



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI UDINE

DIPARTIMENTO DI AREA MEDICA

CORSO DI LAUREA INTERATENEO IN

TECNICHE DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

TESI DI LAUREA

ESPOSIZIONE A NANOPARTICELLE

**Valutazione dell'esposizione personale ed
ambientale a nanoparticelle in un laboratorio di
ricerca che usa GaAs con tecnica MBE**

RELATORE:

PROF.SSA LARESE FRANCESCA FILON

LAUREANDO:

BUTTOLO ELIA

CORRELATORE:

DOTT. RIZZO MARCO

ANNO ACCADEMICO 2022 / 2023

INDICE

1. ABSTRACT.....	1
2. INTRODUZIONE	3
2.1. <i>Nanomateriali e nanoparticelle.....</i>	3
2.2. <i>Contesto normativo.....</i>	4
2.3. <i>La produzione di nanoparticelle</i>	5
2.4. <i>Esposizione a nanoparticelle</i>	7
2.4.1. <i>Esposizione inalatoria.....</i>	7
2.4.2. <i>Tossicocinetica delle nanoparticelle</i>	8
2.4.3. <i>Un approccio multilivello.....</i>	9
2.4.4. <i>Buone pratiche di lavoro</i>	11
2.4.5. <i>Sistemi di protezione</i>	12
2.5. <i>Arseniuro di Gallio (GaAs)</i>	13
2.6. <i>Arsenico</i>	15
2.6.1. <i>Assorbimento.....</i>	15
2.6.2. <i>Tossicità</i>	15
2.6.3. <i>Gallio.....</i>	16
2.6.4. <i>Esposizione e tossicologia del GaAs.....</i>	17
2.6.5. <i>Applicazioni del GaAs</i>	18
3. SCOPO DEL PROGETTO	20
4. MATERIALI E METODI	21
4.1. <i>Processo produttivo.....</i>	21
4.2. <i>MBE: Molecular Beam Epitaxy</i>	21
4.3. <i>Approccio alla misura e campionamento.....</i>	23
4.3.1. <i>Monitoraggio in tempo reale.....</i>	23
4.3.2. <i>Monitoraggio personale</i>	26
4.3.3. <i>Monitoraggio ambientale.....</i>	26
4.3.4. <i>Piano di campionamento</i>	28
4.4. <i>Aree di campionamento</i>	28
4.4.1. <i>Il Laboratorio</i>	29
4.4.2. <i>L'ufficio.....</i>	31
4.5. <i>Analisi dei dati.....</i>	31
4.5.1. <i>Analisi qualitativa ICP-MS.....</i>	31
4.5.2. <i>Analisi quantitativa</i>	32
5. RISULTATI.....	33

<i>5.1. Monitoraggio in tempo reale</i>	33
<i>5.2. Monitoraggio personale</i>	37
<i>5.3. Monitoraggio ambientale</i>	39
6. DISCUSSIONE	42
7. CONCLUSIONI	43
8. BIBLIOGRAFIA	44

1. ABSTRACT

Le nanoparticelle sono una tecnologia in rapida ascesa: i continui processi di ricerca e sviluppo ne stanno permettendo l'applicazione in numerosi ambiti industriali e della vita quotidiana. Tra le migliaia di nanoparticelle di cui siamo a conoscenza oggi alcune risultano essere innocue, mentre altre hanno destato preoccupazione in merito ai loro possibili effetti tossici e cancerogeni. Tra queste è presente l'Arseniuro di Gallio (GaAs), un materiale che nella sua forma nanoparticellare ha dimostrato valide proprietà come semiconduttore nella produzione di dispositivi elettronici, ma che per le sue caratteristiche chimiche e fisiche esercita tossicità sui polmoni e sui testicoli, sui reni, sul cervello e sul sistema immunitario (Tanaka A. ,2004; Flora et al., 2012) ed è classificato dalla IARC come cancerogeno di gruppo 1 (IARC 2006).

Lo scopo di questa tesi è quello di valutare l'esposizione a nanoparticelle di arseniuro di gallio all'interno di un laboratorio presso i locali del Centro Nazionale di Ricerca di Basovizza (TS), che utilizza la tecnica MBE (Molecular Beam Epitaxy) per la produzione di semiconduttori realizzati con substrati nano ingegnerizzati di GaAs.

Al fine di valutare compiutamente l'esposizione del lavoratore a nanoparticelle, è stato implementato un protocollo a più livelli, conforme alle indicazioni dell'Organisation for Economic Co-operation and Development (OCSE, 2015).

Tale approccio ha previsto una prima analisi del processo lavorativo e delle aree di lavorazione, in modo da valutare la possibile esposizione lavorativa.

Non potendo escludere aprioristicamente l'esposizione professionale, è stato necessario attuare un secondo livello di approfondimento, avvalendosi di misurazioni in tempo reale con dispositivi portatili per caratterizzare concentrazione e dimensione media delle nanoparticelle aerodisperse.

Un ulteriore livello di approfondimento è stato implementato mediante l'utilizzo di campionatori con filtri per l'effettuazione di analisi quali-quantitative per la determinazione di arsenico e gallio nell'aria respirata dal lavoratore.

L'implementazione di una strategia multimetrica ha consentito di ottenere un quadro conoscitivo completo dei profili di esposizione per via aerea e ha permesso di valutare l'efficacia e l'appropriatezza delle misure di protezione implementate a tutela del lavoratore.

I risultati ottenuti indicano un'esposizione contenuta dell'operatore: i valori ottenuti dal

monitoraggio dell'arsenico risultano essere inferiori ai limiti previsti dalla norma. Allo stesso modo, i dati ottenuti dal monitoraggio personale ed ambientale del gallio indicano una presenza più costante dell'elemento nell'ambiente di lavoro (riconcucibile probabilmente al metodo di stoccaggio di quest'ultimo). La presenza di gallio nell'ufficio dove si sono svolte le indagini di background fa supporre una ridotta attenzione nelle attività di pulizia e nell'implementazione di vestiario protettivo che potrebbe evitare il trasporto delle nanoparticelle all'esterno del laboratorio.

2. INTRODUZIONE

2.1. Nanomateriali e nanoparticelle

I nanomateriali ingegnerizzati sono una classe di materiali cristallini in cui almeno una delle tre dimensioni spaziali è in scala nanometrica, ovvero di una dimensione compresa tra 1 e 100 nm (ISO/TS 80004-2:2015). Si parla di materiali ingegnerizzati per poterli distinguere dal particolato ambientale in quanto, nonostante ne condividano l'ordine di grandezza delle dimensioni, possiedono caratteristiche chimiche e fisiche differenti.

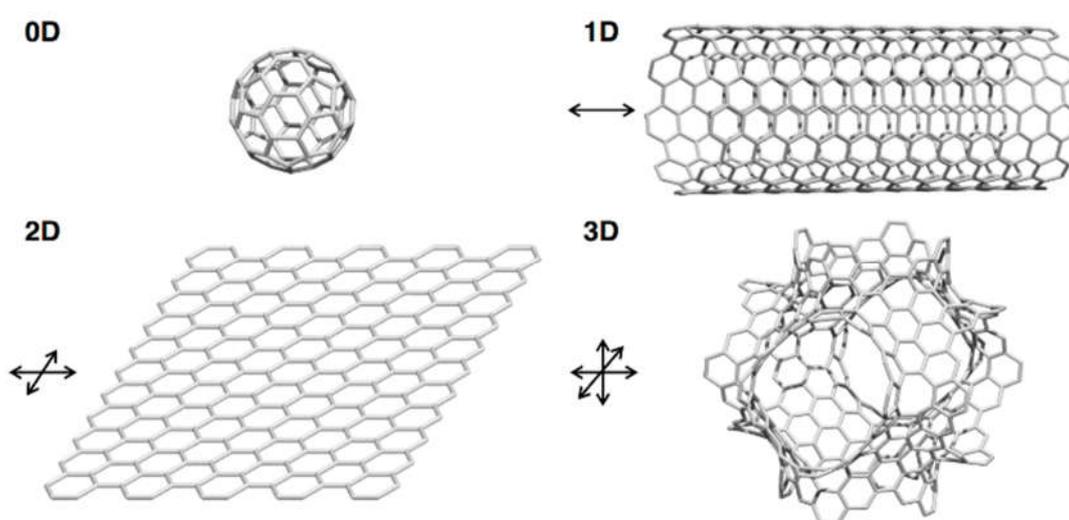


Fig. 2.1 Classificazione dei nanomateriali in base alle dimensioni

Nello specifico, si considerano nanoparticelle tutti quei materiali in cui tutte e tre le dimensioni spaziali ricadono nella scala nanometrica. Negli ultimi anni le nanoparticelle stanno trovando numerose applicazioni nello sviluppo di nuove tecnologie grazie alle loro caratteristiche chimico-fisiche uniche, nonché all'efficacia ed economicità della loro produzione: a causa dell'aumento della produzione e dell'uso di nanoparticelle, sempre più lavoratori e consumatori possono essere esposti ad esse. Ad oggi è presente un acceso dibattito tra gli scienziati al fine di voler definire quali possono essere i possibili effetti legati a questa esposizione. Mentre alcuni tipi di nanoparticelle possono essere sicuri per il contatto cutaneo (come il biossido di titanio e l'ossido di zinco), altri possono esercitare un effetto sensibilizzante a cause del possibile rilascio di metalli sensibilizzanti (come ad esempio Ni, Pd,

Co) ed altre ancora possono avere degli effetti tossici, come nel caso di nanoparticelle che possono rilasciare metalli tossici come Cd o As.

Le applicazioni che esse possono trovare dipendono, oltre che dalle loro dimensioni, anche dalla tipologia di materiale di cui sono composte: base carbonio, ceramiche, metalliche, a semiconduttore, base lipidiche, polimeriche (Khan, 2019).

Le proprietà che caratterizzano le nanoparticelle hanno fatto in modo che il loro uso e diffusione, sia in ambito della ricerca che della produzione, crescessero in modo esponenziale: ciò ha dato origine a delle preoccupazioni dal punto di vista della salute e sicurezza sia per la popolazione generale che per le persone esposte professionalmente, in quanto si possono considerare presenti nella vita delle persone dal momento della loro produzione, fino al possibile rilascio in ambiente sia durante l'uso che durante lo smaltimento di prodotti che le possono contenere; nonché per i loro profili tossicologici che possono differire da quelli di particelle più grandi composte dallo stesso materiale (Borm et al., 2006).

2.2. Contesto normativo

A livello normativo, le nanoparticelle devono sottostare a disposizioni normative che trovano origine in regolamenti e direttive europee.

Tra le norme principali troviamo il regolamento europeo 1907/2006/CE (REACH). Tale regolamento ha lo scopo di garantire un elevato livello di protezione della salute umana e dell'ambiente. I nanomateriali non sono esplicitamente previsti da tale regolamento, ma sono inclusi da una più generica definizione di "sostanza". La norma, infatti, definisce come sostanza *"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"*.

Altra norma di riferimento per le nanoparticelle è la direttiva 89/391/CEE (direttiva quadro sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro), che ha lo scopo di definire i requisiti minimi generali in materia di salute e sicurezza sui luoghi di lavoro.

A livello europeo la Direttiva 98/24/CE in materia di salute e sicurezza contro i rischi derivanti da esposizione ad agenti chimici nei luoghi di lavoro è largamente considerata la norma più rilevante al fine della tutela dei lavoratori che operano con nanomateriali. Come nel caso della

Direttiva REACH, questa norma non dichiara in maniera esplicita i nanomateriali nei campi di applicazione, tuttavia essi rientrano nella definizione degli obiettivi generali dell'atto: *“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”* (art. 2, lett. b, p. iii).

Nel contesto della tutela ambientale, si fa riferimento alla Direttiva 96/61/CE, che prevede l'attuazione della strategia IPPC, ovvero il piano europeo che pone l'obiettivo di prevenire e ridurre il livello di emissioni per conseguire un livello elevato di protezione dell'ambiente e per migliorare le prestazioni ambientali dei complessi industriali soggetti ad autorizzazione ambientale. Nello specifico, la direttiva IPPC può essere applicata nel controllo degli impatti dei nanomateriali a livello ambientale tramite l'inclusione nei processi di lavoro delle BAT (Best Available Technology).

Ad oggi sono ancora in corso vari dibattiti sul sistema da applicare per poter considerare in maniera adeguata l'ampia varietà di nanomateriali a livello normativo. A tal proposito sono stati avviati diversi programmi di ricerca e standardizzazione su larga scala con lo scopo di definire degli standard in grado di colmare la mancanza di dati in ambito di nanomateriali e ridurre le incertezze che ci sono in materia. Questi programmi sono finanziati da vari enti come l'Organizzazione Internazionale per la Standardizzazione (ISO) e l'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE); favorendo una collaborazione a livello internazionale per esaminare le sfide poste dalle nanotecnologie, e valutare l'efficacia degli approcci esistenti.

2.3. La produzione di nanoparticelle

Sono molti gli ambiti professionali in cui possiamo ritrovare nanoparticelle, sia in contesti produttivi che in quelli di ricerca: la loro presenza può considerarsi volontaria quando la loro produzione è il fine ultimo del processo, ma dobbiamo considerare anche la formazione di nanoparticelle involontarie (dette incidentali) che vengono rilasciate in maniera occasionale come sottoprodotti di lavorazioni chimiche, fisiche o meccaniche del ciclo produttivo (come,

ad esempio, combustioni, condensazioni, spray ad alta temperatura, saldatura,...). (Van Broekhuizen et al., 2012)

Nell'ambito della produzione volontaria, le situazioni in cui si possono trovare nanoparticelle sono le più disparate. Ad oggi si conoscono e producono migliaia di materiali in scala nanometrica che vengono applicati in numerosi campi, ad esempio:

- SiO_2 (biossido di silicio): come biomarcatori per l'identificazione delle cellule leucemiche, somministrazione di farmaci e terapia del cancro nel campo medico. Vengono anche applicati alla lucidatura chimica, a toner per stampanti, vernici, farmaci, cosmetici e alimenti come additivi nel campo industriale;
- CeO_2 (diossido di cerio) utilizzate in celle solari e a combustibile, sensori di gas, abrasivi per planarizzazione chimico-meccanica, pompe per ossigeno, applicazioni metallurgiche, vetrose e ceramiche.
- TiO_2 (biossido di titanio) le nanoparticelle trovano applicazione nelle vernici, nella sterilizzazione, nella ceramica biomedicale e nei biomateriali impiantati, nella cosmetica e nella farmaceutica;
- Le nanoparticelle di Ag (argento) sono utilizzate campo tessile, purificazione dell'acqua, produzione di prodotti di benessere come dentifrici, deodoranti e shampoo, tettarelle per neonati e biberon, filtri, utensili da cucina, giocattoli e umidificatori;
- I nanotubi di carbonio (CNT) sono di interesse per l'elettronica, microfabbricazione di attivatori di polimeri coniugati, biosensori e tecniche avanzate di imaging con microscopia a scansione elettronica.

La produzione può avvenire con due metodi differenti: un metodo "ascendente" (bottom-up) ed uno "discendente" (top-down). Il primo fa riferimento a processi di natura chimico-fisica e consiste nella costruzione di materiali assemblandoli atomo per atomo secondo precisi schemi, mentre il secondo è un processo generalmente di natura meccanica, tipico dei processi di miniaturizzazione delle componenti nell'industria elettronica.

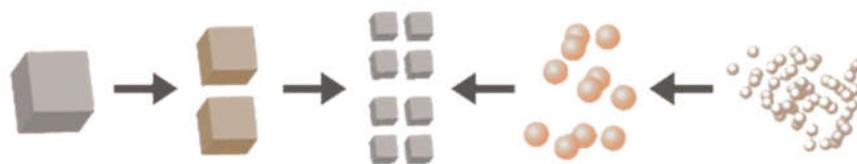


Fig. 2.2 Schema dei processi di produzione di nanomateriali

Le caratteristiche che le nanoparticelle assumono dipendono dalle condizioni chimico-fisiche in cui avvengono i processi di produzione. Le particelle nelle primissime fasi di produzione hanno un diametro genericamente compreso tra 10nm e 50nm, andando poi a coagulare fino al raggiungimento di dimensioni superiori a quelle definite per le nanoparticelle: ciò significa che a sorgenti puntuali ad alta temperatura e concentrazione si ha una rapida condensazione delle nanoparticelle già a breve distanza dal punto di origine, mentre per sorgenti diffuse a temperature inferiori si avrà una riduzione del processo di coagulazione, permettendo una maggiore aerodispersione. Risulta quindi importante definire la posizione delle vie respiratorie del lavoratore rispetto alla sorgente delle nanoparticelle.

2.4. Esposizione a nanoparticelle

Le possibili vie di ingresso includono l'inalazione, l'assorbimento attraverso la pelle o l'apparato digerente (Chen e Schluesener, 2008), ma anche l'iniezione volontaria, l'assorbimento o l'impianto di sistemi di rilascio di farmaci (Guterres et al. 2007; Lademann et al. 2007).

La mancanza di un'esposizione realistica e dei conseguenti dati epidemiologici rendono ancora oggi poco chiari gli effetti sulla salute umana (Murugadoss et al., 2017). Diventa quindi fondamentale conoscere il numero di lavoratori esposti. Nonostante l'estrema diffusione delle nanotecnologie abbia reso 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 di circa 6 milioni a livello mondiale (Roco et al., 2011). Attualmente non sono disponibili degli OEL (limite di esposizione professionale) a livello europeo. Esistono tuttavia dei valori guida indicati dal WHO per alcune categorie di nanomateriali ingegnerizzati. Il NIOSH ha definito dei valori limite di esposizione per nanotubi di carbonio, nano-fibre, argento e biossido di titanio.

2.4.1. Esposizione inalatoria

La principale via di esposizione a nanoparticelle è quella per via inalatoria. Esse hanno la capacità, in virtù delle loro ridotte dimensioni, di raggiungere i tratti più profondi dell'albero respiratorio, ovvero la regione alveolare. Il principale meccanismo di deposizione è la

diffusione. Nello studio fatto da Asbach è stato indicato che la tossicità delle nanoparticelle si correlerebbe più adeguatamente all'area di superficie depositata nei polmoni (Asbach et al., 2017).

Col variare della dimensione varia la capacità di depositarsi all'interno dell'apparato respiratorio: le particelle più piccole (circa 5 nm) riescono a depositarsi all'interno dell'intero apparato fino al 92% del totale presente, di cui il 27% nella regione alveolare. All'aumentare delle dimensioni (circa 100 nm) si osserva una netta diminuzione del deposito totale (33%), ma con deposizione nella regione alveolare che si attesta al 21%. Risulta quindi evidente come la componente dimensionale delle nanoparticelle ricopra un ruolo fondamentale nella valutazione del rischio espositivo, in quanto all'aumentare delle dimensioni si ha una riduzione globale del deposito all'interno dell'apparato respiratorio totale, ma si denota un aumento preponderante nel comparto alveolare (Libro Bianco INAIL, 2011).

La loro tossicità è poi correlata alla biopersistenza e dalla capacità di traslocare in altri organi o apparati del corpo umano. Ad oggi sono ancora in corso studi in merito alla tossicità dopo l'inalazione.

2.4.2. Tossicocinetica delle nanoparticelle

Come visto sopra, le nanoparticelle hanno la capacità di depositare in tutte le regioni dell'apparato respiratorio, ma sono presenti comunque dei meccanismi di difesa. Questi meccanismi di difesa sono clearance mucociliare a livello tracheobronchiale e la fagocitosi tramite la clearance dei macrofagi alveolari al livello alveolare. A seguito del deposito alveolare, le particelle di dimensioni molto piccole sono in grado di eludere i meccanismi di sorveglianza e traslocare in siti extra-polmonari raggiungendo così altri organi bersaglio. Questo meccanismo di trasferimento delle particelle è chiamato transcitosi e avviene attraverso gli epitelii del tratto respiratorio nell'interstizio. Attraverso questo meccanismo le particelle sono in grado di raggiungere la circolazione sanguigna in due modalità: direttamente attraverso il sangue o tramite i vasi linfatici. Una volta entrate nella circolazione sanguigna sono in grado di distribuirsi in diversi apparati di tutto il corpo (fegato, milza, cuore, reni e cervello) (Oberdörster et al., 2005). La traslocazione nella circolazione sanguigna delle particelle può causare effetti al sistema cardiovascolare sia diretti che indiretti. Gli effetti diretti sono attribuiti alle capacità delle particelle di interagire con i componenti del sangue

(cellule, proteine, piastrine). L'effetto indiretto invece è dato dalla bio-persistenza delle particelle al livello polmonare, il quale può dare origine ad un processo infiammatorio cronico, a lesioni polmonari con conseguente rilascio di altri fattori infiammatori, che a loro volta causano un'inflammatione sistemica. Le nanoparticelle veicolate dal sangue sono anche in grado di oltrepassare la Barriera Emato-Encefalica (BEE) e di raggiungere il Sistema Nervoso Centrale (SNC), grazie a meccanismi di diffusione passiva o di trasporto attivo. Un altro meccanismo di trasferimento delle particelle inalate in altri organi prevede il loro assorbimento da parte delle terminazioni nervose sensoriali incorporate negli epitelii delle vie aeree e conseguente traslocazione al livello del SNC. Il nervo olfattivo è considerato una via di traslocazione delle nanoparticelle dalle vie aeree superiori agli assoni neuronali. La vicinanza tra la mucosa nasale olfattiva e il bulbo olfattivo è la condizione che favorisce il rapido trasporto neurale. Studi in vivo (Oberdörster et al., 2005) hanno dimostrato che le particelle trasportate mediante il nervo olfattivo al SNC (Sistema Nervoso Centrale) sono in grado di indurre stress ossidativo, e provocare per-ossidazione lipidica. Gli effetti neurotossici delle particelle nanometriche sono stati riportati anche da uno studio di Calderón-Garcidueñas e colleghi del 2002 condotto su animali. In questo studio sono state descritte significative alterazioni infiammatorie o neurodegenerative nella mucosa olfattiva, nel bulbo olfattivo e nelle strutture cerebrali corticali e sottocorticali negli animali esposti. Anche il nervo trigemino e i nervi sensoriali tracheobronchiali (nervo vago) sono considerati dei percorsi di traslocazione neuronale addizionali per le particelle nanometriche (Calderón-Garcidueñas et al., 2002). L'entità di trasferimento extra-polmonare e neuronale dipende fortemente dalle caratteristiche della superficie delle particelle e dalla chimica, oltre che alla dimensione delle particelle (Oberdörster et al., 2005).

2.4.3. Un approccio multilivello

Un adeguato programma di monitoraggio dovrebbe essere in grado di misurare diverse metodiche relative alla concentrazione di nanoparticelle e allo stesso tempo garantire la possibilità di raccogliere il campione su filtri per eseguire la successiva caratterizzazione (Iavicoli et al., 2018; Asbach 2017). Ad oggi non esistono strumenti in grado di soddisfare, in un unico dispositivo, tutti i requisiti citati, né sono disponibili dei limiti di esposizione per la maggior parte delle particelle su nanoscala, e la metrica (numero, superficie e massa) in base alla quale il limite dovrebbe essere quantificato.

Questo rende necessario l'applicazione di un approccio della valutazione multilivello, ovvero una combinazione di valutazione qualitativa e quantitativa per determinare se è avvenuto il rilascio di nanomateriali. La combinazione più comune utilizza strumenti portatili a lettura diretta (per esempio Condensation Particle Counter (CPC) e l'Optical Particle Counter (OPC)) per rilevare le emissioni di campionamento accoppiato di nanoparticelle 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.

L'approccio multilivello è stato proposto dall'OCSE (Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico), che definisce i passaggi da effettuare nello svolgimento delle indagini:

- Primo livello: raccolta del maggior numero di 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 (informazioni su ambiente di lavoro e la sua potenziale variabilità; volumi e composizioni chimico-fisiche dei nanomateriali utilizzati/prodotti; misure di controllo dell'esposizione; informazioni circa le fasi di processo dell'attività...).

Se non può essere esclusa la liberazione in aria di nanoparticelle, si procede col secondo livello

- Secondo livello: valutazione dell'esposizione e del rilascio di nanoparticelle. Vengono svolti campionamenti in campo tramite strumentazione portatile per la misurazione delle nanoparticelle disperse in aria. Come precedentemente detto, questa fase richiede l'utilizzo di diversa strumentazione per l'analisi in tempo reale e off-line. È importante tenere conto di una serie di criticità:
 - L'adeguatezza della strumentazione in funzione della metrica delle particelle da misurare, tenendo in considerazione eventuali limiti strumentali;
 - Prevedere un'adeguata calibrazione e pulizia dello strumento prima di cominciare le misurazioni;
 - Considerare tutte le attività che incidono nell'ambiente di lavoro analizzato, nonché le eventuali correnti d'aria che si generano all'interno dell'ambiente (mediante pressione positiva o negativa);

- Organizzare la registrazione delle attività osservate per poterle correlare coi risultati delle misurazioni;
- Individuare uno scenario di background adeguato alla situazione da caratterizzare e pianificare delle misurazioni di fondo;
- Considerare la variazione dei valori delle nanoparticelle tra interno ed esterno, in quanto l'aria filtrata in ingresso nell'ambiente di lavoro, può presentare dei valori di fondo inferiori rispetto all'ambiente esterno

Le misurazioni online e offline sono solitamente eseguite di concerto per avere una più definitiva prova della presenza o assenza di nanoparticelle nell'ambiente lavorativo. I campionamenti online, ovvero quelli eseguiti in tempo reale, sono utili per valutare eventuali fluttuazioni o stabilità del numero o della dimensione delle nanoparticelle nell'ambiente analizzato durante il periodo di campionamento. È importante calcolare il valore medio e la deviazione standard dei dati ottenuti per l'intero periodo di campionamento: in linea generale, la deviazione standard dei dati ottenuti dalle analisi in background e da quelle in fase di processo dovrebbero essere dello stesso ordine di grandezza. I campionamenti offline sono analisi di laboratorio che caratterizzano la tipologia di nanoparticelle presenti in ambiente, fornendo prove evidenti di presenza o assenza delle nanoparticelle nell'ambiente di lavoro analizzato.

- Terzo livello: il terzo ed ultimo livello ha lo scopo di ottenere, alla luce dei risultati ottenuti dalle misurazioni ottenute dal secondo livello, quante più informazioni possibili al fine di determinare se può essere esclusa l'esposizione o se si rende necessaria l'implementazione di ulteriori misure per gestire e contenere il rischio espositivo.

2.4.4. Buone pratiche di lavoro

L'applicazione di buone pratiche di lavoro nel processo può contribuire a ridurre al minimo l'esposizione ai nanomateriali. Secondo NIOSH, alcune buone pratiche di lavoro includono (CDC/NIOSH, 2009):

- Manipolazione dei nanomateriali sotto cappa chimica approvata o cappa di sicurezza biologica canalizzata;
- Smaltimento di eventuali aghi utilizzati per l'iniezione di nanomateriali in contenitori appositi per oggetti taglienti, subito dopo l'uso;

- La carta utilizzata nel banco durante la preparazione dello stock di nanomateriali deve essere rivestita con un supporto impermeabile, per limitare la potenziale contaminazione delle superfici di lavoro in caso di fuoriuscita;
- Pulizia giornaliera delle aree di lavoro utilizzando un'aspirapolvere con filtro HEPA o utilizzando 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. Le attività di pulizia devono essere condotte in modo da impedire il contatto dei lavoratori con i rifiuti. Lo smaltimento del rifiuto generato deve essere conforme a tutte le normative statali e locali applicabili;
- Evitare conservazione e consumo di alimenti o bevande nei luoghi di lavoro in cui i nanomateriali vengono manipolati, lavorati o immagazzinati;
- Fornire ai lavoratori dei locali ad uso spogliatoio per cambiarsi gli abiti e prevenire la contaminazione involontaria di altre aree, causata dal trasferimento di nanomateriali su indumenti e pelle. I lavoratori dovrebbero avere a disposizione delle docce e degli armadietti che permettano la separazione degli indumenti di lavoro da quelli civili.

2.4.5. Sistemi di protezione

Nell'ambito dei DPI, un approccio prevenzionistico prevede che essi vengano implementati a valle di tutta una serie di interventi che hanno lo scopo di eliminare o ridurre al minimo l'esposizione dei lavoratori (come l'implementazione delle buone pratiche viste sopra o l'applicazione delle indicazioni date dall'art.5 della Direttiva 98/24/CE) ed hanno lo scopo di proteggere i lavoratori dai rischi residui. Nei contesti laboratoriali che impiegano nanomateriali, nel momento delle fasi di processo a rischio di esposizione, bisogna indossare sempre indumenti adeguati (ad es. pantaloni, camicie, scarpe) e DPI come:

- Guanti protettivi: la scelta 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. SHERM raccomanda di indossare una visiera integrale durante lo svolgimento di attività che presentano il potenziale per qualsiasi generazione di aerosol e/o droplets;
- Indumenti protettivi: quando si lavora con i nanomateriali è necessario indossare camici da laboratorio o camici monouso in poliestere/cotone (per nanoparticelle non pericolose) o in polietilene (per nanoparticelle ad alto rischio) che forniscono una copertura completa della pelle. Gli indumenti contaminati devono essere rimossi immediatamente e smaltiti come rifiuti pericolosi;
- Protezione respiratoria: necessaria in caso di sistemi di controllo dell'esposizione non adeguati. Quando si lavora con questo tipo di materiali è necessario indossare uno dei seguenti dispositivi di protezione respiratoria (NanoparticlesSafetyGuide):
 - Facciale filtrante (N-95 o superiore)
 - Maschera semi-facciale/integrale in elastomero con filtri N-100, R-100 o P-100
 - Respiratore elettrico a purificazione dell'aria con filtri N-100, R-100 o P-100

2.5. Arseniuro di Gallio (GaAs)

L'Arseniuro di gallio è un materiale composto da una lega metallica ottenibile per combinazione diretta dei due elementi in condizioni di elevata temperatura e pressione, anche se il metodo più utilizzato è la preparazione come film sottile attraverso numerose reazioni di scambio in fase di vapore. Nella sua forma di wafer viene utilizzato principalmente nell'industria elettronica, microelettronica e delle comunicazioni (Hartmann et al., 2005). GaAs ha ottime proprietà ottiche (capacità di emettere luce), elettromagnetiche e fotovoltaiche, nonché un'elevata mobilità degli elettroni. GaAs presenta alcuni vantaggi che lo rendono una scelta preferenziale rispetto ad altri semiconduttori come, ed esempio, una maggiore efficienza energetica in termini di consumi, una migliore resistenza alle radiazioni e soprattutto può essere utilizzato per convertire segnali elettrici in ottici (Chakrabarti et al., 1992; Greber 2003).

L'arseniuro di gallio possiede inoltre diverse proprietà uniche che si sono dimostrate molto utili nei dispositivi semiconduttori ad alta velocità, nei dispositivi a microonde e a sonde

millimetriche ad alta potenza e nei dispositivi optoelettronici, nonché in sorgenti e rivelatori di fibre ottiche. Presenta tra i suoi vantaggi una elevata velocità di saturazione nelle attività in cui è impiegato come materiale per la mobilità degli elettroni. Ciò permette la crescita relativamente facile di substrati semi-isolanti che rendono bassa la presenza di inquinanti di processo e un buon isolamento del dispositivo. Altre proprietà utili sono il band gap controllabile tramite lega, le proprietà di ionizzazione e di assorbimento ottico: GaAs è in grado di trasformare l'elettricità direttamente in luce laser, motivo per cui è utilizzato nella produzione di dispositivi optoelettronici.

Nel campo elettronico il GaAs viene impiegato nella produzione di wafer a crescita epitassiale mediante la tecnica dell'epitassia in fase vapore o liquida, utilizzata per far crescere gli strati di arseniuro di gallio per la maggior parte dei led. I led rossi, per esempio, sono prodotti utilizzando l'epitassia in fase liquida tramite la crescita di composti alluminio-gallio-arseniuro su substrati di arseniuro di gallio. Questa tecnica viene utilizzata per la produzione di fibre ottiche economiche dedicate alle reti locali di computer (in questo caso GaAs viene fatto crescere su substrati composti da GaAs stesso).



Fig. 2.3 Esempio di wafer di GaAs

2.6. Arsenico

L'arsenico è un semimetallo sia di origine naturale che artificiale. Lo IARC (International Agency for Reserach on Cancer) ha classificato l'arsenico e i suoi composti inorganici nel gruppo 1, ovvero come sostanze che causano certamente tumore nell'essere umano. Esistono sufficienti prove che l'arsenico causi tumore nell'essere umano nei siti di polmone, pelle e vescica.

2.6.1. Assorbimento

In natura possiamo trovare l'arsenico in quattro diversi stati di ossidazione (± 3 ; ± 5) (Nurchi et al., 2020): questo dato è un punto critico in quanto i vari tipi di molecole che si possono formare possono dare diversi comportamenti nell'essere umano. Dopo l'assorbimento, l'arsenico raggiunge il flusso sanguigno e può legarsi con le proteine presenti nel flusso tramite i loro gruppi sulfidrilici (Khairul et al., 2017) e, in questo modo, viene trasportato all'interno delle cellule in vari organi. Gli organi in cui l'arsenico viene metabolizzato sono quelli in cui sono maggiormente espresse delle proteine canale note come AQP3, AQP7 e AQP9. Questi organi sono: fegato, milza, polmoni, tessuto adiposo, testicoli e reni (Khairul et al., 2017). Una volta all'interno dei tessuti, l'arsenico viene metabolizzato attraverso reazioni di metilazione ed ossidoriduzione al fine di ridurre la tossicità, ma in realtà l'arsenico metabolizzato diventa più tossico (Carter et al., 2003). Mentre le reazioni di ossidoriduzione avvengono in tutte le cellule, la reazione di metilazione avviene solo in alcuni organi (polmoni, testicoli e reni): il dimetilarsenico (DMA^{III}) che si forma si lega alle cellule del sangue (Nurchi et al., 2020) e viene escreto mediante l'urina al termine del ciclo di vita degli eritrociti (Khairul et al., 2017).

2.6.2. Tossicità

I composti di As(V) risultano essere 10 volte meno tossici di quelli contenenti As(III) in quanto non sono in grado di legare le proteine (e di conseguenza non essere trasportati all'interno delle cellule) e non vengono interamente ridotti ad As(III), essendo escreti direttamente tramite le vie urinarie (Carter et al, 2020; Ratnaik, 2003).

Carter stabilisce che la dose letale per l'uomo è 0,75-4 mg/kg per As(III) e 6-20 mg/kg per As(V), mentre per i composti metilati non sono state individuate delle dosi letali, nonostante siano più tossici.

La cancerogenicità dell'arsenico è data dal fatto che i suoi composti metilati (MMAsIII e DMAsIII) possono causare l'ipermetilazione e conseguente blocco del gene P53 deputato alla riparazione dei danni sul DNA, causando l'accumulo di mutazioni ed aumentando il rischio di insorgenza di cancro. Sono inoltre in grado di bloccare il funzionamento del dito di zinco, riducendo ulteriormente la capacità di riparazione del DNA e di inibire le funzioni dell'ubiquitina, bloccando la possibilità alla cellula di distruggere i complessi proteici alterati (Muenyi et al., 2015; Nurchi et al., 2020). I composti metilati possono inibire GLUT4, con conseguente aumento dell'incidenza di diabete mellito.

L'As(V) è in grado di sostituire il fosfato nell'ADP: nel momento in cui la molecola entra nel mitocondrio per la formazione dell'ATP, l'arsenico diventa instabile (per via della presenza di acqua) causando la dissoluzione della molecola e danni alle strutture mitocondriali.

2.6.3. Gallio

Il gallio è un metallo che dal punto di vista fisico ha buone capacità di conduzione elettrica ed ottime proprietà in termini di conducibilità termica, in quanto è meno sensibile alle alte temperature rispetto al silicio ed è in grado di raffreddarsi facilmente. Dal punto di vista chimico è molto simile allo zinco ed ha una completa miscibilità allo stato liquido con alluminio, indio, stagno e zinco. Assieme a mercurio, cesio e rubidio è tra i metalli che possiamo trovare allo stato liquido a temperature prossime a ambientale e per un ampio intervallo (30 – 2237°C): ciò permette di impiegarlo efficacemente sia in termometri ad alta temperatura (Moskalyk, 2003), che come prodotto lubrificante. Il gallio ha proprietà elettroniche superiori rispetto al silicio, come una maggiore mobilità degli elettroni e una velocità degli elettroni saturi, genera meno rumore nei circuiti elettronici e fornisce un efficiente assorbimento ed emissione di luce. La sua applicazione è risultata efficace, inoltre, in un'ampia varietà di prodotti del settore microelettronico contenenti GaAs o nitruro di gallio (GaN), come ad esempio nella produzione di circuiti integrati, di semiconduttori e di transistor altamente specializzati. Le sue proprietà chimico-fisiche, poi, gli permettono di formare leghe a basso punto di fusione con la maggior parte dei metalli. Attualmente non sono disponibili

dati attendibili sulla sua tossicità, nonostante sia apparentemente di basso livello; ad ogni modo è raccomandabile che venga maneggiato con cautela fintanto che non saranno disposti ulteriori dati a riguardo (Moskalyk, 2003).

2.6.4. Esposizione e tossicologia del GaAs

Gran parte degli studi in letteratura in merito alla tossicologia di GaAs sono stati condotti su animali come topi, ratti e criceti: è stato dimostrato che questo è fortemente immuno-tossico e cancerogeno per i topi (Hartmann et al., 2005).

Il GaAs non è in grado di reagire con aria o acqua, ma è in grado di reagire con acidi forti, dissolvendosi in ossidi di gallio e di arsenico. Tuttavia, può dare reazioni di dissoluzione all'interno dei tessuti organici a seguito di reazione immunitaria a seguito dell'azione di alcune specie reattive dell'ossigeno (ROS) che vengono rilasciate dai macrofagi: in queste reazioni si ha un discioglimento totale dell'arsenico, mentre per il gallio avviene solo in maniera parziale (circa il 60% dell'elemento disponibile).

La somministrazione polmonare di GaAs negli animali è associata ad un aumento dei livelli di arsenico nel sangue (Tanaka, 2004) e nelle urine, ma non quelli di gallio. Una parte del gallio rimane nei polmoni, mentre 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. I polmoni sembrano quindi essere il distretto più colpito, in quanto i livelli aumentati di arsenico nel sangue e nelle urine mostrano come i polmoni assorbono 30 volte di più rispetto al tratto gastrointestinale (Carter et al., 2003). È stata evidenziata una reazione infiammatoria a seguito di somministrazione intra-tracheale di arseniuro di gallio solido: è stata osservata una risposta caratterizzata da polmonite interstiziale con una durata che può raggiungere i 6 mesi a seguito di una singola dose (Carter et al., 2003).

In seguito sono state testate le reazioni dei prodotti finali dell'arseniuro di gallio: l'ossido di gallio si è depositato nei polmoni, ma senza nessuna risposta infiammatoria e con scarso assorbimento nel sangue; l'acido arsenico ha innalzato i livelli di 4-idrossiprolina (indicatore di un processo fibrotico); l'ossido di arsenico ha mostrato tossicità polmonare acuta, ma è stato rapidamente assorbito, causando danni sistemici.

Per il monitoraggio dell'esposizione a GaAs sono state utilizzate finora dei metodi di misurazione dell'arsenico: ciò avviene poiché in diversi Paesi l'arsenico, a differenza del GaAs,

presenta dei limiti di esposizione professionale e perché i metodi analitici di valutazione dell'arsenico sono più sensibili rispetto a quelli disponibili per il gallio.

Lo IARC ha dichiarato che “non esistono dati sul cancro nell'uomo e l'arseniuro di gallio è nella migliore delle ipotesi un debole cancerogeno negli animali da esperimento” (IARC, 2006); ma lo ha comunque inserito nel gruppo 1 delle sostanze cancerogene per l'uomo. Nel giungere a questa valutazione, gli studiosi hanno studiato 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”). Contemporaneamente, “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”.

Nell'ambito dell'esposizione professionale a GaAs, gli organi che vengono più colpiti sono i polmoni e il sistema nervoso. Nei polmoni i composti possono provocare cancro attraverso vari meccanismi ma possono causare anche lesioni non neoplastiche. 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. In merito ai meccanismi che interagiscono col sistema nervoso, la regione maggiormente danneggiata è quella sensoriale, portando a danno neurologico e riduzione della velocità di conduzione. Per quanto riguarda i limiti di esposizione professionale. l'unico limite disponibile per l'arseniuro di gallio in letteratura è stato riportato dal NIOSH, con la raccomandazione di un valore massimo di 0,002 mg/m³. Per il gallio non sono stati fissati limiti di esposizione, mentre per l'arsenico il limite raccomandato è 0,002 mg/m³ per NIOSH e 0,01 mg/m³ per OSHA.

2.6.5. Applicazioni del GaAs

L'arseniuro di Gallio (GaAs) può essere impiegato sia come materiale bulk che nella sua forma nanoparticellare. In quest'ultima forma, grazie alla sua natura resistiva ed alla sua elevata costante dielettrica, trova larga applicazione come semiconduttore nella produzione di celle

solari, diodi emettitori di luce, laser e circuiti integrati monolitici a microonde (MMIC). Attualmente l'Arseniuro di Gallio è il semiconduttore composto più diffuso nel settore dell'industria microelettronica e delle comunicazioni.

Esso è quindi un semiconduttore che possiede diverse proprietà uniche che possono essere utilizzate in diverse tecnologie nel campo dei dispositivi semiconduttori ad alta velocità, dei dispositivi a microonde e di sonde millimetriche ad alta potenza, oltre che in quelli optoelettronici, comprese le sorgenti e i rivelatori di fibre ottiche, in quanto è in grado di trasformare l'elettricità direttamente in luce laser. Ha inoltre importanti applicazioni aerospaziali e di telecomunicazioni, industriali e attrezzature mediche.

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.

3. SCOPO DEL PROGETTO

Sebbene, come detto sopra, l'esposizione umana a nanomateriali è possibile in tutti gli stadi del ciclo di vita dei prodotti che li contengono, è ragionevole pensare che il maggior rischio espositivo si configuri all'interno degli impianti industriali e nelle strutture di ricerca dove, per ragioni di processo e di quantità di materiali utilizzati, l'esposizione professionale del lavoratore risulta inevitabilmente maggiore e richiede particolare attenzione nella caratterizzazione del rischio.

Lo scopo di questa tesi è quello di valutare l'esposizione personale ed ambientale di un lavoratore che opera su macchinario MBE a nanoparticelle di GaAs. I dati vengono raccolti mediante campionamenti ambientali e personali su filtri al fine di caratterizzare le nanoparticelle ingegnerizzate presenti nell'ambiente. Parallelamente viene svolta un'indagine con dati raccolti in tempo reale tramite strumento DiSCmini al fine di valutare quali sono le fasi del processo che espongono maggiormente il lavoratore a nanoparticelle aerodisperse, determinandone la quantità, la dimensione media e LDSA, ovvero un parametro che consente di stimare la concentrazione dell'area superficiale delle particelle che si depositano nella regione alveolare dei polmoni umani.

4. MATERIALI E METODI

4.1. Processo produttivo

Il processo produttivo prevede la produzione di film sottili di arseniuro di gallio destinato a vari settori industriali. La sintesi di questi film avviene all'interno di un sintetizzatore MBE che, partendo da materiale bulk, produce nanoparticelle di GaAs all'interno di una camera di reazione che condensano su un supporto (wafer). Il compito del lavoratore, oltre al controllo dei parametri di crescita degli strati sul wafer, è quello di inserire i wafer vergini all'interno del macchinario e di rimuovere quelli su cui si è formato il film di materiale nanoparticellare. I wafer vengono attaccati ai supporti interni tramite piccole quantità di gallio liquido. Il processo di "incollaggio" del wafer al supporto prevede che il lavoratore riscaldi una piccola quantità di gallio solido per portarlo alla fase liquida e successivamente trasferirlo sul supporto. Il lavoratore esegue inoltre delle operazioni di taglio dei wafer "accresciuti" e di stoccaggio dei campioni. Il macchinario (come descritto al paragrafo 4.2) lavora in condizioni che possono escludere a priori un'esposizione per il lavoratore alle nanoparticelle durante la fase di accrescimento del materiale. La fase di taglio del campione viene effettuata sotto una cappa a flusso laminare verticale che, tramite un flusso d'aria discendente, contribuisce a tenere pulito il banco di lavoro. L'aria del flusso passa attraverso dei fori sul banco di lavoro andando a terra senza subire un ulteriore trattamento di purificazione. Alla luce di ciò si definisce che le fasi di lavoro che espongono maggiormente il lavoratore sono quelle di caricamento del macchinario MBE e la fase di taglio del campione. Il programma di campionamento viene quindi strutturato in modo da ottenere i dati migliori da queste fasi di processo.

4.2. MBE: Molecular Beam Epitaxy

MBE è una tecnica che permette la crescita epitassiale di film sottili. In particolare, il sistema in questione realizza semiconduttori composti da elementi del III e del V gruppo sopra substrato cristallino riscaldato in condizioni vuoto ultra alto (10^{-11} mbar). Le condizioni di vuoto ultra alto 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. Queste celle vengono riscaldate fino ad una temperatura tra i 350°C (As) e oltre 1100°C (Al). Tali temperature consentono

l'evaporazione dei materiali, che iniziano quindi a depositare 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 tali condizioni, la velocità tipica di deposizione è dell'ordine di $1\mu\text{m}/\text{h}$ (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. In questo modo gli urti che avvengono tra molecole e pareti sono maggiori rispetto a quelle che avvengono tra due molecole. (Biasiol et al., 2001).

Le camere principali che si trovano nel sistema sotto esame 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

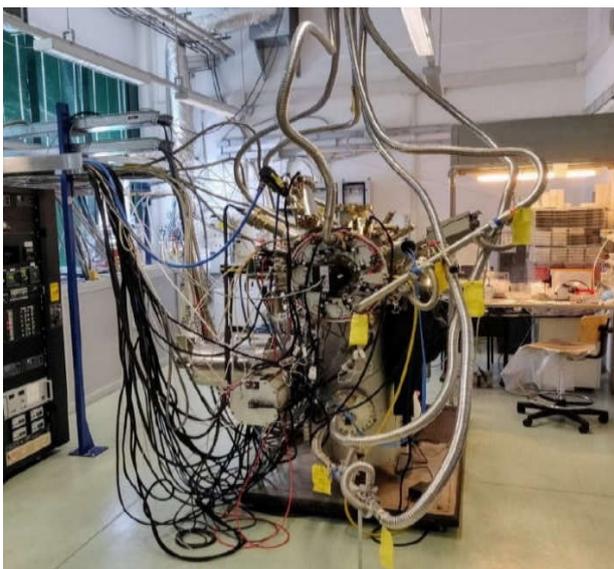


Fig. 4.1 Macchinario MBE

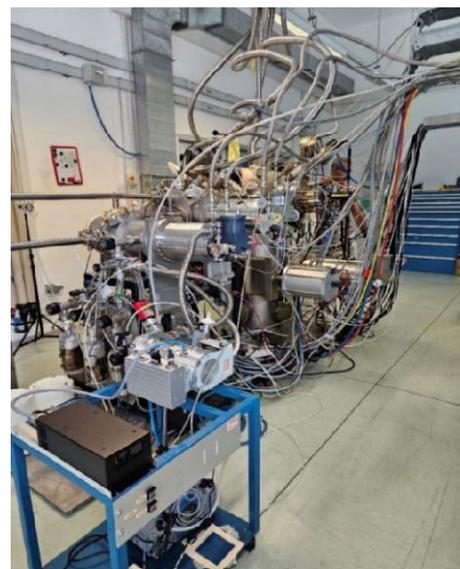


Fig. 4.2 Macchina MBE con dettaglio su pompe criogeniche in primo piano

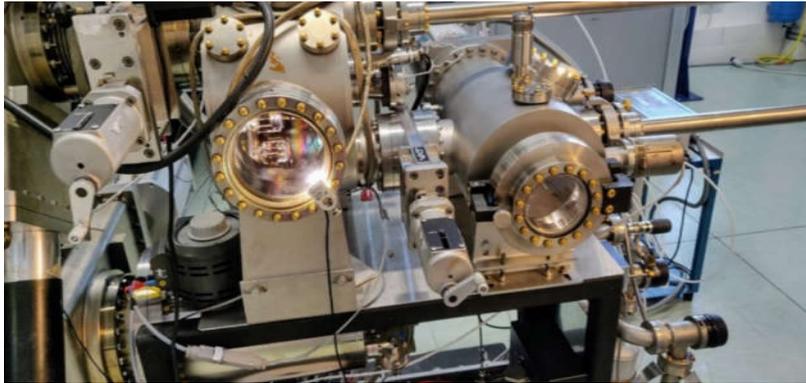


Fig. 4.3 Dettaglio su sistema di apertura ed accesso alle camere del macchinario

4.3. Approccio alla misura e campionamento

L'indagine espositiva è stata effettuata secondo un approccio armonizzato multilivello, come definito dall'OCSE (2015) e raccomandato dall'OMS (2017).

Prima del campionamento è stato effettuato un sopralluogo dei locali per valutare in quali aree del laboratorio l'operatore rimane per più tempo, nonché quelle che per motivi operativi comportano il maggior rischio di esposizione a nanoparticelle in modo da identificare in maniera efficace i punti di maggior interesse per il campionamento.

Il piano di campionamento è stato strutturato come descritto al capitolo 4.3.4.

La valutazione dell'esposizione in particolare è stata effettuata mediante:

- Monitoraggio in tempo reale avvalendosi di DiSCmini per valutare concentrazione, dimensione media e LDSA delle nanoparticelle nel range 10-300 nm in tempo reale;
- Monitoraggio personale mediante campionatore IOM per valutare l'esposizione personale giornaliera della frazione di particolato inalabile;
- Monitoraggio ambientale mediante impattatore SKC Sioutas.

4.3.1. Monitoraggio in tempo reale

Il monitoraggio in tempo reale è stato eseguito mediante DiSCmini. Sono stati rilevati la concentrazione numerica ed il diametro medio delle particelle nell'intervallo da 10-300 nm e il valore LDSA. Il campionamento è avvenuto con portata di 1 L/min e con frequenza di 1 misurazione al secondo. Per consentire il campionamento più vicino possibile alla zona di respirazione è stata utilizzata la sonda fornita dal fabbricante e l'ugello di entrata dell'aerosol era posizionato sulla spalla del lavoratore.

I campionamenti sono stati effettuati sia all'interno del laboratorio MBE che negli uffici della struttura, considerati come bianco di confronto.

Ulteriori misurazioni del fondo del disco mini sono state condotte in laboratorio durante un periodo di inattività del sistema MBE.

Dato che l'analisi dell'aria aspirata dallo strumento avveniva in continuo per tutto il periodo della giornata, era presente un addetto che registrava su un foglio tutti gli spostamenti ed attività che l'operatore svolgeva e l'ora esatte in cui ciò avveniva.

Il DiSCmini (DM mod. TESTO SE & Co. KGaA, Germania) è uno strumento portatile di misurazione composto da un sensore in grado di misurare il numero di nanoparticelle ed il loro diametro medio, nonché è grado di misurare l'LDSA, ovvero l'area superficiale delle particelle che si depositano nel polmone, nell'intervallo 10-300 nm.

La scelta di questo strumento è stata necessaria in quanto i tradizionali metodi gravimetrici e di diffusione di luce per la misura delle particelle aerodisperse risultano insensibili nell'ordine di grandezza delle nanoparticelle. Il DiSCmini utilizza un principio di corrente elettrica per determinare sia la dimensione media che la concentrazione delle particelle aerodisperse (Fierz et al., 2014; Jung et al., 2005).

La calibrazione standard dello strumento DiSCmini viene effettuata utilizzando aerosol di NaCl quasi monodisperso, coprendo l'intervallo di dimensioni da 20 a 240 nm. Dopo il processo di calibrazione, le costanti di calibrazione vengono ottenute e quindi memorizzate sullo strumento per visualizzare i diametri e le concentrazioni delle particelle online. Lo strumento DiSCmini funziona con una portata di 1 L min^{-1} ed è progettato per rilevare particelle nell'intervallo di dimensioni da 20-700 nm (intervallo di misurazione ottimale 10-300 nm) e concentrazione tra 10^3 e 10^6 particelle cm^{-3} . La precisione è di $\pm 30\%$ in termini di dimensioni e numero tipici; ± 500 particelle cm^{-3} in numero assoluto. I dati ottenuti dallo strumento vengono forniti in tempo reale, cioè alla frequenza di 1 Hz (1 misurazione al secondo). Questo strumento, come la maggior parte dei semplici strumenti per aerosol, non è specifico, ovvero non è in grado di discriminare specifiche nanoparticelle ingegnerizzate dall'aerosol di fondo: tale distinzione di solito può essere eseguita solo con metodi offline più complessi. Ad ogni modo, i risultati sperimentali corrispondono abbastanza bene (di solito entro il 20%) agli strumenti tradizionali *Scanning Mobility Particle Sizer* (SMPS) e (CPC).

Il sistema di analisi è composto da un analizzatore portatile che l'operatore indossa tramite una tracolla ed un tubo di captazione il cui punto di ingresso è posizionato vicino alla zona di respiro.

Lo strumento ha la possibilità di salvare i dati misurati su una scheda SD, che vengono registrati in una tabella in cui ad ogni riga è assegnato il momento del campionamento (espresso come numero di secondi passati dall'inizio del campionamento) e i dati misurati in quel secondo. Durante il campionamento lo strumento non permette di inserire dei flags per evidenziare dei punti di interesse nei dati registrati, ne ha la possibilità di comprendere ciò che succede; questo implica che durante tutta l'attività di campionamento è necessaria la presenza di un addetto che osservi l'attività dell'operatore e che registri gli orari in cui avvengono dei cambiamenti (ad esempio: cambio di stanza, apertura camera campioni, attività sotto cappa,...) in modo da poter identificare eventuali variazioni nella tabella durante la fase di elaborazione dei dati.



Fig 4.8: Dispositivo DiSCmini



Fig 4.9: Dispositivi indossati: DiSCmini (destra in foto) e pompa con campionatore IOM (sinistra in foto)

4.3.2. Monitoraggio personale

Il monitoraggio personale è stato effettuato nella zona di respirazione personale, ovvero entro un raggio di 0,3 metri dal naso e dalla bocca del lavoratore.

Il campionamento è avvenuto tramite una pompa di campionamento personale con filtro IOM (vedi paragrafo 4.6)

Le misure sono state effettuate con il seguente approccio:

- Misure di esposizione giornaliera: misure effettuate durante la settimana oggetto di campionamento (il campionatore è stato fatto indossare dall'operatore per l'intera attività giornaliera, comprensiva dell'attività di laboratorio e quella d'ufficio).
- Misure di bianco di confronto: misure effettuate in un ufficio della struttura.

Il campionatore IOM Multidust è il campionatore preferito per il metodo HSE MDHS 14/4. Esso è composto da una cassetta contenente un filtro riutilizzabile da 25 mm specifico per la raccolta di particelle inalabili. Nel nostro esperimento la cassetta era in plastica, ma si possono trovare anche in acciaio o in alluminio.

Il campionatore viene collegato a una pompa di campionamento personale impostata a 2 L/min e viene fissato vicino alla zona di respirazione di un lavoratore (entro 0,3 metri dal naso e dalla bocca) ed è in grado di catturare efficacemente particelle fino a 100 µm di diametro.

Il principio di campionamento è efficace in quanto simula il modo in cui le particelle sospese nell'aria sul posto di lavoro vengono inalate attraverso il naso e la bocca.

Opzione di campionamento respirabile disponibile utilizzando i dischi in schiuma respirabile IOM con un filtro da 25 mm piccolo e leggero: il modello in plastica conduttiva pesa meno di 55 g

La scelta del campionatore IOM è dettata dal fatto che OSHA consiglia l'uso di questo tipo di strumentazione nella valutazione di esposizione a particelle non altrimenti regolamentate (PNOR).

4.3.3. Monitoraggio ambientale

L'indagine ambientale è stata svolta tramite pompa con impattatore a cascata Sioutas Impactor (vedi paragrafo 4.5).

Essa è stata effettuata ponendo l'impiantatore in una posizione che non interferisse con le normali attività di laboratorio, ma che tuttavia ricadesse all'interno di un raggio di 1,5 metri dalla posizione di lavoro.

Le indagini ambientali sono state effettuate implementando:

- Misure operative: misure effettuate in prossimità della postazione di lavoro durante le normali attività;
- Misure di fondo laboratorio: misure effettuate all'interno del laboratorio oggetto d'indagine durante periodi in cui non era attiva la produzione;
- Misure di bianco di confronto: misure effettuate in un ufficio della struttura.

L'impiantatore a cascata SKC Sioutas Cascade Impactor (modello n. 225-370) (Misra et al., 2002) è costituito da un filtro a quattro stadi di impiattamento (A, B, C e D) e un *after filter* che permette la separazione e la raccolta di particelle sospese nell'aria in cinque gamme di dimensioni in base al diametro aerodinamico:

- $>2,5\mu\text{m}$ (stadio A)
- $2,5-1,0\ \mu\text{m}$ (stadio B)
- $1,0-0,5\ \mu\text{m}$ (stadio C)
- $0,5-0,25\mu\text{m}$ (stadio D)
- $< 0,25\ \mu\text{m}$ (after filter)

Le particelle al di sopra di ciascun punto di taglio vengono raccolte su un filtro da 25 mm nella fase appropriata alle loro dimensioni, mentre le particelle al di sotto del punto di taglio di $0,25\ \mu\text{m}$ dell'ultimo stadio sono raccolte su un filtro da 37 mm. I filtri utilizzati erano di tipo MCE (con porosità $0,8\ \mu\text{m}$). La figura 4.7 mostra un'immagine dell'impiantatore. L'impiantatore è stato utilizzato assieme ad una pompa Tecora impostata ad una portata costante di 9 L/min. Nonostante l'impiantatore a cascata *Sioutas Cascade Impactor* sia un dispositivo di campionamento personale, nella nostra indagine è stato utilizzato come sistema di monitoraggio ambientale a stazione fissa: l'impiantatore è stato fissato su un supporto stabile ad un'altezza da terra paragonabile a quella della zona di respiro del lavoratore (circa 1,6 metri) all'interno di un raggio di 1,5 metri dalla posizione di lavoro che, a seguito di sopralluogo, è stata ritenuta quella a maggior rischio di esposizione per il lavoratore (all'incrocio tra la postazione di carico dei wafer nel sistema MBE e il banco da lavoro per il taglio dei campioni).

I campioni, frazionati per dimensione, sono stati sottoposti a successiva analisi di caratterizzazione chimica.

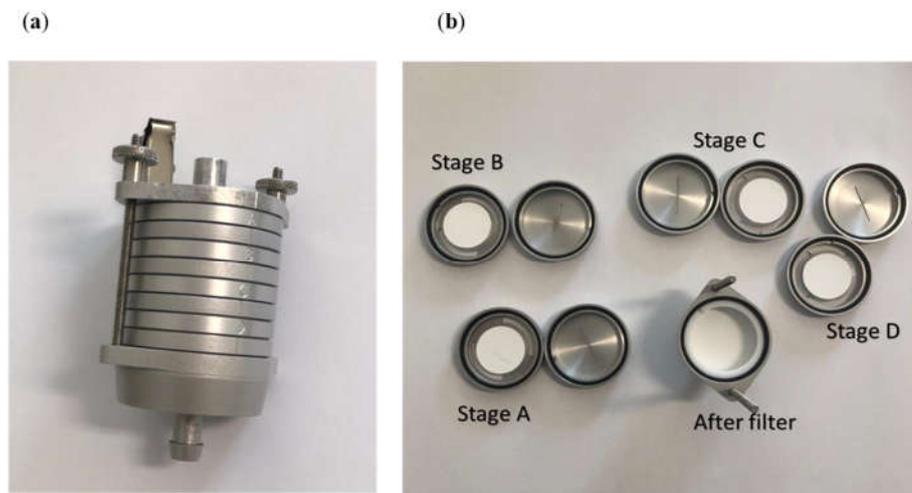


Fig. 4.7: Campionatore a cascata assemblato (a) e smontato (b)

4.3.4. Piano di campionamento

Il piano di campionamento ha previsto un'attività di monitoraggio della durata di una settimana, da lunedì a venerdì, durante l'orario lavorativo.

La settimana prima del campionamento pianificato è stato svolto un monitoraggio ambientale e personale della durata di un giorno all'interno di un ufficio della struttura al fine di ottenere dei dati di bianco di fondo da poter confrontare coi dati ricavati in laboratorio.

Il monitoraggio ambientale è proseguito anche nella settimana successiva a quella pianificata, in cui è stato effettuato un campionamento in continuo di circa 72 ore per valutare eventuali tracce di fondo.

Il monitoraggio ambientale è stato effettuato mediante stazione di campionamento fissa, mentre il monitoraggio personale è stato condotto in contemporanea, con l'operatore che indossava simultaneamente lo strumento DiSCmini e l'impattatore IOM con pompa appesa alla cintura.

4.4. Aree di campionamento

Il progetto di ricerca si è concentrato all'interno di un edificio dell'Istituto CNR-IOM, situato all'interno dell'area di ricerca Elettra-Sincrotrone di Basovizza (TS). La ricerca si è sviluppata eseguendo il monitoraggio delle nanoparticelle aerodisperse sia all'interno del laboratorio

dove è posizionato il macchinario, sia nell'ufficio dove i ricercatori passano parte del tempo per svolgere altre attività.

4.4.1. Il Laboratorio

Il laboratorio, posto al piano terra, è una stanza in cui è presente una parete finestrata con finestre chiuse e due porte (una comunicante col corridoio esterno, mentre la seconda con un altro laboratorio non in attività durante il periodo del campionamento).

All'interno del laboratorio si trovano:

- Un macchinario per MBE posizionato al centro del laboratorio
- Un banco da lavoro con cappa a flusso laminare verticale in grado di soffiare l'aria fuori dall'area di lavoro ed attraverso il piano di lavoro forato
- Una scrivania con un computer
- Una scrivania da lavoro con un microscopio
- Un armadio in pressione positiva di azoto per la conservazione dei campioni



Fig. 4.4 Vista aerea dell'area di ricerca indicante le zone analizzate e le possibili fonti inquinanti (Google Earth)

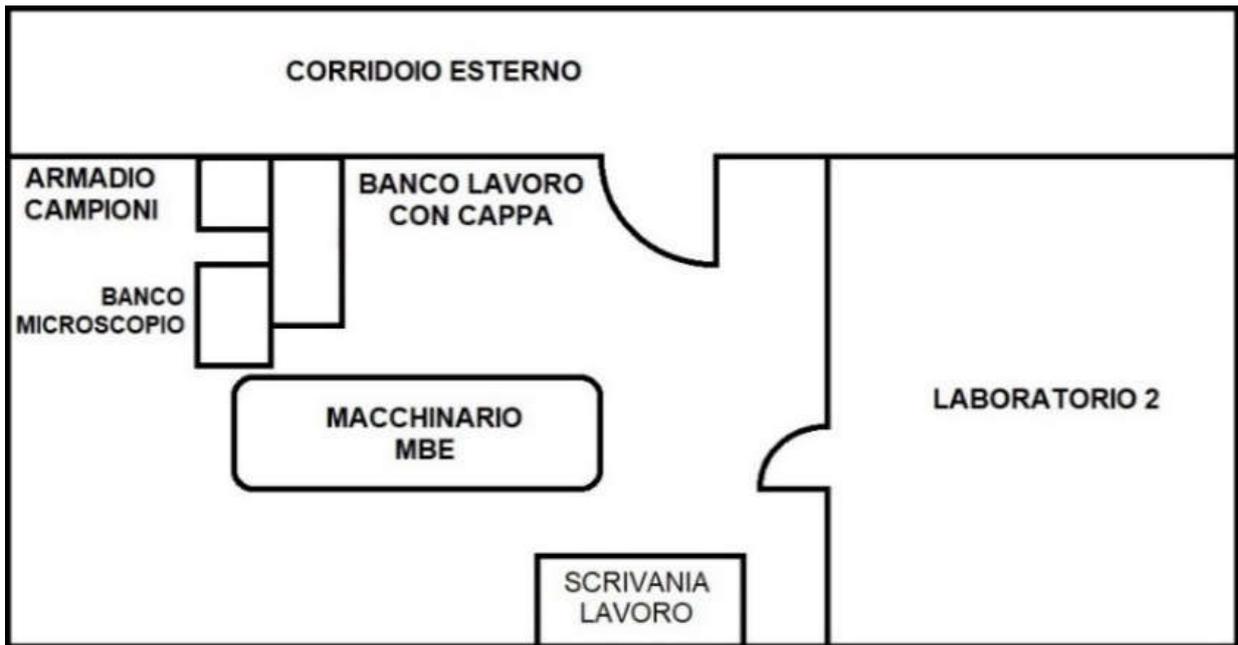


Fig. 4.3: Layout interno del laboratorio



Fig 4.6: Banco da lavoro posto sotto cappa a flusso laminare

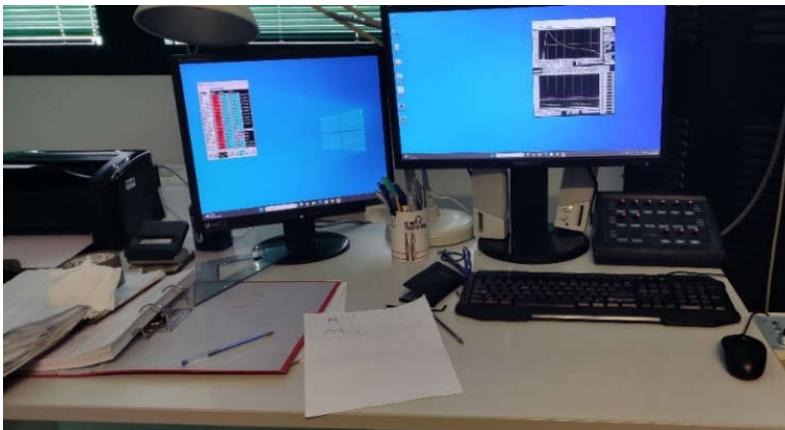


Fig. 4.4: Scrivania con computer in laboratorio



Fig. 4.5: Armadio per campioni in pressione positiva

4.4.2. L'ufficio

L'ufficio è posto al piano superiore della struttura. All'interno di esso non vengono svolte attività pratiche che comportino esposizione a nanoparticelle ma, in virtù del lungo tempo che l'operatore passa al suo interno, è stato deciso di indagarlo per valutare un'esposizione media durante tutto l'orario di lavoro. Il locale dell'ufficio è stato scelto come ambiente dove svolgere il campionamento di background in quanto esso si trova in posizione diametralmente opposta rispetto al laboratorio ed è quindi ragionevole ipotizzare che non presenti contaminazioni riconducibili al processo in esame.

4.5. Analisi dei dati

I filtri ottenuti dal monitoraggio sono stati portati in laboratorio di chimica specializzato e analizzati seguendo i seguenti metodi di analisi.

4.5.1. Analisi qualitativa ICP-MS

Per la determinazione della concentrazione totale di arsenico e gallio è stata utilizzata la tecnica di spettrometria di massa al plasma induttivamente accoppiato (o ICP-MS), applicando un metodo di analisi adattando il 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 viene tamponato, travasato in provette e portato ad un volume di 20 ml mediante acqua Milli-Q. Le soluzioni ottenute sono state diluite in un rapporto 1:10 per l'analisi in spettrofotometria di massa.

I filtri sono stati inseriti singolarmente in contenitori di teflon contenuti acido nitrico. Tali contenitori sono stati chiusi con tappi dotati di apposita valvola di sicurezza e successivamente sono stati introdotti nel microonde per il riscaldamento.

La diluizione è stata fatta con acqua Milli-Q e mescolate in una centrifuga metal free. Nel ciclo di mineralizzazione sono stati inseriti anche due bianchi, composti da due contenitori contenenti solo la miscela acida, al fine di determinare eventuali contaminazioni nel sistema. I campioni così preparati sono conservati a 4 °C fino all'esecuzione delle successive analisi mediante spettrometria di massa al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS).

4.5.2. Analisi quantitativa

Al momento delle analisi i campioni sono stati diluiti in un rapporto 1:10 per poter essere successivamente analizzati tramite lo strumento Perkin Elmer NEXION 350X con 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.

5. RISULTATI

5.1. Monitoraggio in tempo reale

In tabella 5.1 sono riportati i dati ottenuti di numero di particelle misurate in tempo reale.

	Concentration - Np/cm ³					Size - nm					LDSA- $\mu\text{m}^2/\text{cm}^3$				
	Mean	St. dev.	Max	Min	Median	Mean	St. dev.	Max	Min	Median	Mean	St. dev.	Max	Min	Median
MBE laboratory - overall	1045,3	889,5	88883	32	913	63,2	25,7	300	0	60,1	3,6	1,2	40,8	0,4	3,6
cutting GaAs samples under a hood	1471,5	2979,1	88883	73	1236	54,2	21,5	269,3	0	53,1	4	2,5	40,8	1,5	3,9
opening of GaAs sample cabinet	1337,1	270,5	2216	776	1316	53,2	7	71,2	38,8	52,8	4	0,3	4,9	3,3	4
setting up MBE GaAs system	1195,6	740,9	10922	190	1042	72,4	22,3	300	0	68,5	4,5	1,9	14	2,6	4,1
cleaning GaAs samples under a hood	1121,4	595,8	8504	134	1187	63,8	29,6	220,4	0	54,6	3,7	0,5	7,4	1,8	3,7
GaAs sample change with load lock open	1114	387,6	3994	128	1150	65,6	23,5	187,5	0	56,3	3,8	0,4	7,1	2,7	3,8
disposal of waste GaAs	1083	503	2262	176	1073	64,2	32,2	300	0	55,9	3,5	0,8	6,3	2,1	3,9
observation of GaAs samples under a microscope	1079,3	631,3	7795	145	984	49,4	18,5	191,8	0	47,9	2,9	1	7,4	1,2	3,2
desk computer control system MBE	955	581,6	15233	32	796	65,4	28,7	300	0	63,8	3,4	1	11	0,4	3,5
handling GaAs samples under a hood	817,8	261,4	3958	134	783	82,3	17,7	172,4	0	81,5	3,8	0,3	5,7	2,8	3,8
MBE laboratory – background measurements with inactive laboratory	1734,4	1081,8	23340	121	1450	74,6	25,8	300	0	68,6	6,8	3,4	28,6	1,2	5
Office	1901	678,3	21983	89	1826	76,2	13,1	300	0	72,8	8,3	2,3	26	0,1	9

Tab 5.1: Risultati monitoraggio in tempo reale con DiSCmini

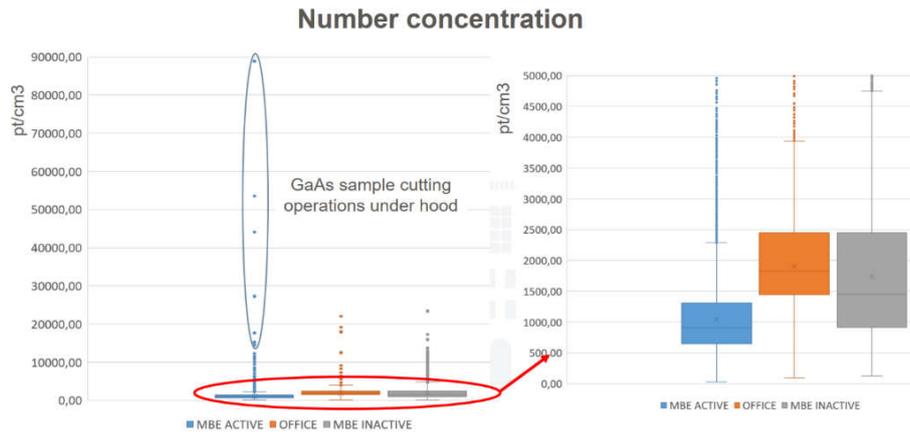


Grafico 5.1: Plot box numero di particelle

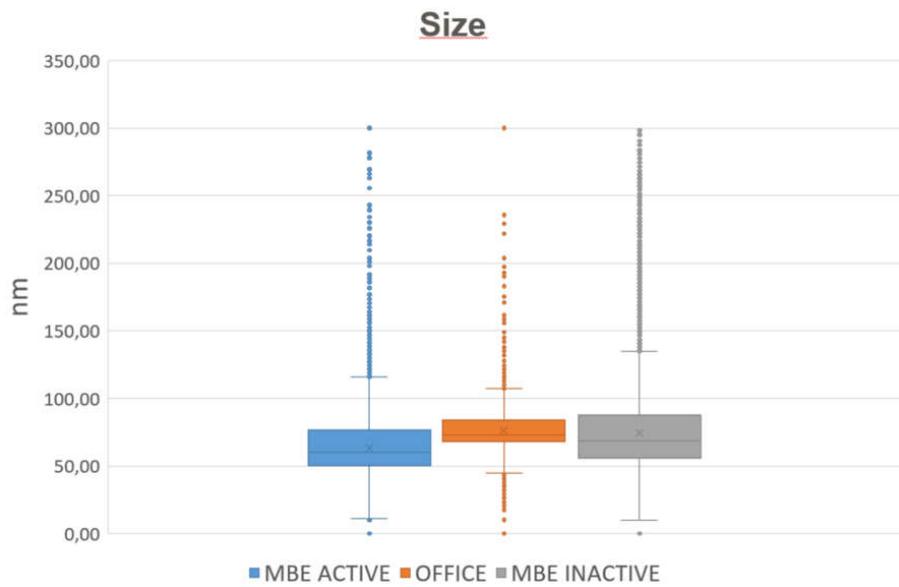


Grafico 5.2: Plot box dimensioni delle particelle

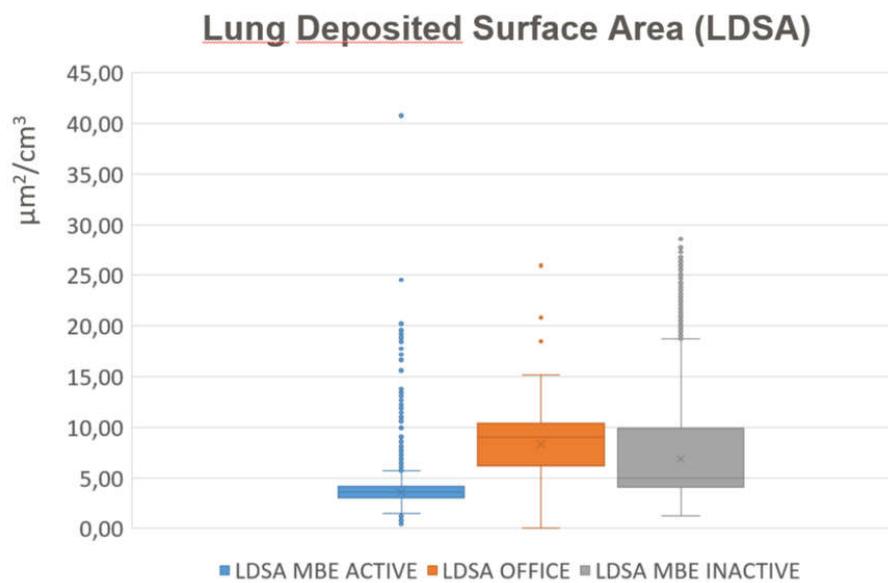


Grafico 5.4: Plot box valori LDSA

I risultati del monitoraggio dell'aria riportati nella tabella 5.1 indicano la distribuzione delle particelle (numeri, dimensioni e LDSA) in diverse aree del laboratorio e nell'ufficio, quest'ultimo considerato come un confronto in bianco (background).

In generale, il numero medio di particelle presenti in laboratorio (1045,3 NP/cm³) è risultato essere circa la metà di quello riscontrato in ufficio (1901 NP/cm³), risultando statisticamente rilevante.

La differenza sia in termini di dimensioni che di concentrazione di LDSA tra il laboratorio e l'ufficio è anch'essa statisticamente rilevante ($p < 0,05$). I valori di questi due parametri variano da circa 63,2 nm e 3,6 $\mu\text{m}^2/\text{cm}^3$ per il laboratorio MBE e 76,2 nm e 8,3 $\mu\text{m}^2/\text{cm}^3$ per l'ufficio. È possibile che questi risultati siano attribuibili alla specificità del processo di sintesi, che avviene in una struttura chiusa a pressioni estremamente basse, e all'efficacia dei sistemi di contenimento (cappa a flusso laminare verticale) e di trattamento dell'aria ambiente presenti all'interno del laboratorio.

In ufficio si è invece riscontrata una concentrazione media di nanoparticelle superiore, probabilmente riconducibile ad un inquinamento ambientale di fondo non correlabile all'attività svolta in laboratorio.

Il numero massimo registrato di nanoparticelle è stato riscontrato durante le operazioni di taglio del substrato GaAs sotto cappa (88883 NP/cm³). Tuttavia, i picchi rilevati durante le attività di manipolazione dei campioni erano eventi singolari e limitati nel tempo che non influivano in modo significativo sull'esposizione cumulativa dei lavoratori. Ciò è vero per tutti i parametri misurati, come osservabili dai grafici giornalieri riportati e divisi per numero di particelle (**Grafico 5.4**), dimensione media (**Grafico 5.5**) e LDSA (**Grafico 5.6**).

Questi risultati potrebbero essere correlati all'efficacia dei sistemi di ventilazione del laboratorio nella rimozione delle particelle sospese nell'aria.

Picchi di concentrazione di nanoparticelle sono stati osservati durante le operazioni di taglio dei campioni di GaAs sotto cappa.

Poiché le operazioni di taglio vengono eseguite all'interno della cappa, il possibile rilascio è confinato. L'esecuzione delle operazioni di manipolazione e taglio dei campioni sotto cappa a flusso laminare garantisce la rapida riduzione della concentrazione, limitando il tempo di esposizione dell'operatore.

Durante queste operazioni, il lavoratore indossava una semimaschera con filtri antipolvere P3, cuffia con clip in TNT e guanti in nitrile.

La differenza statisticamente rilevante che si è osservata nei valori registrati in laboratorio e nell'ufficio (background) risultano essere in accordo con studi precedenti effettuati (Bocconi, 2020; Iavicoli, 2018)

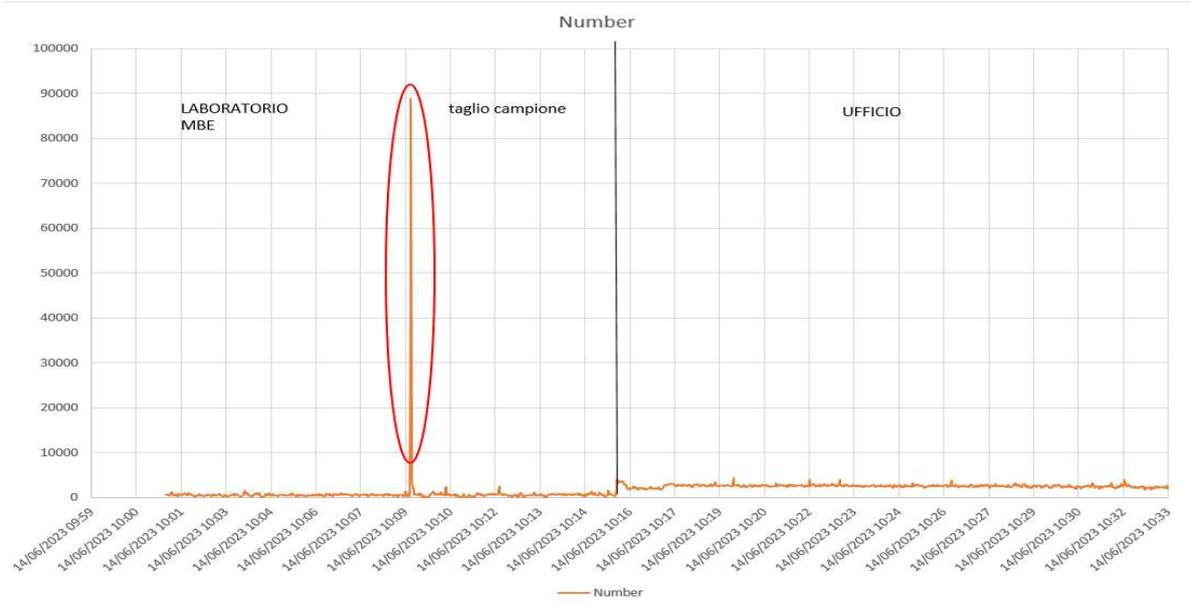


Grafico 5.4: Numero medio di nanoparticelle

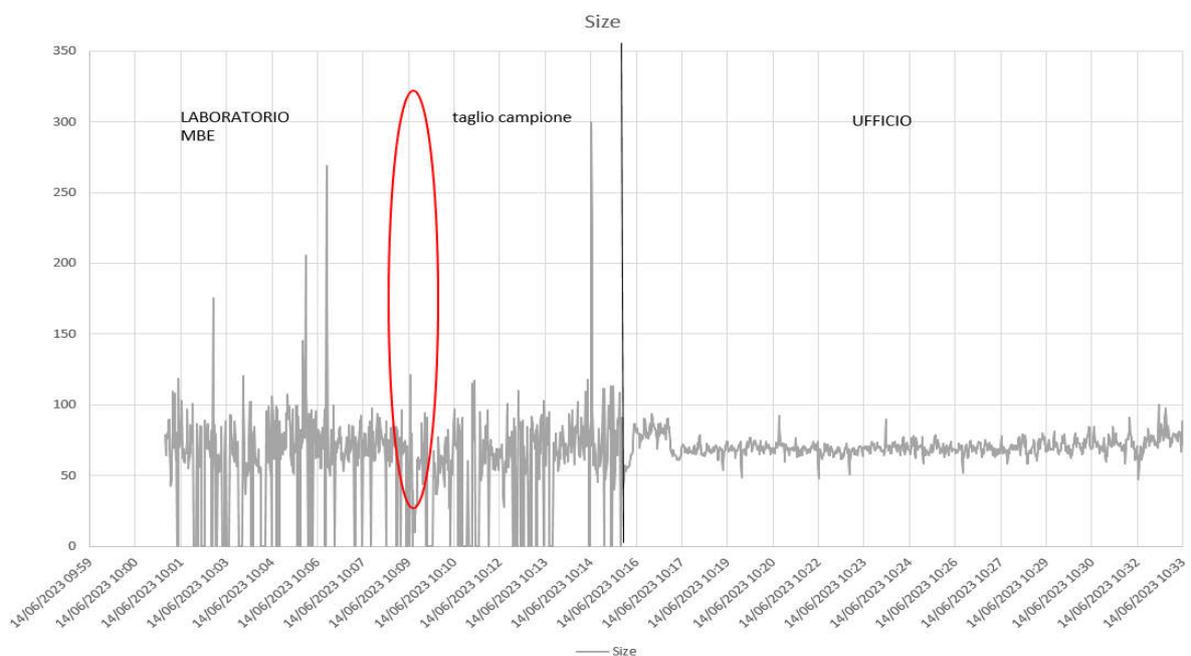


Grafico 5.5: dimensione media delle nanoparticelle

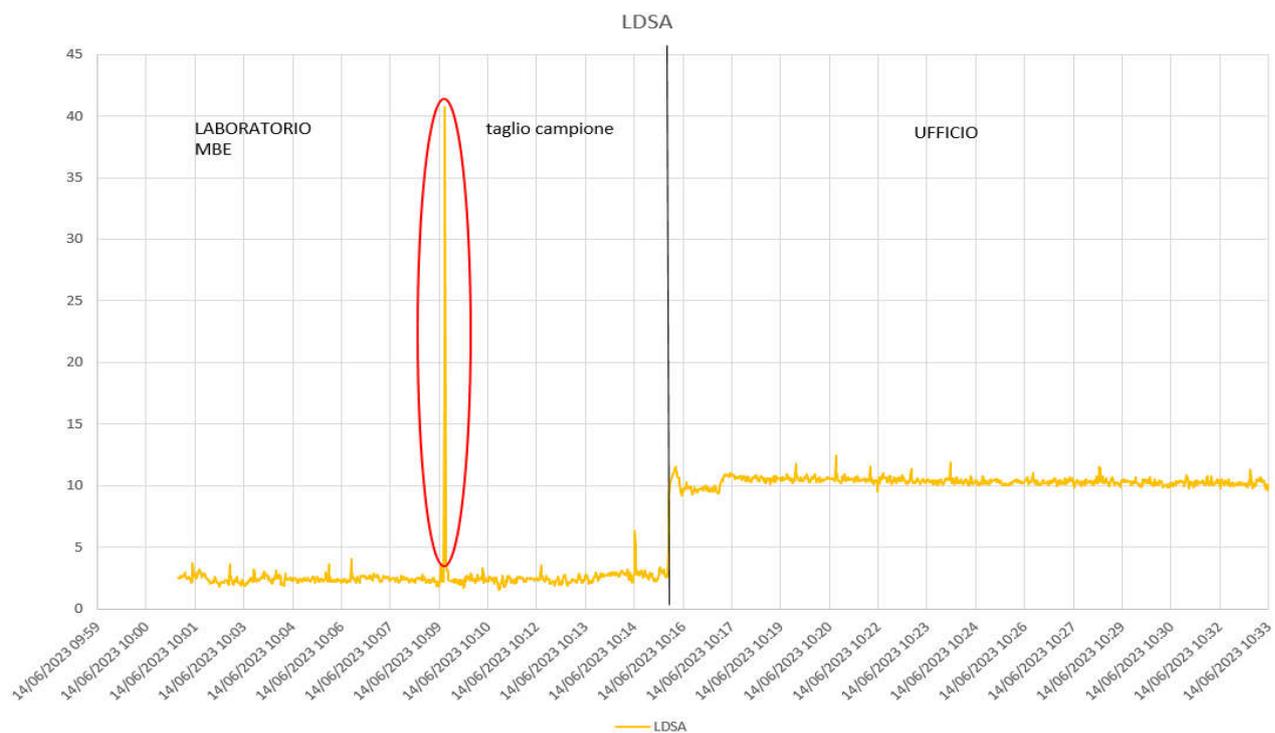


Grafico 5.6: Valori LDSA

5.2. Monitoraggio personale

Nella tabella 5.2 sono ripostati i risultati ottenuti dalle analisi offline dei filtri del campionatore personale:

	Gallio (ng/mc)	Arsenico (ng/mc)
Media	98,81	37,15
Dev. St.	141,98	57,15
Min	2,54	0,00
Max	373,95	147,57
Mediana	49,72	18,68

Tab. 5.2: Risultati analisi monitoraggio personale

I valori riscontrati per l'arsenico indicano una concentrazione media di 37,15 ng/m³, con un valore di picco di 147,57 riscontrato il giorno 13 giugno. Nello stesso giorno viene ritrovato anche il valore di picco della concentrazione del gallio (373,95 ng/m³). L'alto valore della deviazione standard in entrambi i campioni dimostra una grande variabilità dei dati ottenuti nelle varie giornate.

Data	Concentrazione gallio (ng/mc)	Concentrazione arsenico (ng/mc)
BIANCO UFFICIO	2,542*	0,000*
12/06	4,365*	0,000*
13/06	373,952	147,568
14/06	18,965	0,000*
15/06	80,476	37,971
16/06	112,586	37,352

Tab. 5.3: valori di concentrazione giornalieri

Gli asterischi indicano che i dati ottenuti sono inferiori alla soglia di rilevabilità del metodo applicato

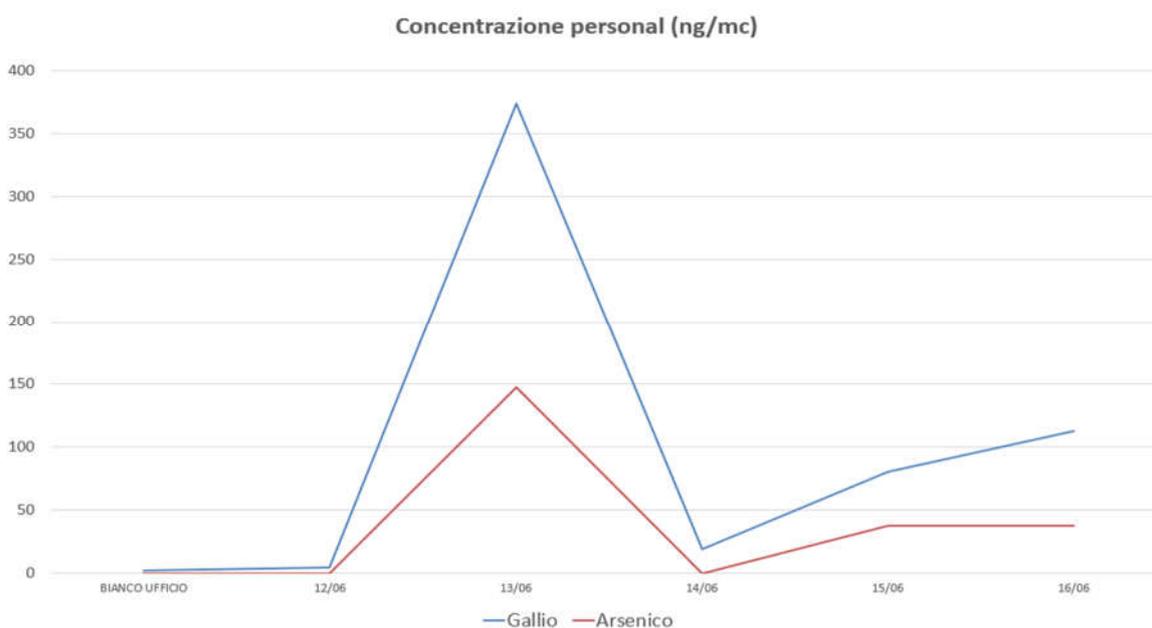


Grafico 5.7: andamento della concentrazione di gallio e arsenico nei giorni di campionamento

Dai dati ottenuti con il monitoraggio in tempo reale, il picco di concentrazione analizzato il 13 giugno non sembra avere riscontri di particolari attività a maggior rischio di esposizione. Tuttavia, i dati ottenuti risultano essere all'interno dei limiti di esposizione giornaliera previsti per l'arsenico dalla norma di riferimento, ovvero il regolamento 1907/2006/CE (TLV-TWA As: 0,01 mg/m³), sia per il valore medio che per quello di picco.

Il gallio risulta essere sempre presente nei campioni con dei valori altalenanti coerenti con le quantità di arsenico osservate. Questa presenza costante può essere riferita al fatto che l'arsenico risiede all'interno del macchinario per la maggior parte del tempo, riducendo al

minimo il tempo di esposizione del lavoratore durante le normali attività di laboratorio. Il gallio invece, viene conservato in un barattolo posto sotto la cappa: l'attività di riscaldamento del gallio per la fase di incollaggio del wafer al supporto può liberare gallio in aria che giunge alla zona di respiro del lavoratore. Tuttavia, la norma di riferimento non prevede valori limite di esposizione a tale sostanza (2019/983/UE).

5.3. Monitoraggio ambientale

I risultati ottenuti dall'analisi dei filtri del monitoraggio ambientali sono rappresentati nella tabella 5.4:

	Gallio ambientale (ng/mc)					Arsenico ambientale (ng/mc)				
	Stadio A	Stadio B	Stadio C	Stadio D	After Filter	Stadio A	Stadio B	Stadio C	Stadio D	After Filter
Media	0,45	0,38	0,30	0,24	0,55	0,14	0,03	0	0	0,04
Dev. St.	0,51	0,46	0,19	0,15	0,58	0,22	0,09	0	0	0,07
Min	0,08	0,07	0,02	0,03	0	0	0	0	0	0
Max	1,56	1,40	0,54	0,48	1,31	0,57	0,24	0	0	0,18
Mediana	0,31	0,23	0,33	0,28	0,44	0,01	0	0	0	0

Tab. 5.4: Risultati analisi monitoraggio ambientale

Come per il monitoraggio personale, anche in quello ambientale è possibile riscontrare una maggior presenza del gallio rispetto all'arsenico. I dati ottenuti presentano un'oscillazione dei valori minore rispetto al monitoraggio ambientale: ciò può essere dovuto al fatto che la stazione di controllo ambientale risiedeva in una posizione fissa, mentre il monitoraggio personale era vincolato agli spostamenti dell'operatore in varie aree a diversi gradi di esposizione.

Di seguito i limiti dimensionali analizzabili nei vari stadi:

- >2,5µm (stadio A)
- 2,5–1,0 µm (stadio B)
- 1,0–0,5 µm (stadio C)

- 0,5–0,25µm (stadio D)
- < 0,25 µm (after filter)

Si può notare come i valori maggiori siano stati ottenuti negli stadi più alti dell'impattatore a cascata (1,56 ng/m³ e 1,40 ng/m³ per i primi due stadi del gallio; 0,57 ng/m³ e 0,24 ng/m³ per i primi due stadi dell'arsenico). Dal valore medio dei campioni si evince che il gallio è distribuito in maniera sostanzialmente uniforme in tutti gli stadi, mentre l'arsenico è concentrato nei primi stadi (stadio A e stadio B) e nell'ultimo (After Filter).

Concentrazione gallio (ng/mc)					
Data	Stadio A	Stadio B	Stadio C	Stadio D	After Filter
BIANCO UFFICIO	0,111*	0,111*	0,332*	0,111*	0*
12/06	0,380*	0,214*	0,166*	0,190*	0*
13/06	0,486*	0,358*	0,537*	0,281*	0,818
14/06	0,249	0,312	0,093	0,312	1,246
15/06	1,561	0,226*	0,475*	0,475*	1,313
16/06	0,313*	1,398	0,480*	0,292*	0,438
BACKGROUND MBE	0,077*	0,070*	0,025*	0,034*	0,052

Tab. 5.5: concentrazioni di gallio nei diversi stadi nei giorni di campionamento

Gli asterischi indicano che i dati ottenuti sono inferiori alla soglia di rilevabilità del metodo applicato

Concentrazione arsenico (ng/mc)					
Data	Stadio A	Stadio B	Stadio C	Stadio D	After Filter
BIANCO UFFICIO	0*	0*	0*	0*	0*
12/06	0,570*	0,238*	0*	0*	0*
13/06	0,102*	0*	0*	0*	0,179*
14/06	0*	0*	0*	0*	0*
15/06	0*	0*	0*	0*	0*
16/06	0,271*	0*	0*	0*	0*
BACKGROUND MBE	0,009*	0*	0*	0,005*	0,070

Tab. 5.5: concentrazioni di arsenico nei diversi stadi nei giorni di campionamento

Gli asterischi indicano che i dati ottenuti sono inferiori alla soglia di rilevabilità del metodo applicato

I dati giornalieri mostrano una maggiore concentrazione di arsenico il giorno 12 giugno. Lo stesso non vale per il gallio, il cui giorno che ha registrato i valori maggiori è il 15 giugno. L'arsenico risulta assente negli stadi C e D, ad esclusione dello stadio A (0,570 ng/m³ in data 12 giugno, 0,102 ng/m³ in data 13 giugno e 0,271 in data 16 giugno,) dello stadio B (0,238 ng/m³ in data 12 giugno) e dello stadio D (0,005 ng/m³ durante il campionamento in continuo). I dati relativamente bassi del campionamento in continuo nelle giornate 20-22 possono essere riconducibili al periodo di inattività dello strumento.

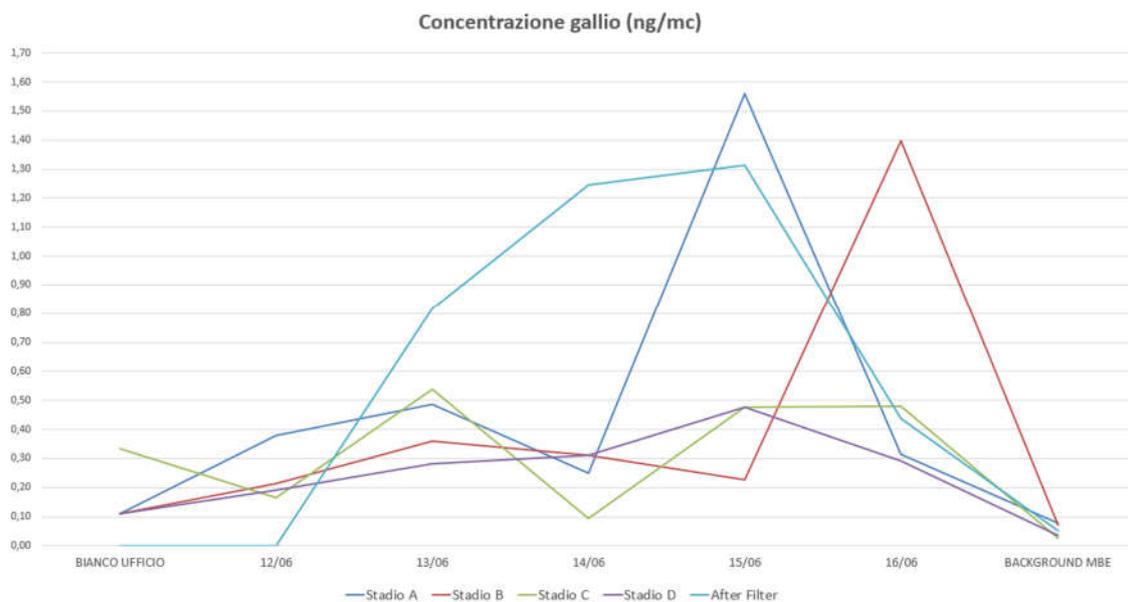


Grafico 5.8: andamento della concentrazione di gallio nei giorni di campionamento

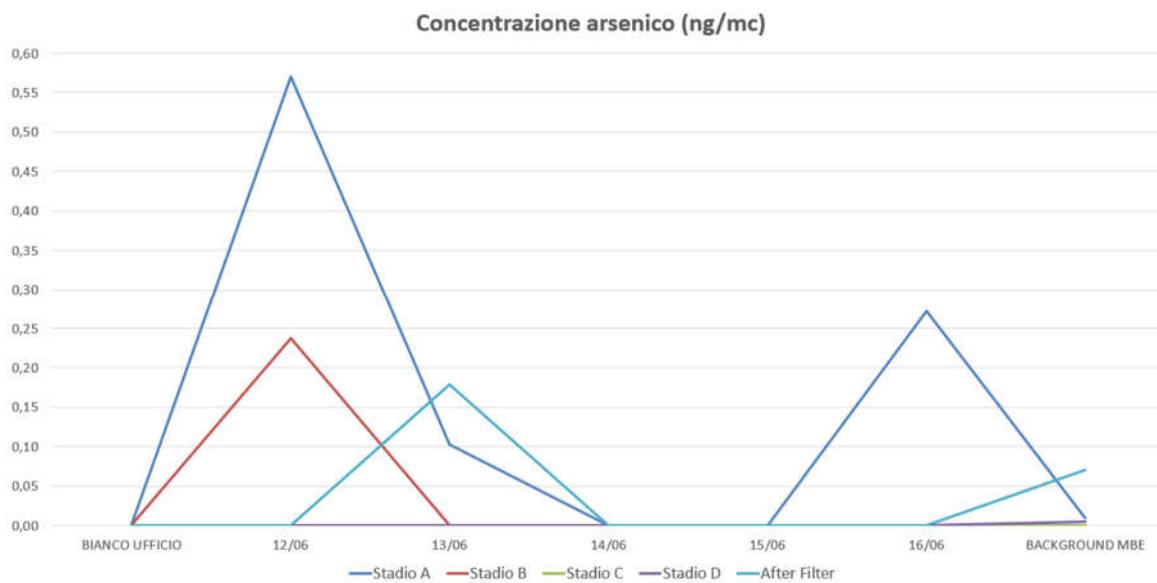


Grafico 5.9: andamento della concentrazione di arsenico nei giorni di campionamento

6. DISCUSSIONE

Negli ultimi anni sono stati condotti diversi studi per valutare l'esposizione professionale alle nanoparticelle proponendo ed utilizzando diversi metodi di monitoraggio, ma il più comune è attraverso l'uso del dispositivo DiSCmini, forte dei suoi vantaggi in termini di dimensioni e portabilità, nonché della capacità della batteria in grado di garantire un monitoraggio, senza troppi problemi, di un intero turno lavorativo (Asbach et al., 2017; Iavicoli et al., 2018).

È grazie a questi studi che si sono aperte le porte della ricerca ad un territorio ancora inesplorato come quello dell'esposizione a nanoparticelle di arseniuro di gallio.

Dai dati ottenuti in questa ricerca si può dedurre che, seppur minima ed all'interno dei valori limite della norma, l'esposizione ad arsenico e gallio non è trascurabile. In merito al gallio è stata fatta attività di monitoraggio, tuttavia non sono previsti dei valori limite di esposizione.

I valori ottenuti dal monitoraggio in tempo reale dimostrano come l'esposizione maggiore si presenti durante le attività manuali in cui l'operatore entra in contatto diretto col wafer di GaAs, mentre durante le normali attività in cui il GaAs è contenuto all'interno del macchinario l'esposizione è molto bassa. I risultati dimostrano come la maggior esposizione a nanoparticelle avvenga all'esterno dell'area di laboratorio (riconducibile a particolato ambientale naturalmente presente negli ambienti di lavoro indoor). Da ciò possiamo dedurre che il sistema di lavoro in condizioni di ultra alto vuoto che il macchinario applica risulta essere molto efficiente nel contenere la dispersione ambientale delle nanoparticelle all'interno. I risultati del monitoraggio personale, utile al fine di caratterizzare le nanoparticelle riscontrate nel monitoraggio in tempo reale, conferma che i valori più alti si sono riscontrati nei giorni in cui l'operatore ha passato più tempo in laboratorio, nello specifico nello svolgimento delle attività manuali che vengono svolte sotto cappa a flusso laminare verticale (manipolazione, taglio ed incollaggio dei campioni). I valori di fondo effettuati in laboratorio durante il periodo di inattività dello strumento mostrano una presenza di gallio minima ma non marginale, indice di una contaminazione ambientale di fondo presente nella struttura e possibile segno di una carente sanificazione delle aree produttive. Tuttavia, l'arsenico risulta assente all'interno dell'ufficio, in quanto anche le quantità presenti in laboratorio sono sufficientemente basse da presupporre che il possibile deposito sugli indumenti e il successivo trasporto in ufficio sia trascurabile.

7. CONCLUSIONI

Nonostante i valori espositivi ottenuti da monitoraggio ambientale e personale risultino tutto sommato contenuti, non è possibile escludere totalmente un'esposizione a nanoparticelle di arseniuro di gallio nei locali del laboratorio. Perciò ci sentiamo di sottolineare l'importanza nell'applicazione di misure di prevenzione atte a minimizzare l'esposizione, come una pulizia dei locali periodica e approfondita, allo scopo di impedire alle nanoparticelle depositate sulle superfici di entrare nuovamente nei flussi d'aria presenti nel locale. In virtù dei risultati ottenuti, ovvero di un valore di esposizione maggiore durante le fasi di manipolazione sotto cappa delle sostanze, un intervento migliorativo dal punto di vista prevenzionistico si potrebbe configurare nella sostituzione della cappa a flusso laminare verticale con una cappa aspirante dotata di filtri HEPA in grado di trattenere le nanoparticelle aspirate ed impedirne il reinserimento nell'aria del laboratorio o di una cappa di sicurezza biologica, come suggerito dalle linee guida NIOSH. Un altro metodo valido è l'uso di una glove box che isola totalmente l'operatore dalle sostanze manipolate.

Al netto degli interventi prevenzionistici è importante sottolineare l'importanza dell'uso di adeguati dispositivi di protezione individuale da parte dei lavoratori durante le fasi di processo in modo da contenere ulteriormente il possibile trasporto delle sostanze in locali esterni al laboratorio. Tali dispositivi sono dei guanti chimici (es: nitrile) e degli indumenti di materiale adatto al tipo di sostanze a cui si è esposti e che coprano interamente la pelle esposta del lavoratore (es: camice per laboratorio), in particolar modo quella di mani, polsi e braccia. Si rende oltretutto necessario indossare adeguate protezioni delle vie respiratorie (come delle maschere antipolvere di tipo FFP3), specialmente durante le fasi di manipolazione dei campioni, in grado di limitare ulteriormente l'esposizione professionale.

Questa tesi è stata condotta durante un periodo in cui il macchinario oggetto di indagine lavorava a regime ordinario, gli autori reputano interessante che vengano svolte ulteriori indagini durante le fasi di manutenzione del macchinario, ovvero in condizioni in cui le camere della macchina siano aperte, l'efficacia del contenimento dell'esposizione offerta dal vuoto ultra alto venga meno ed in cui l'operatore si trova a dover gestire rifiuti contaminati derivanti dalle attività di pulizia.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Asbach C et al. "Review of measurement techniques and methods for assessing personal exposure to airborne nanomaterials in workplaces." *Sci Total Environ.* 2017 Dec 15;603-604:793-806. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.03.049. Epub 2017 Apr 18. Review. PMID: 28431758
2. Bellagamba et al., "Occupational Exposure during the Production and the Spray Deposition of Graphene Nanoplatelets-Based Polymeric Coatings. *Nanomaterials (Basel).*" 2023;13(8):1378. Published 2023 Apr 15. doi:10.3390/nano13081378
3. Biasiol G et al., "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.
4. Boccuni F, Ferrante R, Tombolini F, Natale C, Gordiani A, Sabella S, Iavicoli S. "Occupational exposure to graphene and silica nanoparticles. Part I: workplace measurements and samplings". *Nanotoxicology.* 2020 Nov;14(9):1280-1300. doi: 10.1080/17435390.2020.1834634. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33125304
5. Borm PJ et al, "The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC." *Part Fibre Toxicol*". 2006 Aug 14;3:11. PMID: 16907977, PMCID: PMC1584248
6. Calderón-Garcidueñas L, Azzarelli B, Acuna H, Garcia R, Gambling TM, Osnaya N, Monroy S, DEL Tizapantzi MR, Carson JL, Villarreal-Calderon A, Rewcastle B. "Air pollution and brain damage. *Toxicol Pathol.*" 2002 May-Jun;30(3):373-89. PMID: 12051555
7. Carter DE, Aposhian HV, Gandolfi AJ. "The metabolism of inorganic arsenic oxides, gallium arsenide, and arsine: a toxicochemical review". *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003 Dec 15;193(3):309-34. Review. PMID: 14678742
8. Chakrabarti N.B. GaAs. *J. Inst. Elettrome. Telecomuni. Ita.* 1992; 38:163–178.
9. Chen X, Schluesener HJ. "Nanosilver: a nanoparticle in medical application". *Toxicol Lett.* 2008 Jan 4;176(1):1-12. Epub 2007 Oct 16. Review. PMID: 18022772
10. Direttiva (UE) 2019/983 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 5 giugno 2019, che modifica la direttiva 2004/37/CE sulla protezione dei lavoratori contro i rischi derivanti da un'esposizione ad agenti cancerogeni o mutageni durante il lavoro (Testo rilevante ai fini del SEE). (2019). *Gazzetta ufficiale*, L 164, 23-29. ELI: [http://data.europa.eu/eli/dir/2019/983/oj\[legislation\]](http://data.europa.eu/eli/dir/2019/983/oj[legislation])
11. Ergün R, Evcik E, Ergün D, Ergun B, Özkan E, Gündüz Ö. "High-Resolution Computed Tomography and Pulmonary Function Findings of Occupational Arsenic Exposure in Workers". *Balkan Med J.* 2017 May 5;34(3):263-268. doi: 10.4274/balkanmedj.2016.0795. Epub 2017 Apr 6. PMID: 28443582, PMCID: PMC5450867
12. Fierz, M., Meier, D., Steigmeier, P., Burtscher, H., 2014. "Aerosol measurement by induced currents." *Aerosol Sci. Technol.* 48:350–357. <https://doi.org/10.1080/02786826.2013.875981>
13. Flora S, Dwivedi N. A Toxicochemical Review of Gallium Arsenide. *Defence Science Journal.* 2012;62:95-104.

14. Greber, J.F. (2003) *"Gallium and gallium compounds"*. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6th rev. Ed., Vol. 15, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., pp. 235-240.
15. Guterres SS et al. *"Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous applications."* Drug Target Insights. 2007;2:147-157.
16. Hartmann CB, Harrison MT, McCoy KL. *"Immunotoxicity of gallium arsenide on antigen presentation: comparative study of intratracheal and intraperitoneal exposure routes."* J Immunotoxicol. 2005 Jan 1;2(1):1-9. doi: 10.1080/15476910590930083. PMID: 18958654
17. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.. *"Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide"*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2006;86:1-294. No abstract available. MID: 16906675, PMCID: PMC4781610
18. Iavicoli I, Fontana L, Pingue P, Todea AM, Asbach C. *"Assessment of occupational exposure to engineered nanomaterials in research laboratories using personal monitors."* Sci Total Environ. 2018 Jun 15;627:689-702. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.260. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29426194
19. Iavicoli et al, *"Libro bianco esposizione a nanomateriali ingegnerizzati ed effetti sulla salute e sicurezza nei luoghi di lavoro"*, 2011, INAIL
20. ISO/TS 80004-2:2015
21. Jung H and Kittelson DB. *"Characterization of Aerosol Surface Instruments in Transition Regime"*. Aerosol Science and Technology, Vol. 39, July 2005, pp. 902–911. <https://doi.org/10.1080/02786820500295701>
22. Khairul I, Wang QQ, Jiang YH, Wang C, Naranmandura H. Metabolism, toxicity and anticancer activities of arsenic compounds. Oncotarget. 2017 Apr 4;8(14):23905-23926. doi: 10.18632/oncotarget.14733. Review. PMID: 28108741, PMCID: PMC5410354
23. Khan et al, *"Nanoparticles: Properties, applications and toxicities"*, Arabian Journal of Chemistry, Volume 12, Issue 7, 2019, Pages 908-931, ISSN 1878-5352
24. Lademann J, Richter H, Teichmann A, et al. *"Nanoparticles--an efficient carrier for drug delivery into the hair follicles."* Eur J Pharm Biopharm. 2007;66(2):159-164. doi:10.1016/j.ejpb.2006.10.019
25. Mazet L, Yang SM, Kalinin SV, Schamm-Chardon S, Dubourdiou C. *"A review of molecular beam epitaxy of ferroelectric BaTiO(3) films on Si, Ge and GaAs substrates and their applications."* Sci Technol Adv Mater. 2015 Jun 30;16(3):036005. eCollection 2015 Jun. Review. PMID: 27877816, PMCID: PMC5099853
26. Misra C, Singh M, Shen S, Sioutas C and Hall PM. *"Development and evaluation of a personal cascade impactor sampler (PCIS)"* Journal of Aerosol Science, Vol. 33, February 2002, pp. 1027-1047. PII: [S0021-8502\(02\)00055-1 \(epa.gov\)](https://doi.org/10.1054/ja.2002.35005)
27. Muenyi CS, Ljungman M, States JC. *"Arsenic Disruption of DNA Damage Responses-Potential Role in Carcinogenesis and Chemotherapy."* Biomolecules. 2015 Sep 24;5(4):2184-93. doi: 10.3390/biom5042184. Review. PMID: 26404387, PMCID: PMC4693233
28. Murugadoss S, Lison D, Godderis L, et al. *"Toxicology of silica nanoparticles: an update. Arch Toxicol."* 2017;91(9):2967-3010. doi:10.1007/s00204-017-1993-y

29. Moskalyk, R. "Gallium: The Backbone of the Electronics Industry. Minerals Engineering", 2003, - MINER ENG. 16. 921-929. 10.1016/j.mineng.2003.08.003.
30. NIOSH, "*Current Intelligence Bulletin 60: Interim Guidance for Medical Screening and Hazard Surveillance for Workers Potentially Exposed to Engineered Nanoparticles.*" DHHS (NIOSH) Publication No. 2009–116, 2009, Available at: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2009-116/#2>. Accessed February 24, 2009.
31. Nurchi VM, Djordjevic AB, Crisponi G, Alexander J, Bjørklund G, Aaseth J. Arsenic Toxicity: Molecular Targets and Therapeutic Agents. *Biomolecules*. 2020 Feb 4;10(2). pii: E235. doi: 10.3390/biom10020235. Review. PMID: 32033229, PMCID: PMC7072575
32. Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*. 2005 Jul;113(7):823-39. Review. Erratum in: *Environ Health Perspect*. 2010 Sep;118(9):A380. PMID: 16002369, PMCID: PMC1257642
33. OECD, "*Strategies, Techniques and Sampling Protocols for Determining the Concentrations of Manufactured Nanomaterials in Air at the Workplace*", 2017, ENV/JM/MONO(2017)30 [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2017\)30&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2017)30&doclanguage=en)
34. OECD, "*Harmonized tiered approach to measure and assess the potential exposure to airborne emissions of engineered nano-objects and their agglomerates and aggregates at workplaces.*" *Ser. Saf. Manuf. Nanomater*. 55 (2015): JT03378848.
35. Ratnaike RN. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad Med J*. 2003 Jul;79(933):391-6. Review. PMID: 12897217, PMCID: PMC1742758
36. R Core Team (2021). *R: "A Language and environment for statistical computing"* Retrieved from <https://cran.r-project.org>. (R packages retrieved from MRAN snapshot 2021-04-01).
37. Roco, MC, Hersam, MC e Mirkin, "*Indicazioni di ricerca sulle nanotecnologie per Bisogni della società nel 2020. Indicazioni di ricerca sulle nanotecnologie per i bisogni della società nel 2020.*" , 2011, <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1168-6>
38. Tanaka A. "*Toxicity of indium arsenide, gallium arsenide, and aluminium gallium arsenide.*" *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004 Aug 1;198(3):405-11. Review. PMID: 15276420
39. The Jamovi project (2021). *jamovi*. (Version 2.2) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>
40. The University of Texas Health Science Center at Houston "*Nanoparticles Safety Guide*".
41. Van Broekhuizen "*Exposure limits for nanoparticles: report of an international workshop on nano reference values.*" *Ann Occup Hyg*. 2012 Jul;56(5):515-24. doi: 10.1093/annhyg/mes043. PMID: 22752096
42. World Health Organization (WHO)., "*Guidelines on Protecting Workers from Potential Risks of Manufactured Nanomaterials.*" 2017, Geneva, Switzerland: WHO. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-80060-3>