



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TRIESTE
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI UDINE



DIPARTIMENTO DI AREA MEDICA
Corso di Laurea Interateneo

Tecniche della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro

TESI DI LAUREA

**Valutazione della contaminazione ambientale e dell'esposizione
cutanea a Nanoparticelle di Arseniuro di Gallio in un Laboratorio
di Ricerca**

LAUREANDA:
Ambra Lorenzini

RELATRICE:
Dott.ssa Francesca Larese Filon

CORRELATORE:
Dott. Marco Rizzo

ANNO ACCADEMICO 2022 / 2023

*Ai mei Genitori per avermi sostenuto
durante tutto il percorso, e, per aver
creduto sempre in me*

Sommario

ABSTRACT	3
1 INTRODUZIONE.....	4
1.1 Le Nanoparticelle	4
1.2 Parametri che influiscono sulla tossicità	9
1.3 Arseniuro di Gallio	11
1.4 Arsenico.....	13
1.5 Gallio	14
1.6 Valutazione complessiva	15
1.7 Vie di esposizione a Nanoparticelle	15
1.7.1 Contatto cutaneo.....	16
1.8 Pratiche di lavoro.....	17
1.9 Contesto normativo	18
2. SCOPO DELLA TESI	20
3. MATERIALI E METODI.....	20
3.1 Il laboratorio	20
3.2 Monitoraggio ambientale	26
3.2.1 Tape strip	26
3.2.2 Ghost Wipes	26
3.2.3 Procedura di campionamento	27
3.3 Monitoraggio Biologico	34
4. RISULTATI.....	35
5. DISCUSSIONE.....	44
6. CONCLUSIONE	46
7. BIBLIOGRAFIA	48

ABSTRACT

La possibilità di poter modulare le proprietà del materiale regolandone dimensioni, forma o eventuali funzioni, ha suscitato l'interesse del mondo scientifico nei confronti dei materiali su nano scala, con il tentativo di trovare vie di sintesi sempre più versatili e in grado di modulare ad hoc le caratteristiche dei prodotti.

Lo scopo di questa tesi è svolgere una valutazione della contaminazione ambientale e dell'esposizione cutanea a Nanoparticelle di Arseniuro di Gallio nell'ambito di un laboratorio di ricerca in cui viene effettuata la produzione di film sottili di GaAs mediante tecnica MBE (Molecular Beam Epitaxy).

Per valutare la contaminazione delle superfici in alcuni uffici e nel laboratorio, sono stati utilizzati 45 Ghost Wipes (18 negli uffici e 27 in Laboratorio); per l'esposizione cutanea sono stati fatti 10 Tape Strip sul polso destro del Lavoratore. Infine, per il monitoraggio biologico, sono stati raccolti campioni di urine del lavoratore esposto, all'inizio e alla fine del turno lavorativo, per la ricerca di Ga e As, e sottoposto tutti i campionamenti ad analisi chimiche. Le analisi hanno dimostrato la presenza di Arsenico e Gallio sulle superfici in Laboratorio, specialmente, sul bancone dove avviene la manipolazione e il taglio del film sottile, sul pavimento sotto cappa, nella maschera facciale dell'operatore, sul microscopio e sul pavimento sotto il Load Lock (parte dell'MBE dove viene estratto il campione). Dai Tape si evince che i livelli di contaminazione di Arsenico e Gallio sono risultati mediamente inferiori la mattina rispetto che al pomeriggio, e, c'è una maggior concentrazione di Ga rispetto ad As. Per quanto riguarda le urine, durante la settimana si sono riscontrati valori di concentrazione dell'Arsenico al di sotto del BEI, che corrisponde a $35\mu\text{g/L}$, ad esclusione di un giorno, dove si è presentato un picco che supera di gran lunga il limite.

In conclusione, questo studio ha evidenziato la presenza di Gallio e Arsenico, sia sulle superfici, sia sulla cute e nelle urine, per questi motivi è necessario assumere un adeguato protocollo per la pulizia delle superfici e dei pavimenti, utilizzare correttamente i DPC e i DPI, al fine di ridurre la contaminazione.

1 INTRODUZIONE

1.1 Le Nanoparticelle

NIOSH definisce i nano oggetti come materiali che hanno almeno una dimensione (ad es. lunghezza, larghezza, altezza e/ o diametro) compresa nell'intervallo tra 1 e 100 nanometri. I nanomateriali ingegnerizzati presentano quindi un elevato rapporto superficie/volume e peculiari conformazioni strutturali che consentono di conferire particolari proprietà chimiche, fisiche e meccaniche che risultano differenti da quelle degli stessi materiali non in forma nanometrica.

L'interesse del mondo scientifico/industriale verso le nanoparticelle deriva dalle loro numerose possibili applicazioni; possono essere interessanti per il settore elettronico, nell'imaging biomedicale, nella sensoristica, nei supporti magnetici etc. La possibilità di poter modulare le proprietà del materiale regolandone dimensioni, forma o eventuali funzioni, ha suscitato l'interesse del mondo scientifico nei confronti di questo tipo di materiali, con il tentativo di trovare vie di sintesi sempre più versatili e in grado di modulare ad hoc le caratteristiche dei prodotti. Quando le particelle cambiano le dimensioni, cioè vengono ridotte a scala nanometrica, le loro proprietà fisiche e chimiche sembrano cambiare, risultando completamente diverse rispetto a prima. Ad esempio, le particelle di biossido di titanio perdono il loro colore bianco e su nanoscala diventano incolori; altri tipi di particelle possono diventare conduttive oppure sostanze poco solubili con la riduzione delle dimensioni possono aumentare la loro solubilità.

Per quanto riguarda gli ambienti di lavoro, l'origine delle nanoparticelle si può dividere in due gruppi, in base al processo di origine:

- Processi in cui queste vengono intenzionalmente prodotte (le cosiddette nanoparticelle ingegnerizzate);
- Processi in cui vengono create come sottoprodotto in maniera accidentale (nanoparticelle incidentali) (Van Broekhuizen et al., 2012);

Inoltre i nanomateriali vengono classificati in:

- Nanopiastre: nano-oggetti con una dimensione esterna in scala nanometrica;
- Nanofibre: nano-oggetti con due dimensioni esterne in scala nanometrica;
- Nanoparticelle: nano-oggetti con tre dimensioni esterne in scala nanometrica;

I nanomateriali ormai vengono impiegati in una vasta gamma di settori produttivi: dall'elettronica, al settore edile, all'ambito chimico-farmaceutico fino ad arrivare alle produzioni agroalimentari. Ciò include la produzione di materiali più resistenti e leggeri, la costruzione di computer con maggiore potenza e velocità, la purificazione dell'acqua, il miglioramento della generazione di energia, il suo contenimento e conservazione nelle batterie e il suo flusso nei cavi e chip, l'ingegneria di nuovi dispositivi medici per la diagnosi e trattamento, questi sono solo alcuni dei vari usi che vengono fatti.

Dato l'improvviso aumento di queste applicazioni in vari ambiti, di conseguenza si è verificato anche l'aumento della preoccupazione per la potenziale tossicità sull'uomo e sull'ambiente. C'è da dire che il rischio di entrare in contatto con questo tipo di particelle è drammaticamente più alto negli impianti industriali e nelle strutture di ricerca, rispetto ad altri contesti. Gli effetti sulla salute umana rimangono ancora poco chiari per la mancanza di un'esposizione realistica e di dati epidemiologici (Murugadoss et al., 2017). Perciò una delle cose fondamentali è conoscere il numero di lavoratori esposti ma, a causa dell'estrema diffusione delle nanotecnologie è davvero impegnativo ottenere informazioni precise a riguardo. Nel 2008 è stato stimato che il numero totale di lavoratori coinvolti nelle diverse aree che coinvolgono le nanotecnologie, fosse di circa 400.000 e nel 2020 questo numero è arrivato a toccare, a livello mondiale, circa 6 milioni (Roco et al., 2011). Attualmente c'è un'assenza di OEL (limite di esposizione professionale) a livello europeo presumibilmente perché mancano ancora le informazioni per determinarli, e in generale sono stati fissati OEL a livello di Unione Europea solo per alcune categorie di sostanze attualmente impiegate sul posto di lavoro: tali valori limite vincolanti e/o indicativi sono indicati nelle direttive UE. Il NIOSH ha definito dei valori limite di esposizione per nanotubi e nanofibre di carbonio [REL di $1\mu\text{g}/\text{m}^3$ fino a 8 ore di lavoro], argento [REL (limite di esposizione raccomandato) di $0,9\mu\text{g}/\text{m}^3$ come concentrazione TWA respirabile a 8 ore] e biossido di titanio [REL di $0,3\text{mg}/\text{m}^3$ come concentrazioni TWA fino a 10 ore al giorno durante una settimana lavorativa di 40 ore]. Poiché non esistono limiti di esposizione per la maggior parte delle particelle su nano scala, e la metrica (numero, superficie e massa), in base alla quale il limite dovrebbe essere quantificato, è necessario applicare una combinazione di valutazione qualitativa e quantitativa per determinare se è avvenuto il rilascio di nano-materiali. Nello studio fatto da Asbach et al., 2017 è stato indicato che la tossicità delle nanoparticelle si correlerebbe più adeguatamente all'area di superficie depositata nei polmoni. Un programma di monitoraggio adeguato dovrebbe essere in grado di misurare diverse metodiche relative alla concentrazione di nanoparticelle e allo stesso tempo dovrebbe garantire la possibilità di raccogliere il campione su filtri per eseguire la successiva caratterizzazione di queste (Iavicoli et al., 2018). Poiché

attualmente non esiste un singolo strumento disponibile in commercio in grado di soddisfare questi requisiti, viene generalmente utilizzato un approccio di più strumenti per caratterizzare l'esposizione professionale. La combinazione più comune include strumenti portatili a lettura diretta (come per esempio Condensation Particle Counter (CPC) e Optical Particle Counter (OPC)) per rilevare le emissioni di campionamento accoppiato di nano-oggetti trasportati dall'aria (precipitatore elettrostatico (ESP), Precipitatore Termico (TP) o filtro) e successive analisi chimiche e microscopiche (SEM o TEM con Spettroscopia a Dispersione di Energia a Raggi X (EDS)) per l'identificazione delle particelle e la speciazione chimica.

A livello internazionale l'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico ha proposto una metodica armonizzata multi-metrica a più livelli. Questa è caratterizzata dallo svolgimento di una serie di indagini:

- 1) Condurre misurazioni in tempo reale nelle possibili zone di esposizione vicine e lontane da potenziali sorgenti, per caratterizzare l'evoluzione della distribuzione dimensionale nel tempo;
- 2) Utilizzo di criteri guida per valutare se le emissioni e l'esposizione delle nanoparticelle sono accettabili o se richiedono una valutazione aggiuntiva;
- 3) Identificazione delle posizioni di campionamento appropriate;
- 4) Documentazione degli eventi che succedono durante le misurazioni, comprese le posizioni, le attività e i comportamenti dei lavoratori ad altre attività;

Tutti i documenti che trattano le strategie di misurazione, identificano la necessità di un approccio a più livelli, per facilitarne la valutazione. Quello che è stato armonizzato si basa su tre livelli e, si incentra su metodi di misurazione consolidati, in grado di discriminare e quantificare i nano-oggetti ingegnerizzati dalle particelle di fondo, fornire risultati comparabili indipendentemente dai luoghi di lavoro oggetto di indagine. Il primo livello si concentra sulla raccolta di informazioni prima della valutazione in laboratorio o sul campo, al fine di valutare in modo efficace il possibile rilascio e l'esposizione a nano-materiali. Se non si esclude l'esposizione professionale, verrà eseguita un'indagine di secondo livello in loco. L'obiettivo è valutare l'ambiente lavorativo per il possibile rilascio e il rilevamento di concentrazioni elevate di particelle, mediante metodi di screening adeguati. Il terzo livello diventa necessario se non è ancora possibile escludere un'esposizione significativa. Saranno richieste misurazioni più estese. Questi livelli non necessariamente devono essere completati separatamente.

Primo livello:

Lo scopo del primo stadio è quello di raccogliere quante più informazioni possibili secondo le migliori pratiche stabilite in materia di igiene industriale sul luogo di lavoro considerato, comprese le attività che vengono svolte e i materiali utilizzati. In questa fase si svolge generalmente uno studio cartaceo, ma può includere una visita sul posto di lavoro per ispezionare potenziali luoghi in cui le nanoparticelle possono essere rilasciate nell'ambiente. Dovrebbero essere raccolte tutte le informazioni disponibili sul potenziale pericolo dei materiali manipolati, e verificare attentamente se le metodologie descritte nei livelli successivi sono sufficienti per rilevare l'esposizione critica. Nel caso in cui non siano sufficienti sarà necessario adottare ulteriori approcci alternativi; nei casi peggiori dovrà essere sviluppata una nuova metodologia. Le informazioni minime che dovrebbero essere raccolte sono:

- Informazioni relative al posto di lavoro tra cui: il tipo di ambiente lavorativo, la sua potenziale variabilità, il volume di nano-materiali prodotti, il volume della zona di produzione e della struttura in generale, l'ubicazione e il tipo di misure di controllo dell'esposizione;
- Informazioni relative ai nano-materiali presenti come: la loro composizione, qualsiasi pericolo noto o sospetto associato ad essi;
- Informazioni relative all'attività svolta sul posto di lavoro: processi e fasi di manipolazione, imballaggio, miscelazione e versamento all'aperto, sintesi ad alta temperatura in un sistema completamente chiuso, la presenza o l'assenza di ventilazione o correnti d'aria che potrebbero creare una pressione positiva o negativa, che potrebbe influire sulla strategia di rilevazione delle nanoparticelle aeree;

Dopodiché se la fase di analisi dei dati descritta precedentemente, rileva che il rilascio di nanoparticelle non può essere escluso, bisognerà procedere con il secondo livello.

Secondo livello:

L'obiettivo è condurre una valutazione di base dell'esposizione o del rilascio. Questo punto è il primo, nell'approccio armonizzato, che include misurazioni di laboratorio e/o sul campo. Si basa sull'esecuzione di una valutazione dell'esposizione di base utilizzando campionatori portatili di facile utilizzo per misurare la concentrazione di nanoparticelle aeree. È necessario l'utilizzo di

più strumenti, inclusa l'analisi in tempo reale e off-line, a meno che non sia nota la fonte di concentrazione e le corrispondenti caratteristiche delle particelle. Le parti chiave sono:

- Considerare lo scopo della valutazione dell'esposizione e selezionare strumenti in grado di misurare la metrica di esposizione appropriata, tenendo conto di eventuali limitazioni degli strumenti;
- Prima di qualsiasi attività di misurazione, tutti gli strumenti devono essere calibrati per garantire un'elevata qualità dei dati. Bisogna includere anche la pulizia del dispositivo, possibilmente da parte del fornitore;
- Considerare le attività sul posto di lavoro o le condizioni delle correnti d'aria (stabilite mediante pressione positiva o negativa) nel localizzare l'ingresso degli strumenti e registrare le attività temporizzate osservate per la correlazione con i risultati delle misurazioni;
- Esecuzione di misurazioni di fondo;
- Selezionare lo scenario di misurazioni in background più adatto alla situazione, incluso quello simultaneo o sequenziale;
- Considerare le variazioni interne rispetto a quelle esterne poiché l'aria filtrata in ingresso presenterà un fondo inferiore rispetto all'aria esterna;

La misurazione online della concentrazione delle particelle può essere accompagnata da un campionamento off-line, per ottenere una prova più definitiva della presenza o dell'assenza di nano-materiali nell'aria del posto di lavoro. L'analisi dei dati si concentra sui risultati dei dati ottenuti dalle misurazioni fatte in tempo reale. Questi dati devono essere analizzati per verificarne la stabilità e le eventuali fluttuazioni, quando sono stabili, è necessario calcolare e annotare la media e la deviazione standard per l'intera durata. In generale, la deviazione standard per le serie temporali di background dovrebbe essere dello stesso ordine di grandezza o inferiore alle deviazioni standard delle serie temporali di processo. Al contrario il campionamento off-line fornisce prove evidenti della presenza o assenza di nanoparticelle nell'ambiente di lavoro.

Terzo livello:

La finalità dell'ultimo livello è quello di ottenere quante più informazioni possibili al fine di determinare se l'esposizione può essere esclusa o se è necessario implementare ulteriori misure di gestione del rischio.

1.2 Parametri che influiscono sulla tossicità

I parametri che possono influenzare la tossicità delle nanoparticelle, e che di conseguenza devono essere presi in considerazione nello studio dell'esposizione, sono molteplici: la dimensione, la concentrazione in numero e massa, l'area di superficie, lo stato di aggregazione/agglomerazione, la solubilità in acqua e la chimica di superficie. Tali parametri sono influenzati dalle condizioni ambientali e possono variare nel tempo (documento INAIL), i più significativi:

- *Le dimensioni*: dal punto di vista tossicologico sono molto importanti; infatti diminuendo il diametro, aumenta l'area superficiale e quindi la quota di atomi o molecole esposti sulla superficie (Warheit et al., 2008). Ciò comporta una maggiore reattività superficiale che si traduce poi in un aumento dell'attività biologica. In alcuni casi, questa aumentata attività biologica può avere un effetto positivo o un effetto terapeutico (attività antiossidante, penetrazione delle barriere cellulari per il rilascio di farmaci), in altri invece può avere effetto negativo o addirittura tossico (induzione di stress ossidativo e citotossicità);
- *La composizione chimica*: è un parametro tossicologico importante poiché da questa dipende la reattività superficiale, l'assorbimento di molecole biologiche, la distribuzione e la bio-persistenza nell'organismo;
- *Lo stato di aggregazione*: è un fattore rilevante in quanto il grado in cui le particelle si aggregano/agglomerano influenza fortemente le caratteristiche di deposizione delle particelle nel polmone (Tsuji et al., 2006). Lo stato di aggregazione/agglomerazione dipende inoltre dalla composizione chimica delle particelle stesse;
- *La solubilità delle particelle e la bio-persistenza*: da queste proprietà dipende l'organo bersaglio, la clearance (è la capacità di un organo di depurare da una sostanza nell'unità di tempo) e la tossico-cinetica delle particelle. Inoltre, è stato riscontrato che la presenza di sostanze tossiche in particelle altamente solubili provoca effetti dannosi per la salute umana, dovuti proprio all'effetto tossico degli ioni metallici (Borm et al., 2006). Dall'altra parte è necessario valutare anche la biodegradabilità delle nanoparticelle: le

- particelle non biodegradabili possono accumularsi negli organi e nelle cellule, causando alterazioni biologiche a lungo termine; al contrario quelle biodegradabili possono portare ad un'inattesa tossicità a causa di prodotti di degradazione tossici (Aillon et al., 2009);
- L'energia superficiale (idrofilicità, idrofobicità): è un parametro che condiziona altre proprietà come le trasformazioni strutturali, la solubilità delle particelle e l'interazione con le molecole biologiche. Di fatto, le particelle con bassa energia superficiale (idrofobiche) vengono assorbite in modo aspecifico e possono favorire lo "srotolamento delle proteine" (protein unfolding). Inoltre, possono anche provocare alterazioni della componente lipidica delle membrane cellulari ed aumentare la penetrazione epiteliale. Al contrario, le particelle ad alta energia superficiale (idrofiliche), in particolare quelle con bassa carica negativa o neutra, hanno bassa affinità per le proteine e limitano l'accumulo cellulare;
 - La carica superficiale: anche questa caratteristica è rilevante nell'interazione con le molecole biologiche e nella capacità di penetrazione attraverso le membrane cellulari. Le interazioni elettrostatiche che avvengono tra le membrane cellulari cariche negativamente e le nanoparticelle cariche positivamente, favoriscono la penetrazione nelle membrane cellulari (Nel et al., 2009);
 - L'ampia area superficiale: è causa di tossicità e di risposte infiammatorie nei tessuti. L'interazione dell'ampia superficie delle particelle con la chimica cellulare contribuisce alla generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), responsabili della generazione di radicali liberi. Questi ultimi possono causare stress ossidativo, favorendo l'infiammazione dei tessuti e danneggiando cellule, membrane, proteine e DNA. Studi tossicologici su animali hanno dimostrato che le esposizioni polmonari alle nanoparticelle producono risposte infiammatorie avverse maggiori rispetto a particelle più grandi di composizione e massa identiche, in particolare a causa delle loro caratteristiche di superficie (Bakand et al., 2012). Altri studi ritengono che le particelle ultrafini (PUF) provochino un aumento dello stress ossidativo proprio a causa della loro maggiore area superficiale che consente loro di interagire con più strutture cellulari. È stato inoltre riportato che le interazioni tra queste ultime e i metalli di transizione associati hanno un meccanismo sinergico nella generazione di ROS (specie reattive dell'ossigeno) e infiammazione (Gwinn e Vallyathan., 2006);

Sulla base del principio di precauzione è stata proposta in letteratura l'individuazione di valori limite di esposizione occupazionale per alcuni gruppi di nanomateriali e la pubblicazione di numerose linee guida sul tema da parte delle principali Istituzioni internazionali. Inoltre negli ultimi anni è aumentato

il numero di studi sul monitoraggio dell'esposizione nei luoghi di lavoro finalizzati alla valutazione del rischio. Gli sforzi in ambito internazionale sono indirizzati verso una armonizzazione delle metodologie per la valutazione del rischio ed il monitoraggio dell'esposizione. Sfortunatamente, i dati sui rischi per la salute legati a questo tipo di materiali sono limitati, inoltre non esistono standard nazionali o internazionali sulle tecniche di misurazione dei nanomateriali sul posto di lavoro.

1.3 Arseniuro di Gallio

L'Arseniuro di gallio è un materiale inorganico composto dalla lega di gallio (Ga) e arsenico (As). Può essere ottenuto per combinazione diretta dei due elementi ad alta temperatura e pressione; può essere preparato principalmente come film sottile attraverso numerose reazioni di scambio in fase di vapore. Sotto forma di wafer viene utilizzato nelle industrie elettronica, microelettronica e delle comunicazioni per circuiti integrati a microonde (Hartmann et al., 2005). L'arseniuro di gallio emette luce, ha elevata mobilità degli elettroni, ha proprietà elettromagnetiche e fotovoltaiche. Come semiconduttore possiede diverse proprietà uniche che possono essere utilizzate nei dispositivi semiconduttori ad alta velocità, nei dispositivi a microonde e a sonde millimetriche ad alta potenza e in quelli optoelettronici, comprese le sorgenti e i rivelatori di fibre ottiche.

GaAs è in grado di trasformare l'elettricità direttamente in luce laser, ed è utilizzato nella produzione di dispositivi optoelettronici (l'optoelettronica è la branca dell'elettronica che studia i dispositivi elettronici che interagiscono con la luce e le loro applicazioni, facendo da interfaccia tra il dominio elettrico e quello ottico e viceversa) importanti per applicazioni aerospaziali e di telecomunicazioni, industriali e attrezzature mediche. Rispetto ad altri materiali semiconduttori presenta alcuni vantaggi come il funzionamento più rapido con un consumo energetico inferiore, una migliore resistenza alle radiazioni e soprattutto può essere utilizzato per convertire segnali elettrici in ottici (Chakrabarti., 1992; Greber 2003). Per quanto riguarda le applicazioni elettroniche, ambito in cui viene svolto il presente studio, vengono prodotti wafer di arseniuro di gallio a crescita epitassiale. L'epitassia in fase vapore o liquida viene utilizzata per far crescere gli strati di arseniuro di gallio per la maggior parte dei led. I led rossi sono prodotti utilizzando l'epitassia in fase liquida per far crescere l'alluminio-gallio-arseniuro su substrati di arseniuro di gallio. Questa tecnica viene anche utilizzata per far crescere uno strato di GaAs su substrati dello stesso (come avviene nel caso studio), per fibre ottiche a basso costo dedicate alle reti del computer. Degli studi presenti in letteratura, una gran parte è stata condotta sulla tossicologia di

GaAs su animali come topi, ratti e criceti: è stato dimostrato che questo è fortemente immunotossico e cancerogeno per i topi (Hartmann et al., 2005). Negli animali la somministrazione polmonare di dosi di arseniuro di gallio mostra un aumento dei livelli di arsenico nel sangue (Tanaka, 2004) e nelle urine, ma non quelli di gallio. Parte del gallio rimane nei polmoni e il resto forma un idrossido di gallio insolubile. Nella somministrazione orale, invece, l'arseniuro di gallio non si scioglie completamente, e viene espulso con le feci. Questi livelli aumentati di arsenico nel sangue e nelle urine mostrano che i polmoni assorbono 30 volte di più rispetto al tratto gastrointestinale (Carter et al., 2003). I polmoni sembrano quindi essere il distretto più colpito. Dopo la somministrazione intra-tracheale di arseniuro di gallio solido compare una reazione infiammatoria: in seguito ad una singola dose di arseniuro di gallio si registra una risposta caratterizzata da polmonite interstiziale che può durare fino a 6 mesi (Carter et al., 2003). Inoltre sono state testate le reazioni dei prodotti finali dell'arseniuro di gallio: l'ossido di gallio si è depositato nei polmoni, ma nessuna infiammazione e scarso assorbimento nel sangue; l'acido arsenico ha invece innalzato i livelli di 4-idrossiprolina (indicatore di un processo fibrotico); l'ossido di arsenico ha mostrato invece tossicità polmonare acuta, ma è stato rapidamente assorbito, causando danni sistemici.

Finora, per monitorare l'esposizione dell'arseniuro di gallio sono state utilizzate solo misurazioni dell'arsenico, poiché, in molti paesi sono stati stabiliti i limiti di esposizione professionale e metodi analitici più sensibili per la sua determinazione rispetto a quelli del gallio.



Fig.1: Wafer di Arseniuro di Gallio (GaAs)

1.4 Arsenico

L'arsenico è un elemento naturale, classificato come un metalloide o un semimetallo sia che sia di origine naturale che artificiale. L'agenzia Internazionale per la Ricerca del Cancro (IARC) ha classificato l'arsenico e i suoi composti inorganici nel gruppo 1: cancerogeni per l'uomo. I siti dei tumori per cui esistono sufficienti prove di cancerogenicità negli esseri umani sono: polmone, pelle e vescica.

In natura l'arsenico si trova in quattro diversi stati di ossidazione, questo è un punto problematico dato che questi vari tipi di molecole possono assumere diversi comportamenti nell'uomo. Una volta che l'arsenico viene assorbito, raggiunge il flusso sanguigno e viene trasportato agli organi; penetra all'interno delle cellule e subisce una serie di reazioni che vengono messe in atto dall'organismo per ridurre la sua tossicità. Tuttavia l'arsenico diventa più tossico in seguito alla sua metabolizzazione da parte dell'organismo.

Per quanto riguarda l'esposizione nei luoghi di lavoro, gli organi che vengono più colpiti sono i polmoni e il sistema nervoso. Nei polmoni, questi composti, possono provocare cancro attraverso vari meccanismi ma, possono causare anche lesioni non neoplastiche. Infatti uno studio fatto da Ergun et al. ha dimostrato che i lavoratori asintomatici cronicamente esposti sviluppano noduli non maligni ai polmoni, enfisema e malattie interstiziali. Invece per quanto riguarda la seconda parte che può colpire l'arsenico, cioè il sistema nervoso, la regione che viene danneggiata è quella sensoriale, portando a danno neurologico e riduzione della velocità di conduzione.

L'unico limite di esposizione professionale per l'arseniuro di gallio disponibile in letteratura è stato riportato dal NIOSH, che ha raccomandato un valore massimo di 0,002 mg/m³ ([ACGIH Worldwide® · 2003](#)). Non sono stati fissati limiti di esposizione professionale per il gallio, mentre per l'arsenico il limite di esposizione raccomandato da NIOSH è 0,002 mg/m³ mentre per OSHA il limite di esposizione consentito è 0,01mg/m³.



Fig.2: Arsenico

1.5 Gallio

Il gallio è un metallo, buon conduttore sia di elettricità che di calore, che viene utilizzato in un'ampia varietà di prodotti che hanno componenti microelettronici contenenti GaAs o nitruro di gallio (GaN), come nella produzione di circuiti integrati, semiconduttori e transistor altamente specializzati. Il gallio ha grandi proprietà fisiche, in particolare quelle termiche: si raffredda facilmente, per quanto riguarda la sua chimica è simile allo zinco ed è un po' meno reattivo dell'alluminio; ha una completa miscibilità allo stato liquido con alluminio, indio, stagno e zinco. Dopodiché, oltre a cesio, mercurio e rubidio, è l'unico metallo che può essere in forma liquida vicino alla temperatura ambiente e quindi è adatto per termometri ad alta temperatura; poiché rimane allo stato liquido in un ampio intervallo di temperature: da circa 30 a 2237°C, è adatto anche come lubrificante. L'elemento è adatto a formare facilmente leghe con la maggior parte dei metalli in combinazione con leghe a basso punto di fusione, per esempio viene utilizzato in odontoiatria in una percentuale del 3% al posto del mercurio. La suddetta sostanza può causare irritazione alla pelle e agli occhi e a volte può provocare anche dermatiti; sebbene la tossicità sia apparentemente di basso livello, dovrebbe comunque essere maneggiato con cautela fino al momento in cui non saranno disposti ulteriori dati a riguardo.



Fig.3: Gallio al 99,9%

1.6 Valutazione complessiva

L'arseniuro di gallio è classificato dallo IARC come cancerogeno per l'uomo. È stato rilevato che “non esistono dati sul cancro nell'uomo e che l'arseniuro di gallio è nella migliore delle ipotesi un debole cancerogeno negli animali da esperimento” (VOLUME 86 Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide). Nel giungere a una valutazione del gruppo 1, gli studiosi hanno rilevato il potenziale dell'arseniuro di gallio di provocare il cancro attraverso due distinti meccanismi d'azione. Una volta nell'organismo, GaAs rilascia una piccola quantità di arsenico, il quale si comporta come arsenico inorganico, nei siti in cui viene distribuito (“L'arsenico e i suoi comportamenti sono stati classificati come gruppo 1 IARC”). Parallelamente “il gallio può essere responsabile di tumori polmonari osservati nello studio sui ratti femmina, a causa, dell'apparente resistenza dei ratti al potenziale cancerogeno dell'arsenico che si manifesta nell'uomo”. La similarità delle risposte tossico-chimiche esaminate negli studi subcronici con l'arseniuro di gallio e l'ossido di gallio conferisce “ancora più peso alla scoperta che la frazione di gallio è attiva e suggerisce che una risposta cancerogena potrebbe essere osservata con altri composti del gallio”.

1.7 Vie di esposizione a Nanoparticelle

Attualmente le condizioni di esposizione a particelle ultrafini prodotte da diverse fonti sono numerose e di conseguenza le persone sono costantemente in contatto con queste. Tuttavia, un'esposizione significativa è dovuta anche a diverse circostanze presenti negli ambienti di lavoro; in particolare in alcuni processi come la saldatura, la combustione, la manipolazione di materiali su nano scala, rappresentano una notevole fonte espositiva.

Come accennato in precedenza, l'inalazione può essere considerata la via più comune; la deposizione di nanoparticelle nel tratto respiratorio è determinata dall'aerodinamica o dalla termodinamica della particella. L'assorbimento di queste aumenta con lo sforzo (a causa di un aumento della frequenza respiratoria e del passaggio dalla respirazione nasale a quella orale). Non bisogna escludere inoltre altre vie di esposizione come l'ingestione che può verificarsi a causa del trasferimento involontario di materiali dalla mano alla bocca (è ragionevole supporre che possa verificarsi durante la manipolazione di materiali che contengono contaminanti) e, il contatto cutaneo con possibile trasferimento dei nanocomposti che, in relazione alle specifiche caratteristiche dimensionali e chimico-fisiche, possono attraversare la barriera cutanea ed essere assorbiti a livello sistemico.

1.7.1 Contatto cutaneo

Le nanoparticelle possono entrare nell'organismo anche attraverso una parte del nostro corpo molto esposta: la pelle. La penetrazione e l'assorbimento cutaneo di queste particelle è influenzato da vari fattori come per esempio le caratteristiche chimiche delle particelle, le loro dimensioni, la natura della cute e la sua integrità e il tipo di esposizione (durata, superficie pelle esposta, utilizzo di protezioni); inoltre l'introduzione di queste particelle nella pelle può avvenire attraverso differenti vie: quella intercellulare quindi attraverso le ghiandole sudoripare oppure attraverso i follicoli piliferi.

Per quanto riguarda le caratteristiche chimiche, più le nanoparticelle sono liposolubili più sono in grado di muoversi attraverso la componente lipidica intercellulare e raggiungere le cellule dello strato corneo dei follicoli piliferi e dei dotti sudoripari. Inoltre influenza anche la dimensione di una particella, siccome, quelle con dimensioni minori di 4 nm possono penetrare e permeare la pelle intatta, quelle comprese tra 4 e 20 nm possono potenzialmente permeare sia la pelle intatta che danneggiata, quelle comprese tra 21 e 45 nm possono penetrare e permeare solo la pelle danneggiata e infine quelle maggiori di 45 nm non possono né penetrare né permeare la pelle (Larese et al., 2015).

In alcuni studi è stato dimostrato che l'assorbimento cutaneo delle nanoparticelle è favorito da lacerazioni già presenti in precedenza nella pelle (Larese et al., 2009), oppure in seguito all'utilizzo di detergenti irritanti e sostanze chimiche che ne facilitano la penetrazione (Larese et al., 2006). Secondo alcuni studi l'esposizione cutanea alle nanoparticelle può determinare anche effetti locali sulla cute, sia irritativi che allergici, o essere una via d'ingresso nel circolo sistemico; numerose sono le evidenze scientifiche che hanno dimostrato l'effetto irritativo e infiammatorio per diversi tipi di nanoparticelle (Kishore et al., 2009; Monteiro Riviere et al., 2005). Per quanto riguarda i fattori che influenzano l'esposizione, quelli più significativi sono: la quantità di materiale utilizzato, se questo può essere facilmente disperso, formare spruzzi o goccioline nell'aria, il grado di contenimento e la durata dell'uso.

1.8 Pratiche di lavoro

La manipolazione e gestione dei nanomateriali all'interno di un laboratorio di ricerca deve essere condotta osservando scrupolose misure preventive. In particolare quando si maneggiano dei nano materiali è doveroso adottare i seguenti controlli:

- La manipolazione dei nanomateriali deve avvenire all'interno di una cappa chimica. In relazione alla pericolosità specifica del composto può essere necessario svolgere le operazioni di manipolazione in apposito sistema confinato del tipo glove-box;
- Per rimuovere efficacemente i nanomateriali dovrebbe essere utilizzato un sistema locale di ventilazione di scarico ben progettato con un filtro HEPA (High-Efficiency Particulate Air) locale;
- Lavaggio frequente delle mani, soprattutto prima di mangiare, bere, fumare o lasciare l'area di lavoro;
- I laboratori e gli spazi in cui vengono utilizzati o conservati i nanomateriali devono essere dotati di una postazione per il lavaggio oculare conforme ai requisiti dell'American National Standards Institute (ANSI) e dell'Occupational Safety and Health Administration (OSHA);
- Le aree di lavoro devono essere pulite alla fine di ogni turno di lavoro (quantomeno) utilizzando un'aspirapolvere con filtro HEPA o metodi di pulizia a umido; i ripiani dei banchi, gli interni delle cappe chimiche, le attrezzature e le superfici di laboratorio potenzialmente contaminate devono essere puliti regolarmente, in modo da impedire il contatto dei lavoratori con i rifiuti;
- Lo stoccaggio e il consumo di alimenti o bevande nei luoghi di lavoro in cui i nanomateriali vengono manipolati, lavorati o immagazzinati, devono essere evitati poiché l'esposizione può avvenire per ingestione;
- Dovrebbero essere forniti servizi per fare la doccia e cambiarsi gli abiti per prevenire la contaminazione involontaria di altre aree, causata dal trasferimento di nanomateriali su indumenti e pelle;

1.9 Contesto normativo

In Europa, le normative in materia di nanoparticelle si basano attualmente su leggi e regolamenti esistenti applicabili alle sostanze chimiche. tutte le nanoparticelle devono soddisfare i requisiti del REACH, Regolamento (CE) n. 1907/2006 (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals; ovvero si occupa della valutazione e autorizzazione delle sostanze chimiche). Sebbene nel presente Regolamento non vi siano disposizioni che facciano esplicito riferimento ai nanomateriali, essi sono inclusi nella definizione di “sostanza”; la definizione indica che per sostanza “s'intende un elemento chimico e relativi composti allo stato naturale od ottenuti da qualsiasi processo di fabbricazione, compresi eventuali additivi necessari per preservarne la stabilità ed eventuali impurità derivanti dal processo utilizzato, esclusi eventuali solventi che possono essere separati senza influire sulla stabilità della sostanza o modificarne la composizione”. Questo regolamento si pone l'obiettivo principalmente di garantire un livello elevato di protezione della salute umana e dell'ambiente.

Inoltre si fa presente la direttiva UE 89/391/CEE (direttiva quadro sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro) che esplica i requisiti generali in materia di salute e sicurezza sul lavoro dei lavoratori. Essa garantisce prescrizioni minime in materia di salute e sicurezza in tutta Europa, sebbene gli Stati membri siano autorizzati a mantenere o stabilire misure più severe; per di più richiede l'attuazione di misure preventive contro l'esposizione ai rischi attraverso l'informazione, la consultazione, la partecipazione equilibrata e la formazione dei lavoratori e dei loro rappresentanti.

Per quanto riguarda la parte ambientale pertinente al contesto delle nanotecnologie riguarda in particolare la prevenzione e la riduzione integrata dell'inquinamento (IPPC; è la strategia europea di prevenzione e riduzione integrate dell'inquinamento che mira alla diminuzione del livello delle emissioni per conseguire un livello elevato di protezione dell'ambiente e per migliorare le prestazioni ambientali dei complessi industriali soggetti ad autorizzazione ambientale. L'IPPC è stato previsto dalla Direttiva 96/61/CE ed è stato recepito nel nostro ordinamento con il D. Lgs. 372/1999 che a sua volta è stato abrogato dal D.Lgs 59/2005). In linea di principio, la direttiva IPPC potrebbe essere utilizzata per controllare gli impatti ambientali dei nanomateriali e le questioni relative ai nanomateriali negli impianti IPPC attraverso l'inclusione di tali considerazioni nel processo del documento di riferimento sulle BAT (Best Available Techniques; sono le migliori soluzioni tecniche impiantistiche, gestionali e di controllo in grado di garantire un elevato livello di protezione dell'ambiente attraverso, ad esempio, bassi livelli di emissioni di inquinanti e l'ottimizzazione delle materie prime utilizzate nel processo) cioè i

BREF della Commissione (sono i documenti di riferimento per le BAT, riferiti a ciascun settore di attività. Il Bref propone tecniche e tecnologie, principi di progettazione e linee guida per lo sviluppo sostenibile, tenendo in considerazione la salvaguardia dell'ambiente e cercando contemporaneamente le strategie attuabili per i diversi settori industriali, senza ridurre la competitività a livello economico. L'obiettivo di questo documento è quello di creare uno scambio di informazioni tra gli stati membri) qualora se ne presentasse la necessità. Un'ulteriore normativa che è al centro dell'attenzione è la direttiva 98/24/CE sulla protezione della salute e della sicurezza dei lavoratori contro i rischi derivanti dall'esposizione ad agenti chimici sul lavoro. C'è una forte adesione riguardo il fatto che questa direttiva sia l'atto legislativo più rilevante, da rispettare per garantire la manipolazione sicura dei nanomateriali sul posto di lavoro. Si sottolinea che i materiali su nano scala non sono esplicitamente inclusi o esclusi dal campo di applicazione della direttiva, ma l'articolo 2 lettera b punto iii chiarisce che l'obiettivo generale li copre in linea di principio.

b) «agenti chimici pericolosi»:

i) agenti chimici che soddisfano i criteri di classificazione come pericolosi in una delle classi di pericolo fisico e/o di pericolo per la salute di cui al regolamento (CE) n. 1272/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio (*), indipendentemente dal fatto che tali agenti chimici siano classificati nell'ambito di tale regolamento;

iii) agenti chimici che, pur non essendo classificabili come pericolosi ai sensi del presente articolo, lettera b), punto i), comportano un rischio per la sicurezza e la salute dei lavoratori a causa di loro proprietà chimico-fisiche, chimiche o tossicologiche e del modo in cui sono utilizzati o presenti sul luogo di lavoro, compresi gli agenti chimici cui è stato assegnato un valore limite di esposizione professionale a norma dell'articolo 3

Fig.4: Definizione presa dalla Direttiva 98/24/CE

Perciò il quadro generale è fornito dal regolamento sulla sicurezza e salute sul lavoro dei lavoratori (Direttiva UE 89/391/CEE) e nello specifico per la sicurezza chimica la direttiva sulla protezione della salute e sicurezza dei lavoratori dai rischi connessi agli agenti chimici a (direttiva 98/24/CE), la regolamentazione specifica per le sostanze è prevista dal Regolamento n. 1907/2006 (REACH – Registrazione, valutazione, autorizzazione e restrizione delle sostanze chimiche) e attualmente si discute su come considerare adeguatamente l'ampia varietà di nanomateriali nei regolamenti, infatti sono stati avviati programmi di ricerca e standardizzazione su larga scala finalizzati per stabilire standard, colmare le lacune nei dati e ridurre le incertezze che ci sono a riguardo. Le attività sono state avviate da organizzazioni come l'Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione (ISO) e l'Organizzazione per la Cooperazione e lo

Sviluppo Economico (OCSE) per sostenere uno sviluppo armonizzato a livello globale; si sta sviluppando una collaborazione tra Unione Europea e Stati Uniti d'America per esaminare le sfide normative poste dalle nanotecnologie, e valutare l'efficacia degli approcci esistenti, su entrambe le sponde dell'Atlantico.

2. SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questa tesi è svolgere una valutazione della contaminazione ambientale e dell'esposizione cutanea a nanoparticelle di Arseniuro di Gallio nell'ambito di un laboratorio di ricerca in cui viene effettuata la produzione di film sottili di GaAs mediante la tecnica MBE (Molecular Beam Epitaxy).

3. MATERIALI E METODI

3.1 Il laboratorio

La struttura scelta è un laboratorio dedicato alla sintesi di film sottili di arseniuro di gallio, destinati ad industrie esterne, per varie applicazioni. La sintesi di questo film è affidata ad un sintetizzatore: il Molecular-Beam Epitaxy (MBE). Il principio alla base della crescita nell'MBE consiste fondamentalmente in atomi o gruppi di atomi che vengono prodotti riscaldando una fonte solida; si trasferiscono in un ambiente UHV (ultra alto vuoto) e colpiscono la superficie calda del substrato, dove possono diffondersi ed eventualmente incorporarsi nella pellicola in crescita. Per ottenere la qualità desiderata è necessario un grande impegno tecnologico per produrre sistemi che in termini di purezza del materiale, uniformità e controllo dell'interfaccia siano adeguati.

Questo impianto realizza semiconduttori composti da elementi del III e del V gruppo sopra substrato cristallino riscaldato in condizioni di ultra alto vuoto (10^{-11} mbar); queste condizioni sono garantite tramite delle pompe criogeniche poste sotto le camere di diffusione e un sistema di criopannelli ad azoto liquido. Gli elementi del gruppo III (Ga, In, Al) e quelli del gruppo V (As) trovano posto all'interno di 4 celle di effusione, quest'ultime vengono riscaldate fino ad una

temperatura tra i 350°C (As) e oltre 1100°C (Al). Le temperature indicate, consentono l'evaporazione dei materiali, che iniziano quindi a depositarsi sul substrato cristallino riscaldato. A causa delle diverse pressioni di vapore, per consentire una crescita stechiometrica dei composti III-As, la pressione parziale dei metalli deve essere attorno ai 10^{-7} mbar per i materiali del gruppo III e 10^{-5} mbar per l'As; in queste condizioni, la velocità tipica di deposizione è dell'ordine di 1µm/h (Fornari et al., 2001) (Lucie et al., 2015).

La fase di "accrescimento" permette una crescita molto precisa, ciò significa che anche una minima impurità presente nella camera può compromettere il processo. L'elevata temperatura e la pressione estremamente bassa permettono di sfruttare il fenomeno della diffusione di Knudsen, ovvero un particolare stato di diffusione della materia gassosa che avviene all'interno di camere in cui il cammino libero medio delle molecole al suo interno è maggiore rispetto alle dimensioni della camera stessa.

Le camere principali che sono presenti sono:

- Una camera di crescita dove avviene l'effettivo deposito del materiale in forma di film sottili sul wafer, costituito da un monocristallo di GaAs;
- Una camera intermedia di attesa dove i supporti vengono condizionati termicamente prima della fase di deposito delle nanoparticelle;
- Una camera di inserimento dei supporti: unico punto di contatto con l'ambiente esterno durante le normali attività;

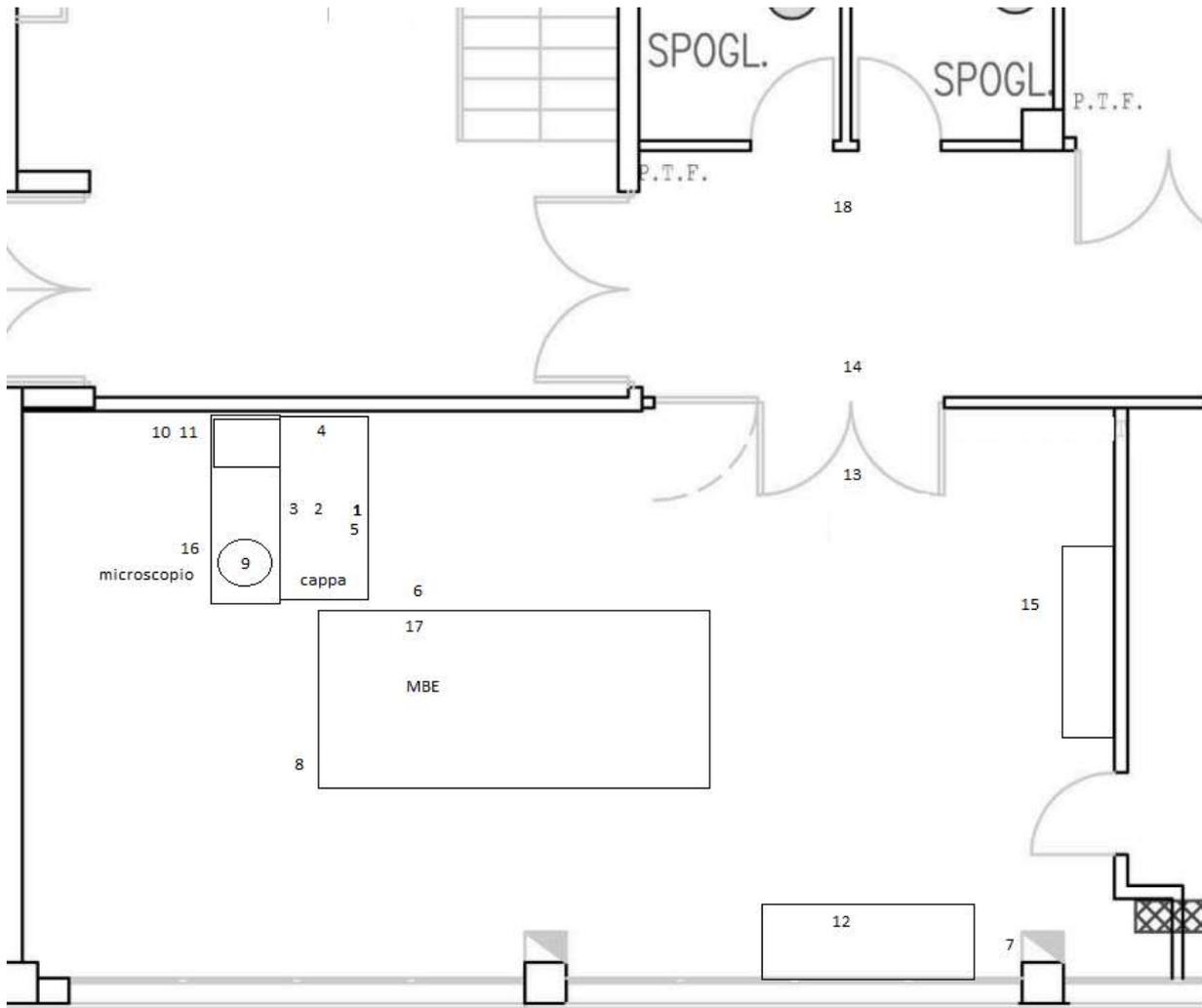


Fig.5: Planimetria del Laboratorio con indicati i punti di campionamento

Come si può vedere in Fig.5, il sistema MBE è situato al centro del laboratorio, circondato dalle postazioni di lavoro (banco del computer, tavolo con microscopio e porta campioni). Sopra il banco di lavorazione è stata installata una cappa con lo scopo di portare l'aria verso il basso per tenere pulito il tavolo di lavoro. A causa di ciò i micro e i nano-componenti dal tavolo di lavoro finiscono sul pavimento. Quindi ci si aspetta sicuramente una maggior concentrazione di nanoparticelle sul pavimento.

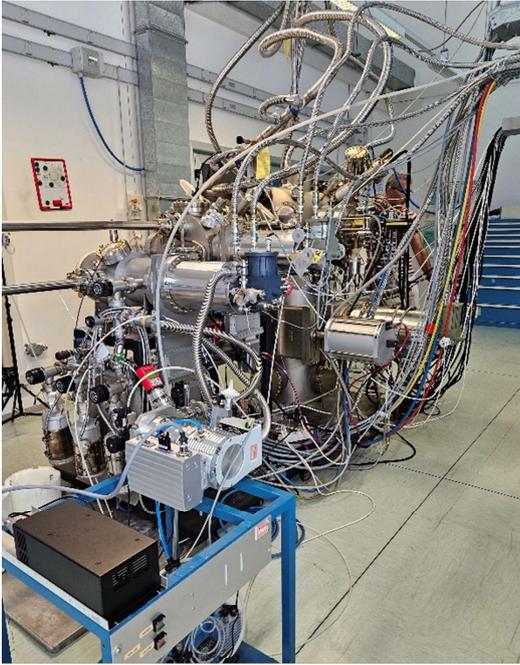


Fig.6: Sistema MBE

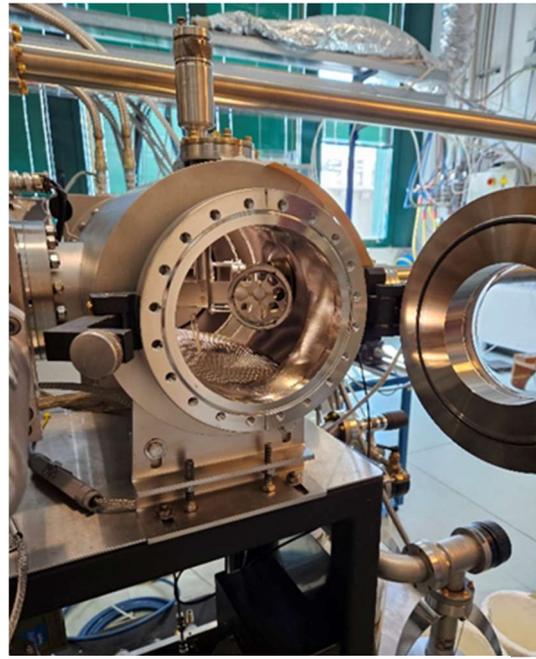


Fig.7: Portello di inserimento campione



Fig.8: Postazione sotto cappa

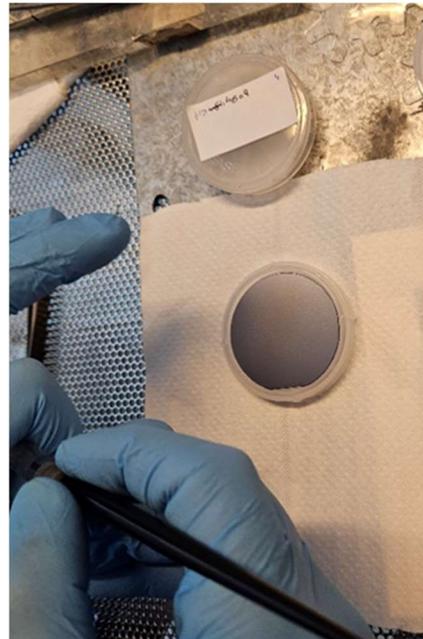


Fig.9: Film sottile di arseniuro di gallio pronto per il taglio



Fig.10: Taglio del campione con punta diamantata



Fig.11: Parte del campione tagliato

Prima di iniziare il campionamento è stata effettuata un'ispezione preventiva dei luoghi di lavoro al fine di raccogliere i dati necessari per la valutazione e per scegliere i siti di campionamento più significativi all'esposizione di nanoparticelle, ed è stato verificato la tipologia di DPI che impiega il lavoratore durante la fase di lavorazione.



Fig.12: Apertura del Load Lock per il prelievo dei campioni



Fig.13: Pulizia del campione

Come si può vedere dalle immagini precedenti (Fig.12 e Fig.13), il lavoratore come DPI presentava una retina copri capelli, una maschera semi-facciale con filtro ABEK e filtro per polveri FFP3, e, un paio di guanti monouso in nitrile.

Il personale di laboratorio, che è coinvolto in attività con potenziale di esposizione a nanomateriali, deve indossare, come già accennato in precedenza:

- Guanti protettivi: la scelta dei guanti è determinata da una valutazione del rischio e dalle sostanze chimiche utilizzate nel processo. I guanti in nitrile o gomma, che coprono completamente mani e polsi attraverso la manica sovrapposta del camice da laboratorio quando si lavora con nanomateriali, possono fornire una protezione adeguata. Il personale di laboratorio deve lavarsi accuratamente le mani con acqua e sapone prima e immediatamente dopo la rimozione dei guanti;
- Protezione degli occhi: gli occhiali di sicurezza sono considerati il livello appropriato di protezione degli occhi per lavorare con i nanomateriali,
- Indumenti protettivi: quando si lavora con i nanomateriali è necessario indossare camici da laboratorio o camici monouso che forniscono una copertura completa della pelle; oltretutto gli indumenti contaminati devono essere rimossi immediatamente e smaltiti come rifiuti pericolosi;
- Protezione vie respiratorie: è necessario indossare uno dei seguenti dispositivi di protezione respiratoria come il Facciale filtrante (N-95 o superiore), Maschera semi-facciale o integrale in elastomero con filtri N-100, R-100 o P-100. Le maschere monouso e le semimaschere devono avere un fattore di protezione assegnato (APF, numero che indica quanta protezione il dispositivo di protezione delle vie respiratorie è in grado di fornire) appropriato; i lavoratori che indossano questo tipo di dispositivi devono sottoporsi ad addestramento e formazione per garantire la corretta vestibilità e l'uso adeguato.

3.2 Monitoraggio ambientale

3.2.1 Tape strip

Lo stripping dello strato corneo umano è ampiamente utilizzato come metodo per studiare la cinetica e la profondità di penetrazione delle nanoparticelle; poiché gli strati cellulari dello strato corneo vengono successivamente rimossi dalla stessa area cutanea mediante cerotti adesivi. Il metodo di tape stripping nella forma standardizzata è adatto per determinare la dermato-cinetica delle sostanze applicate topicamente. Questo strato della pelle funziona come la barriera più esterna del corpo, cioè evita o limita l'ingresso di sostanze estranee nel corpo e, si occupa dell'escrezione di sostanze endogene. Il cosiddetto "stripping" del tape, cioè la rimozione di questo mediante l'aiuto di una pinzetta, è risultato come una tecnica che è utile agli studi dermatologici riguardo strato corneo della pelle. Questa procedura, minimamente invasiva, può essere utilizzata universalmente: sia in vivo, che in vitro, negli esseri umani e negli animali ad esempio maiali, ratti, cavie e topi; perciò è diventato un metodo di base per studiare la penetrazione e il comportamento del serbatoio di sostanze applicate localmente o esogene, la fisiologia dello strato corneo, la guarigione delle ferite epidermiche e l'escrezione di sostanze endogene.

La quantità di strato corneo rimosso da un singolo tape adesivo dipende da diversi fattori intrinseci ed estrinseci; quelli intrinseci riguardano la dimensione dei corneociti (cellule che costituiscono lo strato corneo), la sede anatomica, l'età, la stagione, il numero di strati cellulari e di corneociti, lo spessore dello strato corneo, la composizione e la quantità di lipidi che variano a seconda della sede anatomica; invece per quanto riguarda quelli estrinseci: la forza di rimozione dalla pelle, la durata della pressione sulla pelle e le sostanze di uso topico. Nel protocollo attuale la pelle non deve essere pulita prima del tape stripping in modo da avere a disposizione le quantità originarie dei principi attivi applicati.

3.2.2 Ghost Wipes

I Ghost Wipes sono dei tamponi inumiditi con acqua deionizzata, i quali rimuovono la contaminazione dalle superfici; nello specifico, il contaminante si stacca dalla superficie mediante una combinazione di forze meccaniche e azione chimica. Inizialmente attraverso un confronto con il lavoratore, sono stati stabiliti i punti di campionamento più significativi per l'esposizione.



Fig.14: Materiale utilizzato per il campionamento: Ghost Wipe, sagoma di carta con dimensioni 10x10cm e provetta correttamente etichettata con data del prelievo e identificazione del punto di campionamento.

3.2.3 Procedura di campionamento

Sia il campionamento con la tecnica del ghost-wipe, sia il monitoraggio della contaminazione cutanea mediante tape strips sono stati effettuati nell'arco di una settimana lavorativa standard dal lunedì al venerdì.

Per quanto riguarda il campionamento con tape-strips, la procedura prevede l'applicazione di un tape adesivo sulla pelle e la successiva rimozione dello strato corneo. Più in specifico, il tape è stato posizionato sul polso destro del lavoratore (questo procedimento è stato eseguito sia all'inizio che alla fine della giornata lavorativa, per una settimana), facendo attenzione a non piegarlo una volta collocato all'interno della provetta con l'aiuto di una pinzetta. Per aumentare l'adesione dello strato corneo al tape, e, promuovere una raccolta uniforme, la pressione applicata viene standardizzata utilizzando uno specifico applicatore a pressione. La pressione viene esercitata per 20 secondi, al termine dei quali il tape viene tolto con un movimento rapido utilizzando un paio di pinzette. Una volta rimosso, ogni singolo tape è stato inserito in una provetta con il lato adesivo rivolto verso l'interno per essere successivamente sottoposto ad analisi chimiche.



Fig.15: Tape strip



Fig.16: Posizionamento del tape con l'aiuto di una pinzetta



Fig. 17: impiego di un dispositivo di pressione per applicare una pressione costante sul tape

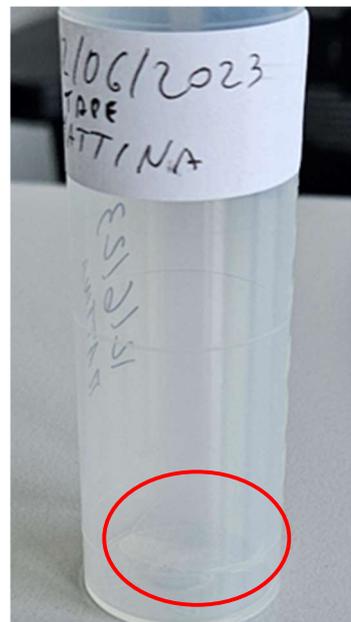


Fig.18: Inserimento del Tape Stripp all'interno della provetta, precedentemente etichettata con data del campionamento

Per quanto riguarda i Ghost Wipes sono stati effettuati campionamenti di bianco di confronto in tre uffici della struttura su diverse tipologie di superficie (pavimenti, scrivanie, ecc.).

Nel laboratorio MBE il campionamento è stato effettuato il lunedì mattina prima dell'inizio delle attività lavorative; il lunedì pomeriggio per valutare l'eventuale deposizione giornaliera ed il venerdì pomeriggio, al fine di caratterizzare il livello di inquinamento settimanale.

Sono state posizionate delle sagome di carta manila usa e getta con dimensione 10x10 cm, e fissate con del nastro adesivo (come viene riportato nelle immagini seguenti). L'area all'interno del modello è stata pulita in conformità alla procedura operativa standard, ovvero: usando movimenti a

forma di S, leggermente sovrapposti, i campioni di strofinamento sono stati raccolti prima pulendo da sinistra a destra, la salvietta è stata piegata a metà e utilizzata per pulire la stessa area in una direzione su e giù, poi è stata nuovamente piegata a metà e strofinata attorno al perimetro; infine è stata ripiegata ancora a metà e collocata all'interno della fiala. Le provette con all'interno ciascuna un tampone, sono state sottoposte in seguito, ad analisi chimiche.



Fig.19: ripiano sotto cappa



Fig.20: parte fondo della cappa



Fig.21: colonna aspirante



Fig.22: maniglia porta-campioni



Fig.23: ingresso interno ed esterno laboratorio



Fig.24: cassetteria

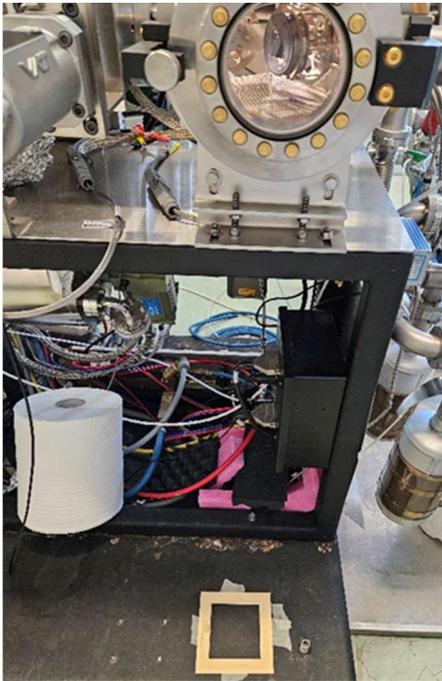


Fig.25: pavimento al di sotto del load lock (dove avviene l'estrazione dei campioni)

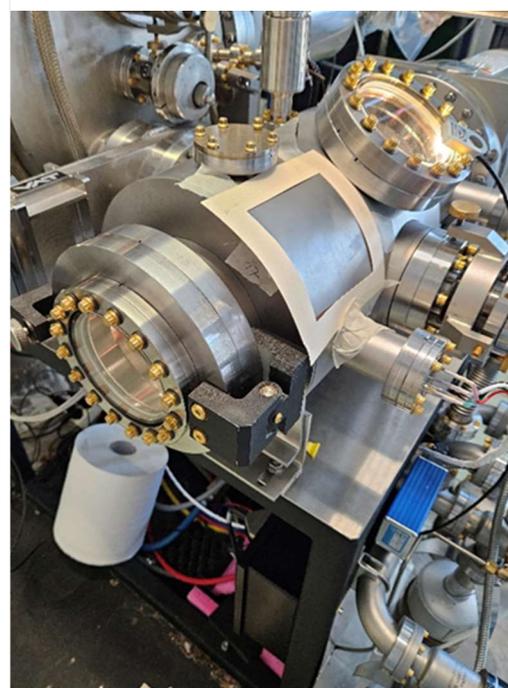


Fig.26: superficie superiore load lock



Fig.27: ingresso esterno laboratorio e ingresso esterno del bagno



Fig.28: parete destra sotto cappa sopra il ripiano

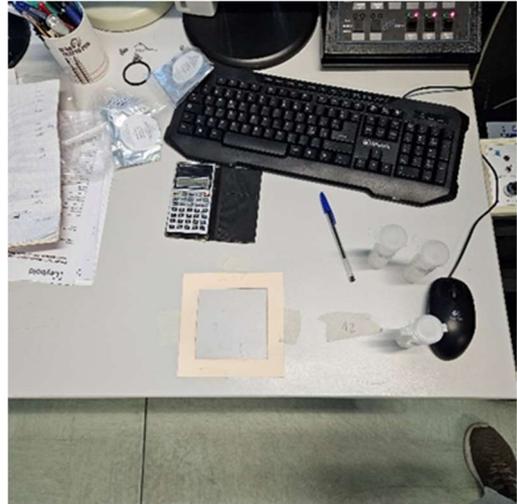


Fig.29: scrivania

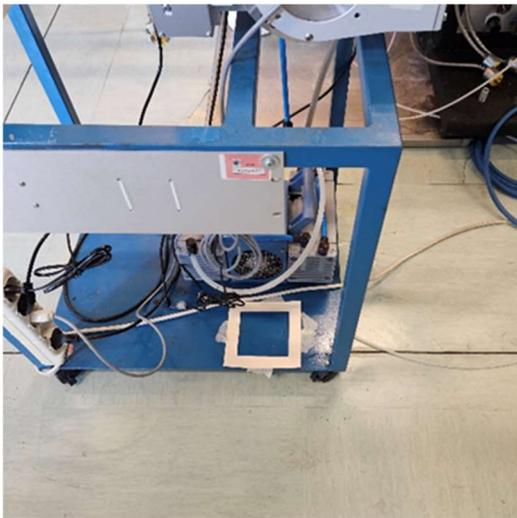


Fig.30: pavimento membrana

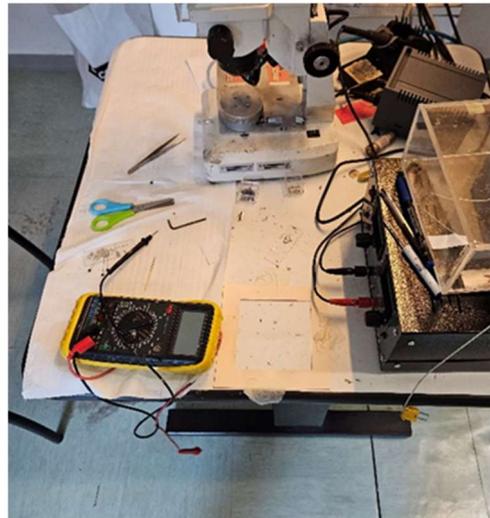


Fig.31: tavolo microscopio



Fig.32: cassettera vicino al tavolo del microscopio

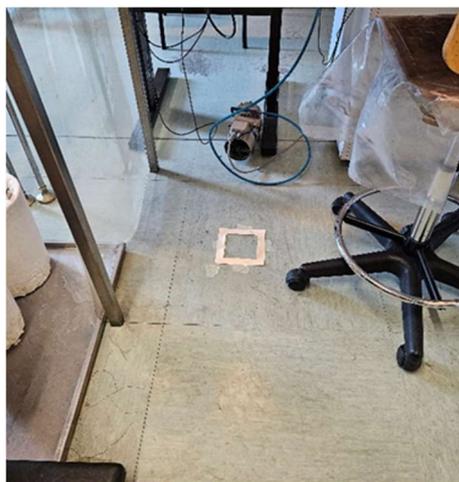


Fig.33: pavimento sotto cappa

IDENTIFICAZIONE	PUNTO CAMPIONAMENTO
1	Ripiano sotto cappa verso esterno
2	Ripiano sotto cappa verso interno
3	Parete fondo cappa
4	Parete destra della cappa sopra il ripiano
5	Pavimento sotto cappa
6	Pavimento sotto load lock
7	Colonna aspirante
8	Pavimento membrana
9	Tavolo microscopio
10	Maniglia porta-campioni parte sopra
11	Maniglia porta-campioni parte sotto
12	Scrivania
13	Ingresso interno laboratorio
14	Ingresso esterno laboratorio
15	Cassettera blu vicino all'ingresso
16	Cassettera vicino al tavolo del microscopio
17	Superficie superiore del load lock
18	Pavimento ingresso esterno bagno

Tabella 1: Rappresentazione dell'identificazione dei punti di campionamento in laboratorio.

Una sessione di campionamenti è stata effettuata su alcune superfici supplementari non standardizzabili su cui non è stato possibile applicare il riquadro di cartoncino per delimitare l'area di campionamento. Per effettuare un campionamento il più significativo possibile, si è cercato di fare una stima e campionare una superficie pari a quella della sagoma di 10x10cm quindi per un totale di 100 cm².

IDENTIFICAZIONE	PUNTO DI CAMPIONAMENTO	STIMA DELLA SUPERFICIE
19	Manopole MBE	Circa 100 cm ²
20	Mouse del PC	Circa 100 cm ²
21	Interno maschera semi-facciale	Circa 100 cm ²
22	Manopola magneti MBE (superiore)	Circa 250 cm ²
23	Manopola magneti MBE (inferiore)	Circa 250 cm ²
24	Maniglie dell'armadio porta-campioni	Circa 50 cm ²
25	Maniglia porta di ingresso laboratorio	Circa 60 cm ²
26	Interno maniglie della cassettera blu	5 maniglie circa 100 cm ²
27	Microscopio	Circa 80 cm ²

Tabella 2: Rappresentazione dell'identificazione dei punti di campionamento supplementari.



Fig.34: interno maschera semi-facciale

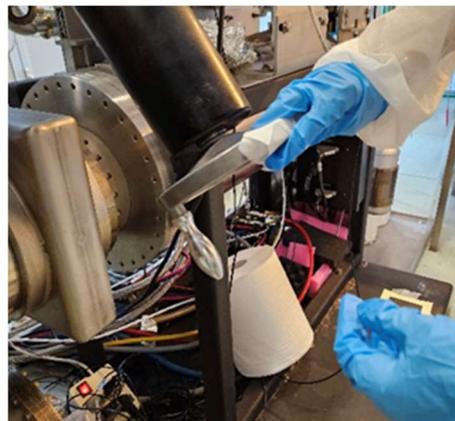


Fig.35: manopole MBE



Fig.36: mouse del PC



Fig.37: maniglia porta d'ingresso laboratorio

3.3 Monitoraggio Biologico

Il biomonitoraggio è stato effettuato nelle giornate da lunedì a venerdì di una settimana lavorativa mediante raccolta giornaliera delle urine del lavoratore esposto ad inizio e alla fine del turno lavorativo, per la ricerca di Ga e As eventualmente disciolti. GaAs viene infatti parzialmente dissociato in vivo, in gallio e arsenico inorganico che vengono quindi successivamente escreti in parte per via urinaria. Tuttavia poiché l'esposizione ad arsenico può avvenire sia mediante il consumo di alcuni alimenti come i frutti di mare, il riso, le alghe, sia mediante il fumo di sigaretta, è stato preventivamente sottoposto al lavoratore un questionario per stimare la possibile esposizione recente (Fig.38).

Questionario per la valutazione dell'esposizione personale ad Arsenico

Fuma: SI NO

Se si quante sigarette al giorno mediamente:

Abitudini alimentari:

Indicare il consumo dei seguenti prodotti:

Consumo in gr	ULTIMA SETTIMANA	SETTIMANALE MEDIO	MENSILE MEDIO
RISO:	MAI	50 g	200 g
LATTE DI RISO:	MAI	MAI	MAI
CEREALI CONTENENTI RISO:	MAI	MAI	MAI
CEREALI INTEGRALI:	MAI	MAI	MAI
PRODOTTI CONTENENTI CEREALI INTEGRALI:	MAI	MAI	MAI
MOLLUSCHI BIVALVI:	MAI	MAI	MAI
CROSTACEI:	MAI	10 g	50 g
CEFALOPODI:	MAI	10 g	50 g
PESCE:	100 g	150 g	600 g
PRODOTTI ITTICI:	MAI	MAI	MAI
INTEGRATORI ALIMENTARI VEGETALI:	MAI	MAI	MAI
ALGHE:	MAI	MAI	MAI
PRODOTTI ALIMENTARI CONTENENTI ALGHE:	MAI	MAI	MAI

Fig.38: Questionario abitudini alimentari dell'ultimo mese.

ANALISI CHIMICHE

Per la determinazione della concentrazione totale di Arsenico e Gallio è stata utilizzata la tecnica di spettrometria di massa al plasma induttivamente accoppiato (ICP-MS), applicando un metodo di analisi adattato dal già esistente metodo EPA Method 3052.

I filtri sono stati mineralizzati in acido nitrico. L'attacco acido è avvenuto a caldo in un sistema chiuso a microonde. Successivamente il campione è stato trasferito in provette metal free e portato ad un volume finale di 20 ml con acqua Milli-Q.

Le soluzioni ottenute sono state diluite 1-10 e analizzate in spettrometria di massa.

L'analisi quantitativa dei metalli è stata effettuata mediante uno strumento NEXION 350X (Perkin Elmer) equipaggiato con un autocampionatore (ESI). Le concentrazioni sono determinate tramite confronto con una retta di taratura ottenuta dall'analisi di sei soluzioni standard (0.500-500 µg/L) preparate per diluizione da una soluzione standard multielemento certificata a concentrazione 10 mg/L. Le analisi sono state condotte in modalità KED per l'abbattimento delle interferenze e usando il metodo dello standard interno (Scandio) per la correzione dell'effetto matrice e della deriva del segnale. L'accuratezza delle analisi è stata valutata internamente tramite l'utilizzo di soluzioni certificate e la preparazione e l'analisi di campioni fortificati per il calcolo del recupero percentuale.

ANALISI STATISTICA

L'analisi statistica dei dati ottenuti è stata effettuata mediante software Jamovi

4. RISULTATI

Di seguito si riportano i risultati relativi alle analisi dei Ghost Wipes:

Nella tabella 3 si riportano i risultati dei campioni effettuati presso un ufficio della struttura come bianco di riferimento.

	Ga corretto con media bianco	As corretto con media bianco
	ng/cm2	ng/cm2
UFFICIO A SCRIVANIA 1	0,4	0,72
UFFICIO A SCRIVANIA 2	0,22	0,25
UFFICIO A PAVIMENTO SOTTO SCRIVANIA 1	2,43	0,93
UFFICIO A PAVIMENTO SOTTO SCRIVANIA 2	1,74	0,74
UFFICIO B del Lavoratore SCRIVANIA 1	0,04	0,25
UFFICIO B del Lavoratore SOTTO SCRIVANIA 1	2,7	1,05
UFFICIO B del Lavoratore SCAFFALATURA	1,92	0,28
UFFICIO B del Lavoratore PAVIMENTO INGRESSO	2,35	0,71
UFFICIO B del Lavoratore SCRIVANIA 2	0,15	0,17
UFFICIO B SOTTO SCRIVANIA 2	2,07	0,59
UFFICIO B SCRIVANIA del Lavoratore PC	0,2	0,12
UFFICIO B SCRIVANIA del Lavoratore MOUSE	0,75	0,04
UFFICIO B CASSETTIERA del Lavoratore	3,74	0,8
UFFICIO B PAVIMENTO SOTTO SCRIVANIA del Lavoratore	3,63	1,44
PULSANTIERA ASCENSORE PIANO 1	0,48	0,35
PAVIMENTO STANZA MM 116	0,41	0,14
PULSANTIERA ASCENSORE PIANO 0	1,06	0,46
MACCHINA CAFFE' PIANO 1	0,24	0,05

Tabella 3: Risultati dei “bianchi” svolti con i Ghost Wipes nella parte degli uffici

Nella tabella 4 sono riportati i dati dei campionamenti effettuati nel laboratorio MBE il lunedì mattina prima dell’avvio delle attività, il lunedì pomeriggio per valutare la deposizione giornaliera ed il venerdì pomeriggio per determinare l’accumulo settimanale.

	Ga corretto con media bianco			As corretto con media bianco		
	ng/cm2			ng/cm2		
	lunedì mattina	lunedì pomeriggio	venerdì pomeriggio	lunedì mattina	lunedì pomeriggio	venerdì pomeriggio
RIPIANO SOTTO CAPP A ESTERNO (area manipolazione campioni)	304,48	1234,59	1170,75	433,31	1272	307,51
RIPIANO SOTTO CAPP A AREA INTERNA	1171,69	3307,61	1118,61	263,62	1418,02	627,3
PARETE FONDO CAPP A	5,01	94,59	376,25	1,62	11,82	16,3
PARETE DESTRA CAPP A SOPRA RIPIANO	69,87	347,21	246,65	2,99	27,44	3,83
PAVIMENTO SOTTO CAPP A	638,12	3013,69	535,88	100,08	233,85	250,86
PAVIMENTO SOTTO LOAD LOCK	31,61	286,93	118,31	42,93	241,35	40,03
COLONNA ASPIRANTE	0,3	1,77	1,66	0,44	1,93	0,16
PAVIMENTO MEMBRANA	18,99	113,06	12,34	9,08	93,4	5,85
TAVOLO MICROSCOPIO	49,77	134,73	26,93	81,47	114,7	27,37
MANIGLIA PORTACAMPIONI SOPRA	0,45	1,9	0,18	0,69	1,93	0,27
MANIGLIA PORTACAMPIONI SOTTO	0,11	2,35	0,8	0,19	1,23	0,78
SCRIVANIA PC	0,18	1,73	3,52	0,17	0,96	0,69
INGRESSO INTERNO LABORATORIO	2,36	19,51	8,13	3,74	19,63	5,65
INGRESSO ESTERNO LABORATORIO	54,07	9,16	8,42	93,34	5,59	2,57
CASSETTIERA ESTERNA BLU VICINO INGRESSO	8,55	39,25	5,61	0,23	0,64	0,46
CASSETTIERA PRIMO CASSETTO VICINO TAVOLO MICROSCOPIO	2,79	18,28	11,25	0,24	1,01	4,27
SUPERFICIE SUPERIORE LOAD LOCK	5,27	85,08	10,5	2,38	43,04	12,26
USCITA LAB ESTERNO CORRIDOIO	0,34	0,76	4,71	0,04	0,35	0,69

Tabella 4: Risultati dei campionamenti con i Ghost Wipes svolti in Laboratorio; viene indicata la concentrazione di Gallio (Ga) e Arsenico (As) presente.

Nella tabella 5 sono riportati gli esiti dei campioni effettuati su superfici non standardizzabili mediante cornice 10x10 cm.

	Ga corretto con media bianco	As corretto con media bianco
	ng/cm2	ng/cm2
MANOPOLE MBE	102,97	44,24
MOUSE PC	55,94	8,99
MASCHERA FACCIALE del Lavoratore	208,07	57,76
MANOPOLA MAGNETI MBE SUPERIORE	65,19	15,87
MANOPOLA MAGNETI MBE INFERIORE	32,94	13,43
MANIGLIE ARMADIO PORTA CAMPIONI	51,66	10,04
MANIGLIA PORTA	14,91	5,61
INTERNO MANIGLIE CASSETTIERA BLU MATERIALE RICAMBI	553,49	173,91
MICROSCOPIO	244,09	27,29

Tabella 5: Risultati dei campionamenti supplementari fatti con i Ghost Wipes

Nel grafico 1 viene analizzato il livello di correlazione riscontrato nelle concentrazioni di Ga a As rinvenute nei ghost wipes. L'indice di correlazione denota una maggiore concentrazione di Gallio rispetto all'Arsenico, verosimilmente connessa al suo utilizzo nella preparazione dei supporti dei portacampioni relativi ai film di GaAs.

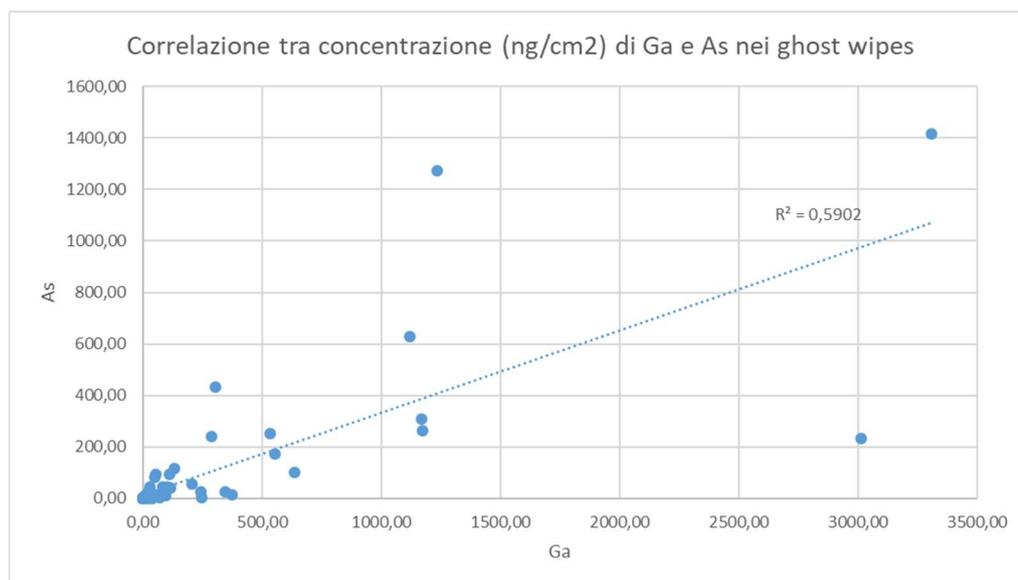


Grafico 1: Rappresentazione della correlazione tra la concentrazione di Ga e As nei Ghost Wipes

Nella tabella 6 si riportano i risultati relativi alle analisi dei Tape Strip:

	Ga (ng)	As (ng)
lunedì mattina	9,5	0,9
lunedì pomeriggio	64,7	3,5
martedì mattina	17,6	0,3
martedì pomeriggio	513,0	5,4
mercoledì mattina	34,1	0,6
mercoledì pomeriggio	107,5	13,5
giovedì mattina	8,0	0,1
giovedì pomeriggio	31,1	0,1
venerdì mattina	6,5	0,1
venerdì pomeriggio	199,8	3,4

I dati sottolineati in **giallo** sono inferiori al limite di rilevabilità strumentale

Tabella 6: Concentrazioni di Gallio e Arsenico nei Tape strip

Nel grafico 2 si riporta l'andamento delle concentrazioni di Ga e As nei tape strips durante la settimana.

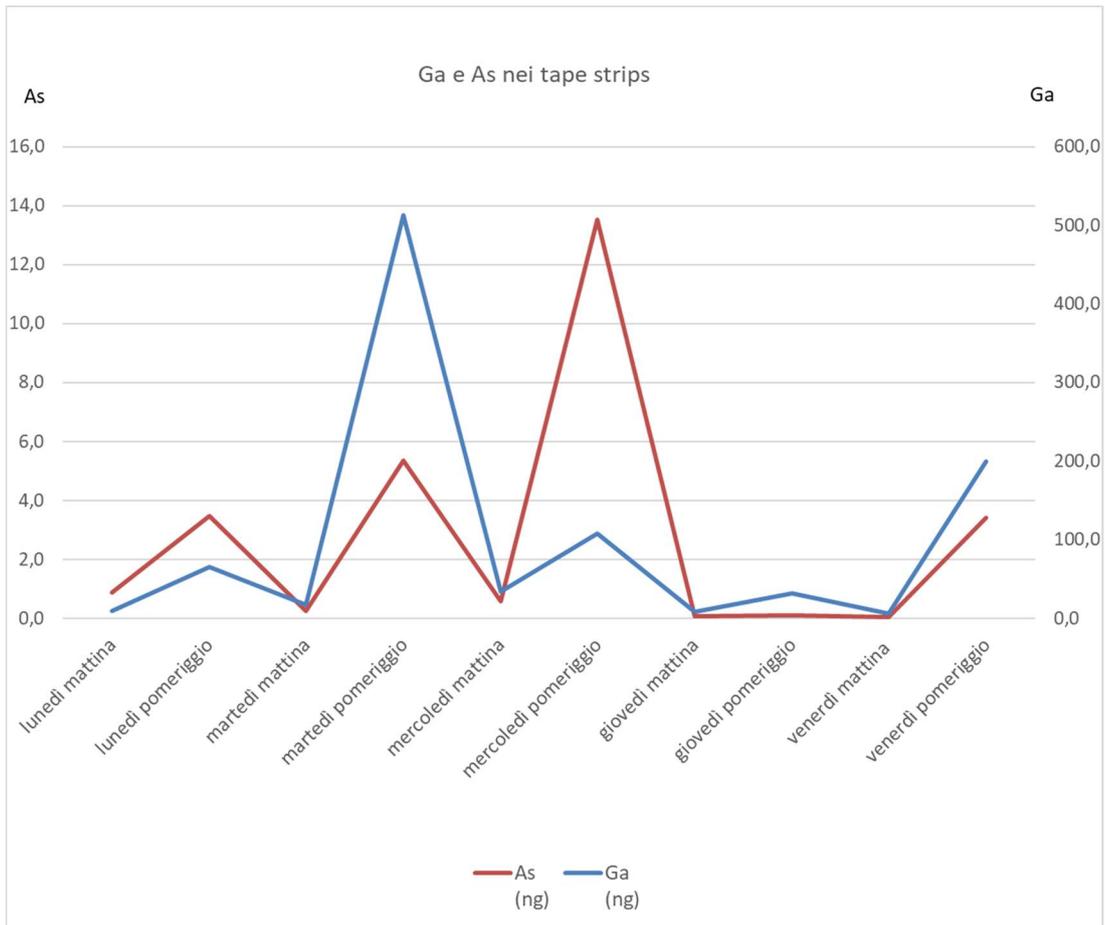


Grafico 2: Andamento settimanale delle concentrazioni di Gallio e Arsenico nei Tape strip

Nella tabella 7, si è proceduto al confronto delle concentrazioni di Ga e As rinvenute nei tape-strips comparando mattina e pomeriggio, osservando un generale aumento delle concentrazioni nei campioni pre e post operativi.

Independent Samples T-Test

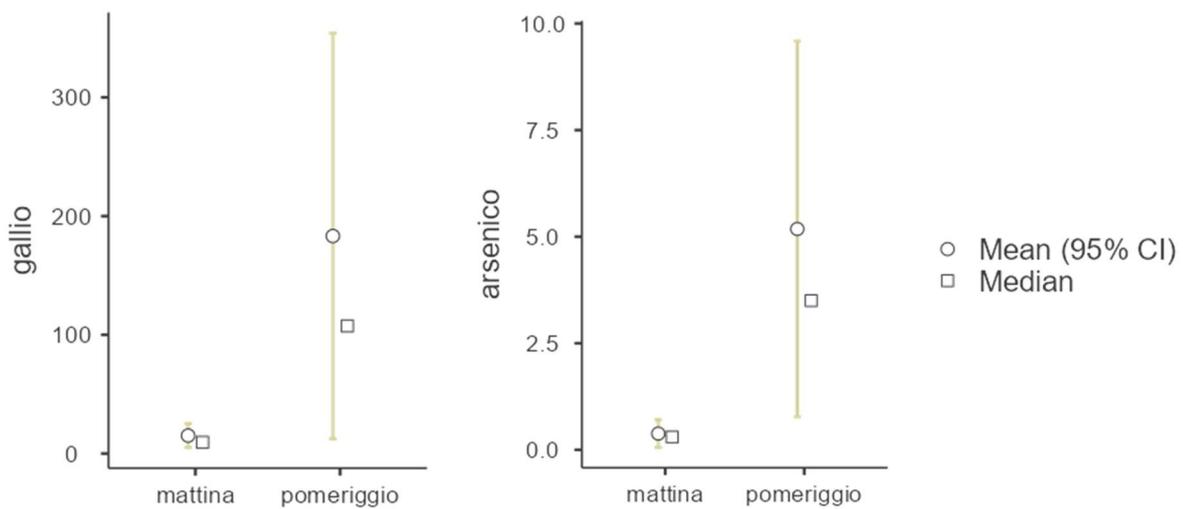
		Statistic	p
gallio	Mann-Whitney U	1.00	0.016
arsenico	Mann-Whitney U	3.50	0.075

Group Descriptives

	Group	N	Mean	Median	SD	SE
gallio	mattina	5	15.140	9.500	11.434	5.114
	pomeriggio	5	183.22	107.50	194.90	87.16
arsenico	mattina	5	0.380	0.300	0.370	0.166
	pomeriggio	5	5.18	3.50	5.03	2.25

Tabella 7: confronto concentrazioni di gallio e arsenico nei tape strips tra mattina e pomeriggio

Plots



Nel grafico 3 si rappresenta il grado di correlazione tra concentrazioni di Ga e As rinvenute nei tape-strips. Anche in questo caso, come per i ghost wipes, si osservano valori mediamente superiori nelle concentrazioni del gallio rispetto all'arsenico. Tale dato è verosimilmente attribuibile all'utilizzo del gallio nelle attività di preparazione dei contenitori portacampioni, in cui viene utilizzato per far aderire meglio il film di GaAs alla superficie della capsula di conservazione.

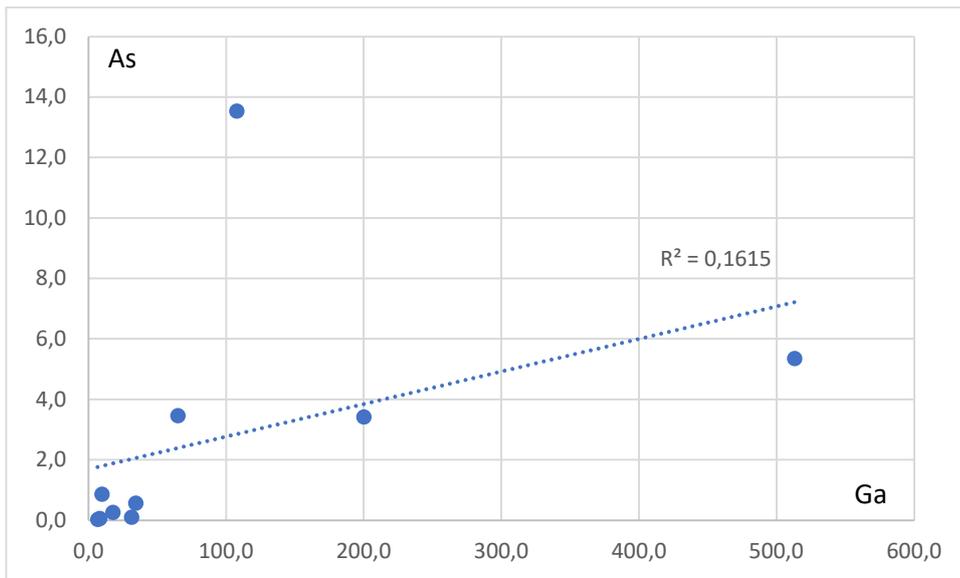


Grafico 3: Correlazione tra la concentrazione di Gallio e Arsenico nei Tape Strip

Nella tabella 8 e nel grafico 4 si riportano i risultati relativi al biomonitoraggio effettuato nell'arco della settimana esaminata.

Giorno	Concentrazioni Gallio in $\mu\text{g/L}$	Concentrazioni Arsenico in $\mu\text{g/L}$
lunedì mattina	0,25	10,05
lunedì pomeriggio	0,55	18,35
martedì mattina	0,15	12,15
martedì pomeriggio	0,65	37,95
mercoledì mattina	0,45	27,15
mercoledì pomeriggio	0,45	16,95
giovedì mattina *	0,05	3,65
giovedì pomeriggio	0,45	11,85
venerdì mattina	0,75	31,65
venerdì pomeriggio	1,15	25,25

***provetta aperta**

I dati sottolineati in **giallo** sono inferiori al limite di rilevabilità strumentale

Tabella 8: Concentrazione di Gallio e Arsenico espressa in $\mu\text{g/L}$ nelle urine

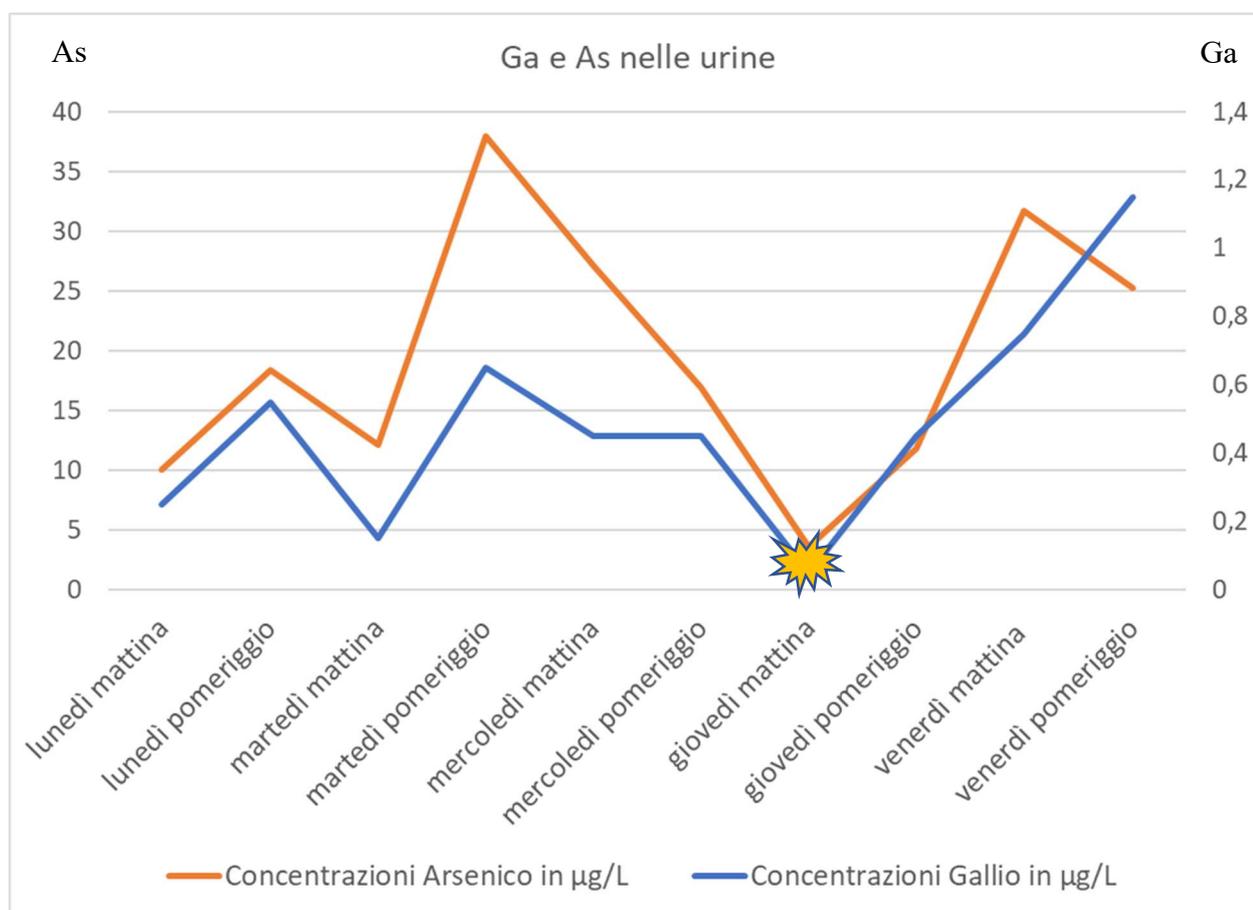


Grafico 4: Andamento settimanale delle concentrazioni di Gallio e Arsenico nelle urine

Nel grafico 5 viene esaminato il grado di correlazione tra i livelli di concentrazione urinari di Gallio ed Arsenico. In questo caso si osserva una concentrazione mediamente superiore dei livelli di arsenico rispetto alle concentrazioni di gallio.

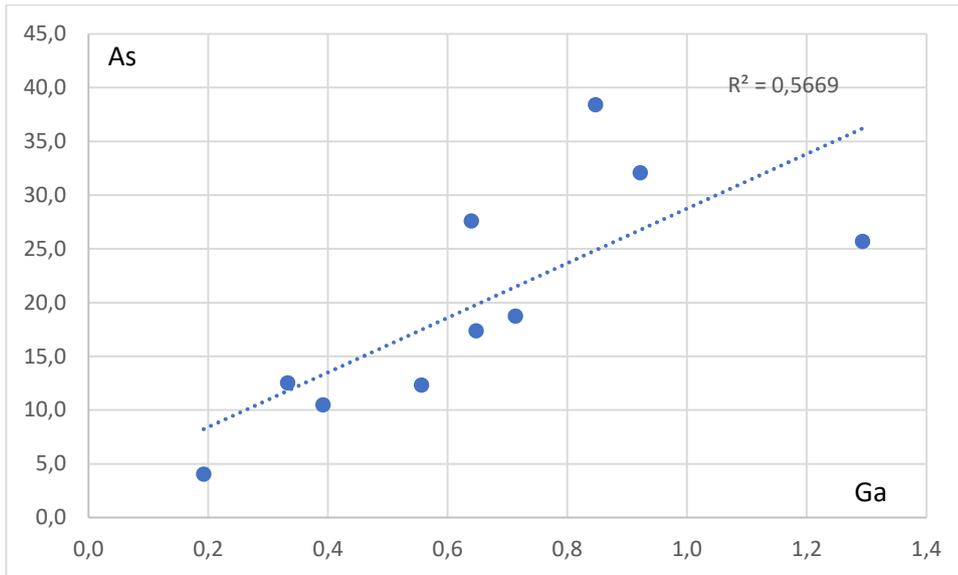


Grafico 5: Correlazione della concentrazione tra Arsenico e Gallio nelle urine

5. DISCUSSIONE

GHOST WIPES

In generale, per quanto riguarda i campioni effettuati come bianco di riferimento negli uffici della struttura, è stata rilevata la presenza di entrambi gli elementi in basse concentrazioni (valori medi \pm standard deviation: Gallio $1,36 \pm 1,23$ ng/cm²; As $0,51 \pm 0,39$ ng/cm²). Il valore di arsenico più elevato riscontrato è stato osservato sul pavimento sotto la scrivania dell'operatore addetto alla manipolazione di GaAs (As: $1,44$ ng/cm²). A tale dato corrisponde anche una concentrazione superiore alla media di gallio (Ga: $3,63$ ng/cm²). Considerando che tale ufficio è ubicato al piano superiore rispetto al laboratorio MBE, ciò è indicativo di un possibile trasporto con le suole delle scarpe del lavoratore. Il valore più elevato di Gallio riscontrato negli uffici è stato osservato sulla superficie della cassettera dell'operatore addetto al laboratorio MBE (Ga: $3,74$ ng/cm²). Ciò denota la veicolazione della contaminazione mediante contatto con le mani contaminate.

Invece per quanto riguarda i campionamenti fatti in Laboratorio, si può dire che, le concentrazioni di Arsenico più critiche si trovano sul pavimento al di sotto della cappa e sotto il Load Lock (parte dell'MBE dove viene estratto il film sottile di Arseniuro di Gallio) e nel bancone dove viene svolta l'attività di taglio del film con la punta diamantata (Ga= $3307,61$ ng/cm²; As= $1418,02$ ng/cm²). La contaminazione è stata rilevata anche il lunedì mattina, prima dell'avvio delle attività lavorative, denotando la non completa efficacia delle operazioni di pulizia (in particolare dei pavimenti).

L'elevata contaminazione del pavimento (Ga= $3013,69$ ng/cm²; As= $250,86$ ng/cm²) sotto la cappa, è correlata alla conformazione del bancone dove avviene la fase di taglio e la manipolazione dei campioni; che, essendo forato consente la dispersione del particolato sulle superfici sottostanti.

Contaminazioni significative sono state riscontrate anche sul pavimento sotto il load lock (Ga= $286,93$ ng/cm²; As= $241,35$ ng/cm²), sul pavimento al di sotto della membrana (cioè la pompa che fa il pre-vuoto per il load-lock) (Ga= $113,06$ ng/cm²; As= $93,40$ ng/cm²), sul tavolo del microscopio (Ga= $134,73$ ng/cm²; As= $114,70$ ng/cm²) anche qua è presente una maggiore concentrazione di Gallio poiché vengono fatte delle piccole lavorazioni, usando il Gallio come collante. Inoltre, sulla cassettera (Ga= $39,25$ ng/cm²; As= $0,64$ ng/cm²) che viene utilizzata per i materiali di ricambio; nell'ingresso del Laboratorio sia nella parte esterna (Ga= $54,07$ ng/cm²; As= $93,34$ ng/cm²) sia in quella interna (Ga= $19,51$ ng/cm²; As= $19,63$ ng/cm²), ciò fa capire che i due tappetini blu che sono presenti da entrambe le parti dell'ingresso al Laboratorio sono inefficaci, considerato che è presente una contaminazione anche nella parte esterna. Per quanto riguarda i

campioni non standardizzabili, è stata osservata la presenza di contaminazione sulle maniglie della cassettera usata per i materiali di ricambio (Ga=553,49 ng/cm²; As= 173,91 ng/cm²), sulle manopole del microscopio (Ga= 244,09 ng/cm²; As= 27,29 ng/cm²) e su quelle del sistema MBE (Ga= 102,97 ng/cm²; As= 44,24 ng/cm²). Un dato rilevante è stata la presenza di Ga e As sulla superficie della maschera facciale (Ga= 208,07 ng/cm²; As= 57,76 ng/cm²) utilizzata come DPI dall'operatore. Tale dato è verosimilmente attribuibile all'impropria conservazione di questa sul piano di lavoro, utilizzato per la manipolazione dei campioni, e l'inadeguato cambio dei filtri.

La superficie che ha presentato meno Arsenico è la scrivania del Lavoratore (Ga= 3,52 ng/cm²; As= 0,96 ng/cm²), questo probabilmente perché si trova sul lato opposto della cappa e dell'MBE (quindi più lontano rispetto alla fonte di esposizione).

Considerando i valori del mattino e del pomeriggio si può notare che si verifica un aumento delle concentrazioni al pomeriggio, si può ipotizzare che questo accada perché le nanoparticelle hanno un certo tempo di deposizione e accumulo, di conseguenza, al termine della giornata ci si aspetta un risultato maggiore.

I valori di Gallio sono in linea generale superiori ai valori di Arsenico in quanto il Gallio viene utilizzato anche per la preparazione del porta-campione in modo da far aderire il campione di film sottile di GaAs. Inoltre c'è una correlazione abbastanza forte tra la concentrazione di Gallio e Arsenico ($R^2= 0,5902$).

TAPE STRIP

Si è riscontrato che durante la settimana i livelli di contaminazione di Arsenico e Gallio sono risultati mediamente inferiori la mattina (valori medi Ga 15,140; As 0,380), rispetto al pomeriggio (valori medi Ga 183,22 ; As 5,18), una maggior concentrazione di Gallio rispetto all'Arsenico si spiega con il fatto che il Lavoratore usa una quantità maggiore del primo metallo come collante per far aderire il campione di GaAs al porta-campione di conseguenza è più frequente il contatto tra cute e Gallio; inoltre si può evidenziare che mediamente tra mattina e pomeriggio si è verificato un aumento della concentrazione di circa 12,102 volte per il Gallio e di 13,63 per l'Arsenico.

Ciò denota la presenza di una contaminazione cutanea, nonostante il Lavoratore usi i guanti come DPI, durante le operazioni di manipolazione del campione, le quali vengono effettuate principalmente al pomeriggio.

La correlazione tra la concentrazione di Gallio e Arsenico è risultata molto debole, con un coefficiente di correlazione R^2 pari a 0,1615.

URINE

Si è riscontrato che l'escrezione media settimanale di Gallio, nelle urine, è di 0,49 µg/L, mentre di Arsenico è pari a 19,5 µg/L, tale concentrazione è al di sotto dell'Indice Biologico di Esposizione (BEI) (indice fornito dalla American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) come uno strumento descrittivo utile per valutare se un lavoratore è sottoposto all'esposizione dell'inquinante al di sopra del livello di sicurezza) che è di 35 µg/l per l'Arsenico, tuttavia in una giornata si è riscontrato un picco con una concentrazione di As pari a 37,95 µg/l, livello che supera di gran lunga quello dell'Indice. L'aumento della concentrazione si è verificato presumibilmente perché quel pomeriggio il Lavoratore ha svolto varie attività, come, il cambio campione con il Load Lock aperto, operazioni di chiusura settaggi sull'MBE, sotto cappa il taglio, la manipolazione e la pulizia del campione di film sottile, che hanno portato a quell'aumento che si è verificato. Per quanto riguarda le concentrazioni di gallio osservate nei campioni di urina, si osserva che i valori rilevati si sono collocati al di sotto della soglia di rilevabilità strumentale.

6. CONCLUSIONE

I dati riscontrati nell'ambito della presente tesi hanno evidenziato la presenza di hot spots di contaminazione ambientale, in particolare sui pavimenti in prossimità del sistema MBE, sulle superfici dello stesso, all'interno del piano di lavoro della cappa aspirante e su numerose attrezzature del laboratorio. La presenza di tracce di gallio all'uscita del laboratorio e in corrispondenza della scrivania presso l'ufficio del lavoratore evidenzia la diffusione da parte dell'operatore all'esterno del laboratorio. La determinazione di livelli non trascurabili di gallio e arsenico su numerose superfici del laboratorio riscontrate il lunedì mattina è indice di carenze nelle operazioni ordinarie di pulizia a fine turno/fine settimana. Analogamente, la presenza di significativi livelli di contaminazione sul facciale filtrante è indice del mancato rispetto delle buone prassi nella gestione dei dispositivi di protezione individuale, impropriamente conservati all'interno della cappa aspirante.

L'aumento della concentrazione cutanea di gallio e arsenico tra inizio e fine turno è indice di un'inadeguata protezione della cute dell'operatore durante le attività lavorative condotte in

laboratorio. L'utilizzo dei guanti in nitrile non consente infatti la completa protezione degli avambracci, che rimangono scoperti in assenza di idoneo camice protettivo.

I livelli di arsenico urinari riscontrati evidenziano l'esposizione professionale a GaAs, risultando superiori ai valori indicati dalla SIVR (Società Italiana Valori di Riferimento) di 15 µg/L. In particolare in una giornata, in concomitanza con un aumento delle attività di manipolazione del GaAs in laboratorio si è osservato il superamento del valore soglia di 35µg/L raccomandato dall'ACGIH.

Gli elementi raccolti denotano pertanto la necessità di interventi diretti ad evitare la dispersione di contaminanti al di fuori delle aree di manipolazione. Un intervento potrebbe riguardare la sostituzione della cappa attualmente in uso che presenta un piano di lavoro forato con un sistema a chiusura ermetica del tipo glove-box o per lo meno con una cappa chimica con flusso laminare munita di filtri HEPA. Il Glove Box è una camera sigillata, appositamente progettata e costruita per manipolare sostanze in un ambiente confinato e completamente separato da quello che si trova il Lavoratore. Due guanti lunghi e robusti permettono all'operatore di effettuare le manipolazioni necessarie senza venire in contatto con il materiale inserito all'interno; l'isolamento nella camera è garantito da una differenza di pressione positiva o negativa rispetto all'ambiente esterno, che viene mantenuta attraverso un sistema di ventilazione forzato.

Per quanto concerne l'utilizzo dei DPI ed in particolare il facciale filtrante, è necessario osservare le massime cautele nella conservazione degli stessi, provvedendo a depositarli in apposito armadio chiuso al riparo da eventuali contaminazioni. Risulterebbe altresì importante assicurare la protezione del lavoratore coprendo i lembi di cute esposta con apposito camicie in tyvek aderente ai polsi. Al fine di evitare la dispersione di contaminanti al di fuori del laboratorio, oltre all'utilizzo di tappetini adesivi in corrispondenza dell'accesso al laboratorio, sarebbe necessario l'utilizzo di copri calzari monouso così che una volta terminata l'attività, questi vengano eliminati, evitando pertanto di contaminare altre parti, come per esempio gli uffici.

Un ulteriore aspetto da implementare è connesso alle operazioni di pulizia ordinaria di laboratorio ed attrezzature, da effettuare sistematicamente alla fine di ogni ciclo lavorativo utilizzando aspiratori muniti di filtri ad alta efficienza HEPA.

7. BIBLIOGRAFIA

ARTICOLI:

- Aillon KL, Xie Y, El-Gendy N, Berkland JC, Forrest LM, “Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 61, June 2009, pp. 457-466.
- Asbach, C., Alexander, C., Clavaguera, S., Dahmann, D., Dozol, H., Faure, B., Fierz, M., Fontana, L., Iavicoli, I., Kaminski, H., MacCalman, L., Meyer-Plath, A., Simonow, B., van Tongeren, M., & Todea, AM (2017). Revisione delle tecniche e dei metodi di misurazione per la valutazione dell'esposizione personale ai nanomateriali aerodispersi nei luoghi di lavoro. *Scienza dell'ambiente totale*, 603–604, 793–806.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.049>
- Borm, PJA, Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Pietra, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, DB, & Oberdorster, E. (2006). I potenziali rischi dei nanomateriali: una revisione effettuata per ECETOC. In *Tossicologia delle particelle e delle fibre*. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-3-11>
- Carter, DE, Aposhian, HV e Gandolfi, AJ (2003). Il metabolismo dell'arsenico inorganico ossidi, arseniuro di gallio e arsina: una revisione tossicochimica. *Tossicologia e farmacologia applicata*. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.07.009>
- G. Biasiol and L. Sorba “Molecular beam epitaxy: principles and applications”, in *Crystal growth of materials for energy production and energy-saving applications*, R. Fornari, L. Sorba, Eds. (Edizioni ETS, Pisa, 2001) pp. 66-83.
- Greber, J.F. (2003) Composti di gallio e gallio. In: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 6th rev. Ed., Vol. 15, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., pp. 235-240.
- Gwinn MR, Vallyathan V. “Nanoparticles: health effects-pros and cons.”, *Environ. Health. Perspect.* Vol. 114, number 12, December 2006, pp. 1818–1825.
- Hartmann, CB, Harrison, MT e McCoy, KL (2005). Immunotossicità dell'arseniuro di gallio su presentazione dell'antigene: studio comparativo delle vie di esposizione intratracheale e intraperitoneale. *Giornale di immunotossicologia*.
<https://doi.org/10.1159/000086425>
- Iavicoli, I., Fontana, L., Pingue, P., Todea, AM, & Asbach, C. (2018). Valutazione esposizione professionale a nanomateriali ingegnerizzati nei laboratori di ricerca che utilizzano monitor personali. *Scienza dell'ambiente totale*.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.260>

- Kishore AS, SurekhaP, Murthy PB. “Assessment of the dermal and ocular irritation potential of multi-walled carbon nanotubes by using in vitro and in vivo methods”, *Toxicology Letters*, Vol. 191, December 2009, pp. 268-274.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.09.007>.
- Lademann JM, Patzelt A M.D., Richter H, Antoniou C, Sterry W M.D., Knorr F, “Determination of the cuticula thickness of human and porcine hairs and their potential influence on the penetration of nanoparticles into the hair follicles”, *Journal of biomedical optics*, Vol. 14. <https://doi.org/10.1117/1.3078813>
- Larese FF, Boeninger M, Maina G, Adami G, Spinelli P, Damian A. “Skin absorption of inorganic lead and the effects of skin cleansers”, *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, Vol. 48, July 2006, pp. 692-699.
- Larese FF, D’Agostina F, Crosera M, Adami G, Renzic N, Bovenzi M, Maina G. “Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin”, *Toxicology*, Vol. 255, January 2009, pp. 33-37.
- Larese FF, Mauro M, Adami G, Bovenzi M, Crosera M. “Nanoparticles skin absorption: New aspects for a safety profile evaluation”, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, Vol. 72, July 2015, pp. 310-322.
- Monteiro-Riviere NA, Nemanich RJ, Inman AO, Wang YY, Riviere JE. “Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes”, *Toxicology Letters*, Vol. 155, March 2005, pp. 377-384. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.11.004>.
- Nel EA, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek E M V, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V & Thompson M, “Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface”, *Nature Materials*, Vol. 8, June 2009, pp 543–557.
- Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J, “Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles”, *Environ Health Perspect*, Vol. 113, July 2005, pp. 823-839.
- Roco, MC, Hersam, MC e Mirkin, CA (2011). Indicazioni di ricerca sulle nanotecnologie per Bisogni della società nel 2020. Indicazioni di ricerca sulle nanotecnologie per i bisogni della società nel 2020. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1168-6>
- Tanaka, A. (2004). Tossicità dell'arseniuro di indio, arseniuro di gallio e arseniuro di gallio alluminio. *Tossicologia e farmacologia applicata*.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.10.019>

- Tsuji JS, Maynard AD, Howard PC, James JT, Lam C, Warheit DB, Santamaria AB, “Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials;Part IV: Risk Assessment of Nanoparticles”, Toxicological Sciences, Vol.. 89 January 2006, pp. 42-50.
- Van Broekhuizen P, Van Broekhuizen F, Cornelissen R, Reijnders L. “Workplace exposure to nanoparticles and the application of provisional nanoreference values in times of uncertain risks.”, Journal of Nanoparticle Research, Vol..14, February 2012, pp 1-25. (PDF) Workplace exposure to nanoparticles and the application of provisional nanoreference values in times of uncertain risks.
- Warheit DB, Sayes CM, Reed KL, Swain KA. “Health effects related to nanoparticle exposures: environmental, health and safety considerations for assessing hazards and risks.” Pharmacology & Therapeutics. Vol..120, 2008, pp. 35-42.

SITI:

- www.OECD.org
- <https://www.iss.it/ocse-nanomateriali>
- www.issalute.it
- www.salute.gov.it/arsenico (Valutazione del rischio e valore guida)
- www.epa.gov
- <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/9102.pdf>
- <https://euon.echa.europa.eu/it/ensure-safe-use-of-nanomaterials-at-the-workplace>
- www.cdc.gov/niosh/docs/2022-153/2022-153.pdf?id=10.26616/NIOSH PUB2022153
- <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/it/12-modi/inquinanti/307-inquinanti-riquadro/779-riquadro-5-arsenico-e-composti-inorganici-dell-arsenico>
- www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/nmsp-inventorypaper2008.pdf

DOCUMENTI:

- ACGIH Worldwide (2003) "Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values" (2003).
- Bakand S, Hayes A, Dechsakulthorn F. Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. *Inhal Toxicol.* 2012;24(2):125-35. doi: 10.3109/08958378.2010.642021. Epub 2012 Jan 20. PMID: 22260506.
- Commissione Europea "Lavorare in condizioni di sicurezza con i nanomateriali ingegnerizzati- Guida non vincolante per i datori di lavoro e i professionisti della salute e della sicurezza" (2013)
- Council Directive 89/391/EEC of 12 June 1989 on the introduction of measures to encourage improvements in the safety and health of workers at work.
- Council Directive 98/24/EC of 7 April 1998 on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work.
- EU-OSHA (2009): Workplace exposure to nanoparticles, European Risk Observatory Literature Review.
http://osha.europa.eu/en/publications/literature_reviews/workplace_exposure_to_nanoparticles
- European Commission "Guidance on the protection of the health and safety of workers from the potential risks related to nanomaterials at work- Guidance for employers and health and safety practitioners" (2014).
- Fabio Boccuni, Riccardo Ferrante, Francesca Tombolini, Sergio Iavicoli, Pasqualantonio Pingue, Fabio Beltram, Lucia Sorba, Vincenzo Piazza, Mauro Gemmi, Federica Lodato, Elvio Mantovani, Andrea Porcari. INAIL Dipartimento di medicina, epidemiologia, igiene del lavoro e ambientale (2018).
- I. Iavicoli, V. Leso- Dipartimento di Sanità Pubblica, Sezione di Medicina del Lavoro, Università degli Studi di Napoli "Federico II" Napoli, "Valutazione del rischio da nanomateriali: possibile uso del monitoraggio biologico nella valutazione dell'esposizione."
- NIOSH (2009): Interim Guidance for Medical Screening and Hazard Surveillance for Workers Potentially Exposed to Engineered Nanoparticles, *Current Intelligence Bulletin* 60.

- Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency.
- Reviewing New Chemicals under the Toxic Substances Control Act (TSCA)- www.epa.gov/reviewing-new-chemicals-under-toxic-substances-control-act-tsca/control-nanoscale-materials-under
- Simon Kaluza, Judith kleine Balderhaar, Bruno Orthen, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA, project leader), Germany Bertrand Honnert, Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS), France Elzbieta Jankowska, Piotr Pietrowski, Centralny Instytut Ochrony Pracy - Państwowy Instytut Badawczy (CIOP-PIB), Poland Maria Gracia Rosell, Celia Tanarro, José Tejedor, Agurtzane Zugasti, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), Spain. “Literature Review - Workplace exposure to nanoparticles”.
- The University of Texas Health Science Center at Houston “Nanoparticles Safety Guide”.

LIBRI:

- Gruppo di lavoro IARC sulla valutazione dei rischi cancerogeni per l'uomo. Cobalto in metalli duri e solfato di cobalto, arseniuro di gallio, fosfuro di indio e pentossido di vanadio. Lione (FR): Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro; 2006. (Monografie IARC sulla valutazione dei rischi cancerogeni per gli esseri umani, n. 86.) Arseniuro di gallio. Disponibile da: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321691/>
- Libro “Arsenico, metalli, fibre e polveri. Monografie IARC sulla valutazione dei rischi cancerogeni per l'uomo” (2012).
- M.A.Herman and H.Sitter “Molecular Beam Epitaxy- Fundamentals and Current Status” (Libro).

RINGRAZIAMENTI

Nella stesura di questa tesi, è stato per me fondamentale il supporto della mia Relatrice la dott.ssa Francesca Larese, cui ringrazio per avermi seguito con gran disponibilità, del mio Correlatore il dottor. Marco Rizzo, che mi ha assistito, passo dopo passo, con disponibilità e pazienza, nella stesura di questo elaborato. Un ringraziamento speciale va ai tutor: Giovanni Missana e Michele Bordignon per avermi accompagnato in questi tre anni, grazie a voi ho ampliato le mie conoscenze e le mie competenze. Non posso non ringraziare i miei genitori per essermi stati sempre accanto; mio fratello, che mi ha trasmesso la passione per lo studio, la determinazione nel raggiungere gli obiettivi posti. Inoltre un ringraziamento va ai miei amici e ai miei compagni di corso, che sono rimasti accanto a me in questi anni, grazie, per avermi trasmesso entusiasmo, coraggio e avermi spronato a dare sempre il meglio.