environ Health Perspect* 2006; 113(8), 947-955.
14. National Cancer Institute. Cancer nanotechnology-Going Small for Big Advances. NIH Publication No. 04-5489, January 2004 (<http://otir.nci.nih.gov/>)
15. NIOSH. Approaches to Safe Nanotechnology, an Information Exchange with NIOSH, CDCP, October 1, 2005.

16. Environmental Protection Agency (EPA): External Review Draft Nanotechnology White Paper. EPA 2005. (<http://www.epa.org>).
17. European Commission. Towards a European Strategy for Nanotechnology COM(2004) 338, EC, Bruxelles, 2004.
(<http://.cordis.lu/nanotechnology/src/communication.htm>)
18. Borm PJ. Hazards and risks of nanomaterials: a look forward. In: First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials-Nanomaterials: a risk to health at work ? 12-14 October 2004, Buxton, UK, 2004.
19. Lee KP, HJ Trochimowicz, CF Reinhardt. Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 79, 179-192.
20. Oberdörster G and C Yu. The carcinogenic potential of inhaled diesel exhaust: a particle effect ? *J Aerosol Sci* 1990; 21, S397-S401.
21. Oberdörster G, J Ferin, BE Lehnert. Correlation between particle-size, in-vivo particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect* 1994; 102, 173-179.
22. Heinrich U, R Fuhst, S Rittinghausen, O Creutzenberg, B Bellman, W Koch, K Levsen. Chronic inhalation exposure of wistar rats and two different strains of mice to diesel-engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhal Toxicol* 1995; 7(4), 533-556.
23. Renwick LC, D Brown, A Clouter, K Donaldson. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic response caused by two ultrafine particle type. *Occup Environ Med* 2004; 61, 442-447.
24. Geiser M, B Rothen-Rutishauser, N Kapp, S Schürch, W Kreyling, H Schulz, M Semmler, V Im Hof, J Heyder, P Gehr. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and cultured cells. *Environ Health Perspect* 2005; 113, 1555-1560.
25. Kreiss K, MM Mroz, B Zhen, H Wiedemann, B Barna. Risks of beryllium disease related to work processes at a metal, alloy, and oxide production plant. *Occup Environ Med* 1997; 54 (8), 605-612.
26. Gardiner K, M van Tongeren, M Harrington. Respiratory health effects from exposure to carbon black: results of the phase 2 and 3 cross sectional studies in the European carbon black manufacturing industry. *Occup Environ Med* 2001; 58 (8), 496-503.
27. Antonini JM, AB Lewis, JR Roberts, DA Whaley. Pulmonary effects of welding fumes: review of worker and experimental animal studies. *Am J Ind Med* 2003; 43, 350-360.
28. Steenland K, J Deddens, L Stayner. Diesel exhaust and lung cancer in the trucking industry: exposure-response analyses and risk assessment. *Am J Ind Med* 1998; 34 (3), 220-228.

29. Garshick E, F laden, JE Hart, B Rosner, TJ Smith, DW Dockery, FE Speizer. Lung cancer in railroad workers exposed to diesel exhaust. *Environ Health Perspect* 2004; 112 (15), 1539-1543.
30. Kim JY, JC Chen, PD Boyce, DC Christiani. Exposure to welding fumes is associated with acute systemic inflammatory response. *Occup Environ Med* 2005; 62, 157-163.
31. Peters A, H R Wichmann, T Tuch, J Heinrich, J Heyder. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1997; 155, 1376-1383.
32. Wichmann HE, Peters A. Epidemiological evidence of the effects of ultrafine particle exposure. *Phil. Trans. R. Soc. London* 2000; A358, 2751-2769.
33. Penttinen P, KL Timonen, P Tittanen, A Mirme, J Ruuskanen, J Pekkanen. Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. *Eur Respir J* 2001; 17, 428-435.
34. Ibald-Mulli A, HE Wichmann, W Kreyling, A Peters. Epidemiological evidence on health effects of ultrafine particles. *J Aerosol Med* 2002; 15, 189-201.
35. Pope CA, RT Burnett, MJ Thun, EE Calle, E Krewski, K Ito, GD Thurston. Lung cancer, cardiopulmonary mortality and long term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 2002; 287 (9), 1132-1141.
36. Pope CA, RT Burnett, GD Thurston, MJ Thun, EE Calle, D Krewski, JJ Godleski. Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation* 2004; 109 (1), 71-74.
37. Stafoggia M, S Picciotto, F Forestiere, D D'Ippoliti, G Cattani, A Marconi, C Perucci. Inquinamento atmosferico ed eventi coronarici fatali e non fatali a Roma. *Epid Prev* 2005; 29 (1), 40-47.
38. Lagorio S, F Forastiere, R Pistelli, I Iavarone, P Michelozzi, V Fano, A Marconi, G Ziemacki, B Ostro. Air pollution and lung function among susceptible adult subjects: a panel study. *Environ Health: A Global Access Science Source* 2006; 5, 11 (<http://www.ehjournal.net/content/5/I/II>)
39. Sun Q, A Wang, X Jin, A Natanzon, D Duquaine, RD Brook, JS Aguinaldo, ZA Fayad, V Fuster, M Lippmann, LC Chen, S Rajagopalan. Long-term air pollution exposure and acceleration of atherosclerosis and vascular inflammation in animal model. *JAMA* 2005; 294, 3003-3010.
40. Vineis P, F Forastiere, G Hoek, M Lipsett. Outdoor air pollution and lung cancer: recent epidemiologic evidence. *Int J Cancer* 2004; 111, 647-652.
41. Warheit DB, BR Laurence, KL Reed, DH Roach, GA Reynolds, TR Webb. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol Sci* 2004; 77, 117-125.

42. Lam CW, JT James, R McCluskey, RL Hunter. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci* 2004; 77, 126-134.
43. Huczko A, H Lange, E Calko, H Grubeck-Jaworska, P Droszez. Physiological testing of carbon nanotubes: Are they asbestos-like ? *Fullerene Sci Technol* 2001; 9 (2), 251-254.
44. Montiero-Riviere NA, RJ Nemanich, AO Inman YW Yunyu, JE Riviere. Multi-walled carbon nanotubes interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett* 2005; 155 (3), 377-384.
45. Donaldson K, R Aitken, L Tran, V Stone, R Duffin, G Forrest, A Alexander. Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicol Sci* 2006; 92 (1), 5-22.
46. Nemmar A, PH Hoet, B Vanquickenborne, D Dinsdale, M Thomeer, MF Hoylaerts, H Vanbilloen, L Mortenlmans, Nemery (2002). Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 105, 411-414.
47. Oberdörster G, Z Sharp, V Atudorei, A Elder, R Gelein, W Kreyling, C Cox. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004; 16 (6-7), 437-445.
48. Oberdörster G, E Oberdörster, J Oberdörster. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 2005; 113 (7), 823-839.
49. Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. *Environ Health Perspect* 2004; 112, 1058-1062.
50. Samet JM, DM DeMarini, HV Malling. Do airborne particles induce heritable mutations ? *Science* 2004; 304, 971-972.
51. International Commission on Radiological Protection-ICRP (1994). Human respiratory tract model for radiological protection. Oxford, England: Pergamon, Elsevier Science Ltd., ICRP Publication No. 66.
52. Yeh HC, RG Cuddihy, RF Phalen, IY Chang. Comparison of calculated respiratory-tract deposition of particles based on the proposed NCRP model and the new ICRP 66 model. *Aerosol Scie Technol* 1996; 25, 134-140.
53. Zhang Z, C Kleinstreuer, JF Donohue, CS Kim. Comparison of micro- and nano-size particle depositions in a human upper airway model. *J Aerosol Sci* 2005; 36, 211-233.
54. Maynard AD, PA Baron, M Foley, AA Shvedova, ER Kisin, V Castranova. Exposure to carbon nanotube material: Aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotube material. *J Toxicol Environ Health* 2004; 67(1), 87-107.
55. McCawley MA, MS Kent, MT Berakis. Ultrafine beryllium number concentration as a possible metric for chronic beryllium disease risk. *Appl Occup Environ Hyg* 2001; 16(5), 631-638.

56. Maynard AD and AT Zimmer. Evaluation of grinding aerosols in terms of alveolar dose: The significance of using mass, surface-area and number metrics. *Ann Occup Hyg* 2002; 46 (Suppl. 1), 320-322.
57. Dasch J, J D'Arcy, A Gundrum, J Sutherland, J Johnson, D Carlson. Characterization of fine particles from machining in automotive plants. *J Occup Environ Hyg* 2005; 2, 609-625.
58. Peters TM, WA Heitbrink, DE Evans, TJ Slavin, AD Maynard. The mapping of fine and ultrafine particle concentrations in an engine machining and assembly facility. *Ann Occup Hyg* 2006; 50(3), 249-257.
59. Ramachandran G, D Paulsen, W Watts, D Kittelson. Mass, surface area and number metrics in diesel occupational exposure assessment. *J Environ Monit* 2006; 7, 728-735.
60. Thomassen Y, W Koch, W Dunkhorst, DG Ellingsen, NP Skaugset, L Jordbekken, PA Drabløs, S Weinbruch. Ultrafine particles at workplaces of a primary aluminium smelter. *J Environ Monit* 2006; 8, 127-133.
61. Möhlmann C. German activity on the ultra-fine particles in the workplaces. In: First International Symposium on Occupational Health Implications of Nanomaterials- Nanomaterials: a risk to health at work ? 12-14 October 2004, Buxton, UK, 2004.p. 128-130.
62. Vincent JH. Health-related aerosol measurement: a review of existing sampling criteria and proposal for new ones. *J Environ Monit* 2005; 7, 1037-1053.
63. Maynard AD. Estimating aerosol surface area from number and mass concentration measurements. *Ann Occup Hyg* 2003; 47 (2), 123-144.
64. Misra C, M Singh, S Shen, C Sioutas, PM Hall. Development and evaluation of a personal cascade impactor sampler (PCIS). *J Aerosol Sci* 2002; 33 (7), 1027-1048.
65. McMurry PH. A review of atmospheric aerosol measurements. *Atmos Environ* 2000; 34, 1959-1999.
66. Kuhlbusch T.A.J., S. Neumann and H. Fissan. Number Size Distribution, Mass Concentration, and Particle Composition of PM₁, PM_{2.5} and PM₁₀ in Bag Filling Areas of Carbon Black Production. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 2004; 1, 660-671.
67. Flagan RC. Electrical techniques. In: Aerosol measurement: principles, techniques and applications, Baron PA and Willeke K. John Wiley & Sons, New York, 2001. pp. 537-568.
68. Moshhammer H; M Neuberger. The active surface of suspended particles as a predictor of lung function and pulmonary symptoms in Austrian school children. *Atmos Environ* 2003; 37, 1737-1744.
69. Baltensperger U, HW Gaggeler, DT Jost. The Epiphaniometer, a new device for continuous aerosol monitoring. *J Aerosol Sci* 1988; 19 (7), 931-934.

70. Keller A, M Fierz, K Siegmann, HC Siegmann, A Fillippov. Surface science with nanosized particles in a carrier gas. *J Vacuum Sci Technol a Vacuum Surface Films* 2001; 19 (1), 1-8.
71. Ku BK and AD Maynard (2005). Comparing aerosol surface-area measurement of monodisperse ultrafine silver agglomerates using mobility analysis, transmission electron microscopy and diffusion charging. *J Aerosol Sci.* In press. Disponibile on-line (www.elsevier.com).
72. Wilson WE. Use of the electrical aerosol detector as an indicator for the total particle surface area deposited in the lung. In : Proceedings of the 2004 Air and Waste Management Association Conference.
73. Rogak SN, RC Flagan, HV Nguyen. The mobility and structure of aerosol agglomerates. *Aerosol Sci Technol* 1993; 18 (1), 25-47.
74. Marconi A, C. Fanizza, G. Castellet Y Ballarà. Particelle ultrafini e nanoparticelle negli ambienti di lavoro e nell'atmosfera urbana: tecniche di misura convenzionali ed avanzate. In: 12° Convegno di Igiene Industriale, Le Giornate di Corvara, 27-29 marzo, 2006.

Tabella 1. Diversi tipi e sorgenti occupazionali di Particelle Nanometriche (PN)/Ultrni (UF), non esaustiva.

Sorgente di PN/UF	Tipologia di particelle PN/UF	Applicazione/uso
Combustione (non intenzionali)	Particelle emesse da motori (diesel, benzina). Ceneri volanti	Varie attività lavorative (inquinamento atmosferico)
Processi a caldo (non intenzionali)	Particelle metalliche da saldatura o fusione. Particelle prodotte da processi meccanici ad alta velocità	Varie operazioni lavorative
UF/PN artificiali in massa (intenzionali)	TiO ₂ Nero di carbone Silice amorfa (<i>fumed</i>) Allumina, Ossidi di Fe	Cosmetici Pigmenti, pneumatici, toner; Pitture, riempitivi
PN costruite (intenzionali)	Nanotubi di C Fullereni Nanofilamenti Nanocristalli Ossidi ceramici, metalli	Somministrazione di farmaci, materiali compositi, rinforzo, componenti elettronici, schermi elettromagnetici, monitor piatti, batterie.

Figura 1: Deposizione nell'organo respiratorio; ET: extratoracica; Bb: bronchiale; Al: alveolare

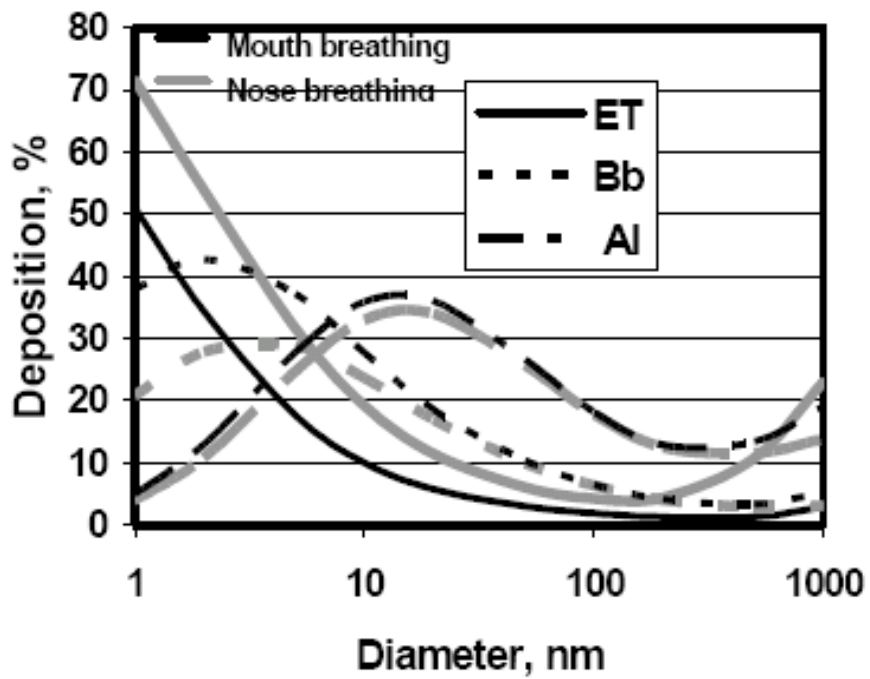


Tabella 2. Livelli tipici di concentrazione di PUF associati a varie attività lavorative (riadattato da Möhlmann, 2004).

Attività lavorative	Concentrazione numerica di particelle totali nell'intervallo 14-673 nm (p/cm ³)	Intervallo dimensionale con il massimo di concentrazione (nm)
Aria esterna/interna pulita	≤ 10.000	
Fusione della silice	100.000	280-520
Rettifica di metalli	≤ 130.000	17-170
Saldatura	≤ 400.000	36-64
Taglio al plasma	≤ 500.000	120-180
Cottura al forno	≤ 640.000	32-109
Motore di aeroplano (aeroporto)	≤ 700.000	< 45
Saldatura a forte	54.000 - ≤ 3.500.000	33-126
Saldatura a raggio laser	1000 - ≤ 40.000.000	40-600

Tabella 3: Rischi di potenziale esposizione nei processi produttivi di PN costruite/intenzionali

Processi di sintesi	Formazione delle particelle	Rischi potenziali di inalazione	Rischio cutaneo potenziale / rischio di ingestione
Da fase gassosa	In aria	Dispersione diretta dal reattore; Recupero del prodotto; Lavorazioni successive al recupero e imballaggio	Contaminazione da p. aerodisperse nell'ambiente di lavoro; Manipolazione del prodotto Pulizia / manutenzione dell'impianto
Da fase vapore	Sul substrato	Recupero del prodotto Lavorazioni successive al recupero e imballaggio	Contaminazione da polveri asciutte nell'ambiente di lavoro; Manipolazione del prodotto Pulizia / manutenzione dell'impianto
Colloidale	Sospensione liquida	Essiccamento del prodotto Lavorazione e travaso	Travaso/ Contaminazione dell'ambiente di lavoro; Manipolazione del prodotto Pulizia / manutenzione dell'impianto
Attrito meccanico	Sospensione liquida	Essiccamento del prodotto Lavorazione e travaso	Travaso/ Contaminazione dell'ambiente di lavoro; Manipolazione del prodotto Pulizia / manutenzione dell'impianto

Tabella 4 - Metodi per la misura di PN/UF

Misura	Metodo	Commento
Massa	Campionatore personale con separazione in classi dimensionali	Attualmente non esiste un dispositivo che campioni la frazione con un taglio nell' intervallo dimensionale del nanometro ma potrebbe essere sviluppato. Un dispositivo statico potrebbe superare i problemi di campionamento
Numero	Contatore Ottico di Particelle (<i>Optical Particle Counter</i>)	Non rilevabili particelle inferiori ai 300 nm
	Contatore di Particelle a Condensazione (<i>Condensation Particle Counter</i>)	Analisi in tempo reale di particelle da circa 7 nm fino ai 100 nm
	Misuratore di Particelle a Scansione di Mobilità (<i>Scanning Mobility Particle Sizer</i>)	Analisi in tempo reale e suddivisione delle particelle in classi dimensionali, si basa sulla mobilità elettrica delle particelle, intervallo da 3 a 800 nm
	ELPI (<i>Electrical Low Pressure Impactor</i>)	Analisi in tempo reale si basa sulla separazione inerziale e la carica delle particelle. Misura della concentrazione numerica. Raccolta dei campioni
Area di superficie	Epifaniometro	Misura la radioattività indotta delle particelle che è proporzionale all'area superficiale attiva
	Caricatori a diffusione (<i>Diffusion chargers</i>)	Misura dell'area superficiale attiva sotto 100nm in funzione dell'aderenza alla superficie di ioni positivi. Necessitano di preseparatori
Analisi d'immagine	Brunauer-Emmet-Teller (BET)	Si basa sulla misura dell'assorbimento di un gas (N ₂) sulla superficie delle particelle
	Microscopia elettronica a scansione (SEM) Microscopia elettronica a trasmissione (TEM)	Analisi indiretta dell'area proiettata delle PN. I campioni possono essere raccolti da campionatori personali o da campionatori statici a selezione dimensionale