



bimestrale dell'ENEA  
anno 61  
gennaio - aprile 2015

# Energia, Ambiente e Innovazione

1-2/2015

**Agricoltura  
più efficiente  
e sostenibile**

**Aumentare  
la produzione agricola  
e ridurre le perdite**

**I nanomateriali:  
produzione  
ed uso sostenibile**



**Registrazione**

Tribunale Civile di Roma  
Numero 148 del 19 aprile 2010 del Registro Stampa

**Direttore Responsabile**

Diana Savelli

**Comitato di Direzione**

Pietro Agostini, Vincenzo Artale, Giacobbe Braccio,  
Marco Casagni, Gian Piero Celata, Vincenzo Cincotti,  
Carlo Cremisini, Pierino De Felice, Roberta Delfanti, Nino  
Di Franco, Francesco Di Mario, Roberta Fantoni, Elena  
Fantuzzi, Massimo Forni, Massimo Iannetta, Riccardo  
Levizzari, Carmela Marino, Paride Meloni, Silvio Migliori,  
Roberto Morabito, Aldo Pizzuto, Vincenzo Porpiglia,  
Sergio Sangiorgi, Massimo Sepielli, Leander Tapfer, Ezio  
Terzini, Carlo Tricoli, Gabriele Zanini

**Comitato tecnico-scientifico**

Osvaldo Aronica, Ilaria Bertini, Paolo Clemente,  
Paolo Di Lazzaro, Andrea Fidanza, Stefano Giammartini,  
Giorgio Graditi, Massimo Maffucci, Laura Maria Padovani,  
Paolo Ruti, Emilio Santoro

**Coordinamento editoriale**

Giuliano Ghisu

**Collaboratori**

Daniela Bertuzzi, Paola Carrabba, Sergio Cappucci,  
Orietta Casali, Antonino Dattola, Barbara Di Giovanni,  
Giovanni Puglisi

**Inserti ENEA per EXPO 2015**

A cura di Paola Carrabba, Paola Del Nero,  
Barbara Di Giovanni, Maura Liberatori, Paola Molinas,  
Rachele Nocera, Laura Maria Padovani

**Traduzione e revisione lingua inglese**

Carla Costigliola

**Progetto grafico**

Paola Carabotta, Bruno Giovannetti, Cristina Lanari

**Edizione web**

Antonella Andreini, Serena Lucibello, Concetta Manto

**Sviluppo App**

Giordano Vicoli

**Promozione**

Paola Crocianielli

*Gli articoli riflettono le opinioni degli autori e non necessariamente quelle dell'ENEA*

Per informazioni e contatti: infoeal@enea.it

**Pre-stampa**

Varigrafica Alto Lazio  
Via Cassia, km 36,300 (Zona industriale) - 01036 Nepi (VT)  
Chiuso nel mese di maggio 2015

Disponibile on-line e scaricabile gratuitamente sul sito  
www.enea.it e su App Store dai dispositivi mobili Apple



**Aumentare la produzione agricola e ridurre le perdite**

**IL TEMA**

**4 La scienza e le biotecnologie vegetali saranno pronte per assicurare alimenti alla popolazione mondiale del 2050?**

*A. M. Stanca*

**POLICY OVERVIEW**

**16 Biotecnologie: uno strumento per l'innovazione sostenibile in agricoltura**

*R. Nocera*

**IL PUNTO DI VISTA**

**20 Intervista al Professor Amedeo Alpi**

*A cura di M. Liberatori*

**L'ENEA PER...**

**24 Valutare e gestire il cambiamento globale in agricoltura mediante modelli di ecosistema integrati nei sistemi di informazione geografica**

*L. Ponti, A. P. Gutierrez, M. Iannetta*

**27 Genetica applicata alla costituzione di nuove varietà di piante**

*C. Stamigna, E. Chiaretti, D. Chiaretti*

**29 "Fast and Fluo": la nuova tecnica FISHIS consente di catturare i cromosomi e apre nuovi orizzonti alla genomica**

*D. Giorgi, A. Farina, V. Grosso, S. Lucretti*

**32 Tecnologie aerospaziali integrate a supporto dell'agricoltura di precisione**

*F. Borfecchia, L. De Cecco, S. Martini, L. Giordano, C. Trotta, D. Masci, V. Di Gioia, V. Pignatelli, A. Moreno, C. Micheli, S. Mancini, A. Pizzuti, P. Piciuccio, S. Taraglio, V. Nanni, C. Moriconi*



**Agricoltura più efficiente e sostenibile**

**IL TEMA**

**38 "Agricoltura di precisione" per aumentare l'efficienza d'uso delle risorse**

*B. Basso*

**IL PUNTO DI VISTA**

**43 Intervista a Gianfranco Bologna, Direttore Scientifico WWF Italia**

*A cura di M. Liberatori*

**L'ENEA PER...**

**45 Gestire in modo efficiente gli input chimici ed energetici in agricoltura, riducendo l'inquinamento ambientale**

*M. R. Rapagnani, M. Cristofaro, A. Letardi*

**47 Le risorse genetiche vegetali per la sostenibilità delle produzioni agroindustriali**

*L. Bacchetta, A. Del Fiore, B. Di Giovanni, L. M. Padovani, C. Santi, V. Tolaini, C. Tronci*

**49 Acqua e agricoltura: un rapporto che deve cambiare**

*R. Farina*

**51 L'utilizzo della pollina per la riduzione dell'impatto ambientale**

*A. Dall'Ara, S. Sangiorgi, M. T. la Peruta*

**54 Estrazione sostenibile di biomolecole per usi alimentari, cosmetici e farmaceutici: l'estrazione a fluidi supercritici**

*G. P. Leone, D. Ferri*

**58 Ridurre gli input chimici ed energetici in agricoltura mediante tecniche agronomiche innovative**

*S. Arnone, S. Musmeci, P. Nobili, R. Sasso, M. Cristofaro, A. Letardi*

- 59** **Tecnologie di filtrazione tangenziale a membrana e applicazioni per l'industria agro-alimentare**

*G. P. Leone, C. Russo*

- 62** **Controllo biologico delle specie aliene ed invasive in agricoltura**

*M. Calvitti, R. Moretti, E. Lampazzi*

- 64** **Agricoltura sostenibile: valorizzazione del "neem cake"**

*S. Mariani*



Spazio aperto

**I nanomateriali: produzione ed uso sostenibile**

**TECNOLOGIE**

- 67** **L'importanza industriale delle nanotecnologie e dei nanomateriali**

*A. Porcari, E. Mantovani*

- 74** **Nanotecnologie e nanomateriali: opportunità di green innovation**

*G. Barberio, C. Brunori, R. Morabito*

- 83** **Produzione di nanomateriali: tecnologie chimiche e fisiche**

*L. Giorgi, E. Salernitano*

- 93** **Caratterizzazione dei nanomateriali**

*A. Montone, A. Aurora, G. Di Girolamo*

- 105** **Stato dell'arte e prospettive della valutazione tossicologica di nanomateriali ingegnerizzati**

*F. Pacchierotti, M. G. Grollino, G. Leter*

- 111** **I nanomateriali e l'ambiente**

*S. Manzo, G. Rametta, M. L. Miglietta, G. Di Francia*

**POLITICHE**

- 118** **La classificazione e l'etichettatura dei nanomateriali secondo il Regolamento 1272/2008 (CLP)**

*M. Alessandrelli, P. Di Prospero Fanghella, M. L. Polci*

- 122** **Il Regolamento REACH e i nanomateriali: stato dell'arte**

*M. Alessandrelli, S. Castelli, P. Di Prospero Fanghella, M. L. Polci, F. Pettrossi*

- 129** **Scenari di esposizione qualitativi sulle sostanze in nanoforma in ambito REACH**

*R. Carletti, F. Carfi, S. Castelli, F. D'Amico, S. Moro Iacopini*

- 135** **Strumenti di valutazione impatto ambientale di nanomateriali**

*G. Barberio, S. Scalbi, P. Buttol, S. Righi, P. Masoni*



## AUMENTARE LA PRODUZIONE AGRICOLA E RIDURRE LE PERDITE

*A partire dagli anni 60, la rivoluzione verde ha aumentato le rese agricole in Asia e in America latina con nuove varietà migliorate di colture, più fertilizzanti, irrigazione e macchine agricole.*

*Bisogna ora intervenire nelle aree meno produttive in Africa, America latina ed Europa orientale, dove ci sono "buchi" tra i livelli di produzione attuali e quelli possibili.*

*L'utilizzo delle biotecnologie per ottenere piante più efficienti e produttive e approcci mutuati dall'agricoltura biologica e conservativa potrebbero aumentare in maniera considerevole le rese in questi luoghi.*

### il tema

*Scienza e biotecnologie vegetali assicureranno alimenti alla popolazione del 2050?*

### policy overview

*Biotecnologie strumento per l'innovazione sostenibile in agricoltura*

### il punto di vista

*Intervista al Professor Amedeo Alpi*

### L'Enea per...

*Strumenti per valutare e gestire il cambiamento globale in agricoltura*

*Genetica applicata alla costituzione di nuove varietà di piante*

*La tecnica FISHIS cattura i cromosomi e apre nuovi orizzonti alla genomica*

*Tecnologie aerospaziali integrate a supporto dell'agricoltura di precisione*



## La scienza e le biotecnologie vegetali saranno pronte per assicurare alimenti alla popolazione mondiale del 2050?

DOI 10.12910/EAI2015-025

A. Michele Stanca

### Introduzione

In cinque grandi centri di origine, 12.000 anni or sono, intorno a orzo, frumento, mais, riso, la specie umana inventa la più importante attività che ci ha accompagnato nella nostra storia evolutiva e ci accompagnerà all'infinito: l'agricoltura. Cosa era successo in quel preciso momento? C'è stato un passaggio di era, dal tardo paleolitico (uomo cacciatore-raccoglitore) al neolitico, durante il quale l'uomo/donna mette a punto la tecnologia per coltivare piante che già usava nella sua dieta, perché presenti nell'ambiente circostante, si nutre dei loro prodotti ed evita così di esercitare esclusivamente l'attività pericolosa della caccia.

È interessante che questa innovazione si sia sviluppata indipendentemente nei diversi centri di origine e probabilmente determinata da un unico evento: si stava concludendo l'ultima glaciazione. Mano a mano che i ghiacciai si ritiravano, nuove specie erbacee e arboree si svilupparono e le abitudini alimentari cambiarono radicalmente. Le graminacee progenitori di orzo, frumento, mais e riso diventarono le più frequenti nella flora spontanea e vennero usate dal cacciatore-raccoglitore tal quali prima e coltivate poi. La disponibilità di cibo e di nuove terre a seguito del ritiro di ghiacciai favorirono l'espansione della popolazione umana, che raggiunse circa 5.000.000 di persone su tutto il pianeta (Cavalli Sforza 2005).

Per praticare l'agricoltura l'uomo addomestica la specie che più gli assicura il maggior rendimento, e da quel momento la protegge dalla competizione con le altre specie: la sottrae quindi alla selezione naturale e dà avvio alla Rivoluzione Neolitica. Tutto ciò si realizza nella Mezzaluna Fertile, regione nella quale la civiltà compie i primi passi intorno a frumento e orzo e in cui nello stesso tempo vengono applicate tutte le tecnologie innovative via via sviluppate.

Nella aree circostanti la Rivoluzione Neolitica non si è ancora diffusa. È stato messo in evidenza che l'assenza di progenitori selvatici di orzo e frumento in Europa ha fatto sì che l'agricoltura raggiungesse i Paesi scandinavi con un ritardo di 4000 anni. La diffusione di questa tecnologia, partendo dalla Mezzaluna, è stata calcolata pari a 1,1 km/anno (Cavalli-Sforza 2005). Anche l'Italia non ha conosciuto un neolitico indigeno, ed è stata colonizzata seguendo due principali vie: il Mediterraneo e il Danubio, attraverso la Svizzera.

L'abbondanza di alimenti stimolò nell'uomo del neolitico la ricerca di un sistema di conservazione dei prodotti agricoli: l'uomo impara a cuocere l'argilla e a costruire i primi grandi vasi di terracotta proprio per la conservazione delle granaglie e dei liquidi. Questa tecnologia, benché nata in ritardo di qualche millennio rispetto all'agricoltura, si sviluppò molto più velocemente tra

le diverse popolazioni. Proprio in questa seconda fase si scoprono, casualmente, anche i primi prodotti trasformati: birra e pane. Questa “tranquillità” alimentare favorì ulteriormente l’incremento demografico, che a sua volta ha favorito le migrazioni verso nuove terre sino alla formazione delle prime città.

L’orzo e il frumento selvatici a quel tempo coltivati avevano la caratteristica di disperdere i semi: la spiga a maturazione si disarticolava ad ogni nodo del rachide, lasciando cadere

i singoli chicchi in posizioni diverse sul terreno, così favorendo la crescita e maturazione delle nuove piante, avvantaggiate in ecosistemi naturali nella competizione con altre specie. Se dal punto di vista evolutivo questa strategia sviluppata dalla pianta rappresentava una valvola di sicurezza per la sopravvivenza della specie, dal punto di vista della produzione di cibo costituiva un punto debole, portando alla perdita totale del raccolto per effetto di improvvise calamità naturali (vento, pioggia). Il più grande salto scientifico-tecnologico si ebbe quando tra le piante di orzo selvatico si scoprì una spiga non fragile. Fu la prima trasformazione genetica utile registrata nella storia, che certo avrà provocato scontri tra le diverse posizioni: progressisti per la “spiga non fragile”, conservatori a favore della “spiga fragile”. Vinsero i progressisti, e da quel momento cominciò ad evolversi tutta una nuova tecnologia per la raccolta, la trebbiatura e la conservazione del prodotto.

La genetica che sottende questo carattere fondamentale della domesticazione è stata recentemente chiarita. In orzo, i due geni responsabili del carattere “spiga non fragile” sono *Btr1* and *Btr2*, strettamente associati sul cromosoma 3H, mentre in frumento svolgono un ruolo maggiore *brittle rachis 2 (Br-A1)* e *brittle rachis 3 (Br-B1)*, rispettivamente posizionati sul braccio corto dei cromosomi 3A e 3B. Nell’insieme, sembra che in tutte le *Triticaceae* siano presenti questi geni come gruppo di ortologi che controllano la disarticolazione in diversi punti della spiga. Un altro esempio è il gene *sh4* di riso, che codifica per un fattore trascrizionale responsabile della formazione del tessuto di abscissione alla base del peduncolo che regge il granello sulla pannocchia di riso. Nel riso coltivato la mutazione di un singolo nucleotide, che determina la sostituzione di una Lisina con una Asparagina, è sufficiente per ridurre lo sviluppo del tessuto di abscissione in modo tale da impedire la caduta spontanea dei semi, consentendo tuttavia il distacco dei semi a seguito di sollecitazione meccanica (trebbiatura).



Figura 1  
Spiga di orzo (*Hordeum spontaneum*), caratterizzato da rachide fragile che, disarticolandosi alla maturazione, consente la dispersione dei semi  
Foto: R. Alberici



Figura 2  
Frutti e foglie di oleastro (*Olea europaea* sbsp. *sylvestris*) e di varietà coltivate da olio (*Olea europaea* sbsp. *sativa* - varietà Cellina di Nardò)  
Cortesia di A.M. Stanca et al.

Nel processo di addomesticamento una caratteristica tenuta in gran conto è stata la dimensione dei frutti. Uno degli esempi più significativi è la transizione dalla forma selvatica -oleastro- ad olivo coltivato da olio, che si caratterizza per l’incremento notevole delle dimensioni della drupa, processo verosimilmente controllato da poche mutazioni semplici (Figura 2).

Una profonda modifica dell’architettura della pianta e della morfologia della spiga del mais è stata causata dal gene *Teosinte branch1 (Tb1)* che controlla lo sviluppo delle gemme laterali, determinando nel progenitore selvatico del mais (il teosinte) lunghe ramificazioni laterali terminanti con una infiorescenza maschile e numerosi germogli basali, caratteristiche assenti nel mais coltivato. *Tb1* codifica per un fattore trascrizionale che

agisce da repressore dello sviluppo dei germogli laterali, imponendo una dominanza apicale.

Anche in specie orticole è stato molto evidente l'effetto delle mutazioni su caratteristiche fondamentali dell'architettura della pianta e qualità dei frutti. In pomodoro, significativi sono stati gli effetti di alcuni geni, tra cui *self proning*, che trasforma lo sviluppo della pianta da indeterminato (ininterrotta crescita dell'apice vegetativo) a determinato (la crescita dell'apice vegetativo viene bloccata, ottenendo piante a sviluppo contenuto) e *jointless*, che controlla il sistema di disarticolazione della bacca dal peduncolo.

La bacca di pomodoro può assumere una varietà di colorazioni, che vanno dal giallo pallido al viola intenso, sino alla più recente scoperta dei mutanti a bacca nera: responsabili di questo fenomeno sono mutazioni in geni singoli, quali yellow flesh (giallo), dark green (rosso intenso), green flesh (viola), u (uniformemente verde).

In pisello una mutazione puntiforme al gene *af* determina la trasformazione delle foglie in cirri.

La fase di addomesticamento continuò portando in coltura altre specie come pisello, lenticchia, fico, e parallelamente si cominciarono ad addomesticare gli animali come pecore, capre, bovini, suini e successivamente cavalli. Con l'addomesticamento degli animali, la dieta si diversifica completamente e si completa. I binomi cereali-leguminose, cereali-latte e cereali-carne rappresentano la migliore combinazione nutritiva. Oggi sappiamo perché: la cariossida di un cereale mediamente è composta dal 65-75% di amido, 8-20% di proteine, 3,8% di grassi. La proteina però ha un valore biologico scarso perché carente di due aminoacidi, lisina e triptofano, motivo per cui anche nella dieta moderna i cereali si complementano con altri alimenti ricchi di proteine nobili.

Queste innovazioni tecnologiche provocarono un aumento della quantità di cibo e conseguentemente la crescita della popolazione sulla Terra.

### La formazione di Landraces

Dopo la fase iniziale di addomesticamento, l'interazione tra la selezione naturale e una selezione antropica empirica ha portato allo sviluppo di popolazioni adattate ai diversi ambienti di coltivazione, note come *landraces*. Si sono selezionate popolazioni con frutti e semi di dimensioni maggiori, vigore dei culmi, sincronizzazione dei tempi di germinazione e maturazione. Si è stabilito quindi un continuum tra le nuove *landraces* e i loro progenitori selvatici, che ha favorito eventi di introgressione, derivati da incrocio casuale e conservazione di caratteri favorevoli, con specie selvatiche

che imparentate, ma anche eventi di ricombinazione frequenti o sporadici. Tutte le mutazioni accumulate durante la storia evolutiva delle specie selvatiche e addomesticate rappresentano la biodiversità disponibile sul pianeta e quindi un salvadanaio di geni utili. L'importanza della conservazione e valorizzazione del germoplasma vegetale, quale fonte naturale per il mantenimento della biodiversità, è stata definita strategica per il futuro dell'umanità a partire dalla Conferenza Internazionale sulla Biodiversità tenutasi a Rio de Janeiro nel 1992. Grandiosa è stata l'opera di Teofrasto, che ha descritto il mondo vegetale in nove volumi. L'Impero Romano ha contribuito in modo determinante alla diffusione di un imponente patrimonio biologico nei territori controllati ed ha affinato una moderna tecnologia agronomica di base ed applicata, i cui effetti sono ancor oggi di riferimento; ma è stata la scoperta dell'America a determinare il più importante flusso di specie vegetali a livello planetario che, gradualmente, hanno provocato un radicale cambiamento nella dieta degli europei (mais, patata, pomodoro, fagiolo ecc.)

Il tema della biodiversità è perciò da sempre al centro delle attenzioni del mondo scientifico. Il bilancio attuale stima che circa 220.000 siano le specie vegetali rilevanti presenti sul pianeta (mono e dicotiledoni), di cui 5000 usate dall'uomo per i propri fabbisogni e 1500 addomesticate. Solo 150 vengono oggi impiegate in modo significativo, ma ciò che colpisce è che 4 sole specie forniscono il 60% delle calorie alimentari. Di queste quattro specie si dispone presso diversi laboratori di centinaia di migliaia di ecotipi, *landraces*, varietà. L'Italia contribuisce a questo patrimonio naturale con 6700 specie vegetali. La variabilità naturale e le risorse genetiche rappresentano il deposito di geni da cui attingere per raggiungere ulteriori progressi attraverso l'accumulo di alleli utili e l'eliminazione di blocchi di *linkage* in genotipi superiori. Attraverso la conservazione *in situ* (cioè negli ambienti naturali dove può essere possibile l'alloincrocio tra la specie addomesticata con le specie selvatiche), *on farm* (cioè mantenendo in coltivazione le varietà locali) e/o *ex situ* (cioè in ambienti controllati, in cui non esistono gli ancestrali) e valorizzato, in quanto fonte di caratteri utili per il miglioramento varietale (<http://www.biodiversityinternational.org/>). È chiaro come la conservazione *ex situ* sia un processo statico, in cui non c'è ricombinazione genica, mentre nella conservazione *in situ* è assicurato un processo dinamico di flusso genico.

La conservazione *ex situ* (soprattutto di semi, ma anche di tuberi, polline, parti di pianta, spore ecc.) deriva dalla constatazione che la sola conservazione *in*

*situ* non riesce ad evitare la perdita di biodiversità, a causa delle pressioni antropiche, del degrado ambientale, dei cambiamenti climatici, della competizione con specie più invasive. È questa la forma di conservazione più diffusa: si stima infatti che, a livello mondiale, poco meno del 90% del germoplasma di specie agrarie sia conservato *ex situ*. Recentemente si sono avviate anche attività di conservazione della flora rara, minacciata, endemica e protetta. A questo proposito sono nate e cresciute banche e associazioni per la conservazione del germoplasma, insieme a collezioni particolari disponibili presso vari enti. Veramente rilevante è il numero di genotipi presenti nelle diverse collezioni a livello mondiale: si stima infatti che la cifra globale sia di circa 7,4 milioni di accessioni, comprendendo specie coltivate e specie selvatiche, affini o non affini alle coltivate.

I punti critici della conservazione di semi sono la temperatura e l'umidità. Molte specie presentano infatti semi "ortodossi", che tollerano la deumidificazione fino a livelli del 3-7% e possono essere conservati a temperature basse (tra 0 e -20 °C). Recentemente è stata attivata una nuova struttura per la conservazione "long term" a bassa temperatura nelle isole Svalbard (Norvegia) (Westengen et al. 2013). Circa l'1% delle risorse genetiche è invece conservato *in vitro*, tecnica utilizzata per specie a propagazione vegetativa o caratterizzate da semi "non ortodossi", impossibili da essiccare e conservare efficacemente a basse temperature. Ancora più rare sono le collezioni conservate a bassissime temperature (-196 °C), incluse le banche di DNA. Per le diverse specie agrarie sono conservate quindi sia "collezioni di base", che comprendono la maggior parte della variabilità genetica esistente a livello mondiale, che *Core Collections*, "collezioni di lavoro" immediatamente fruibili.

Tra le diverse collezioni di germoplasma presenti sul territorio italiano, spicca senz'altro l'olivo, specie allogama di grande interesse per gli ambienti mediterranei, caratterizzata da una variabilità genetica molto elevata legata al fatto che la specie non ha subito erosione genetica specifica, e che si tratta di una pianta longeva e resistente.

Si stima che il numero totale delle varietà di olivo coltivate nel mondo sia di circa 1300, a cui si aggiungono oltre 3000 ecotipi locali e le popolazioni di olivo selvatico presenti lungo tutta l'area subcostiera mediterranea. L'Italia ha uno straordinario patrimonio genetico di questa specie e raccoglie più del 40% dell'intero germoplasma coltivato, oltre a centinaia di varietà minori, ecotipi locali ed esemplari millenari.

Altre importanti collezioni di germoplasma sono relati-

ve alla vite, con più di 1500 vitigni, e i cereali e le leguminose da granella.

Attualmente la genomica utilizza in modo nuovo le risorse genetiche, tant'è vero che le banche del germoplasma spesso affiancano alle loro collezioni banche del DNA. Gli avanzamenti della genomica hanno aperto infatti nuove prospettive alla genotipizzazione delle diverse popolazioni, per l'identificazione di geni che controllano caratteristiche fenotipiche semplici o complesse.

La fenotipizzazione del germoplasma e di materiali genetici particolari rappresenta probabilmente una fase critica nel processo di valorizzazione e utilizzo di risorse genetiche. Grande e rinnovata attenzione viene riservata a questa attività, anche attraverso lo sviluppo di sistemi automatizzati -piattaforme- per la valutazione di diversi parametri fisiologici e morfologici in condizioni di alta standardizzazione.

### Dalle Landraces a Mendel, Strampelli, Borlaug e oltre

Nella fase premendeliana l'interazione tra la selezione naturale e una selezione antropica empirica ha portato, come già detto, allo sviluppo di popolazioni adattate ai diversi ambienti di coltivazione note come *landraces*. Tuttavia queste *landraces*, dal periodo romano agli inizi del 1900, non hanno provocato significativi incrementi produttivi per unità di superficie. Con la riscoperta delle leggi di Mendel, le prime conoscenze sulla genetica dei caratteri quantitativi e la scoperta dell'eterosi, si è affermata una vera attività di miglioramento genetico, che nel giro di pochi decenni ha radicalmente modificato la capacità produttiva e le caratteristiche qualitative delle piante coltivate.

La genetica vegetale, con la riscoperta delle leggi di Mendel, ha consentito di approfondire le conoscenze sulla definizione dell'ereditarietà dei caratteri e nello stesso tempo ha permesso di sviluppare tecnologie nelle piante coltivate capaci di accumulare geni utili, originariamente dispersi nelle popolazioni, in genotipi superiori. Si avvia così un'intensa attività di miglioramento genetico che ha portato in tutte le specie coltivate allo sviluppo di nuove varietà sempre più produttive e sempre più rispondenti alle esigenze della moderna società. In generale, nell'ultimo secolo nella maggior parte dei Paesi si sono registrati per tutte le specie coltivate incrementi produttivi sorprendenti, ed in particolare per i cereali, grazie a Strampelli prima e a Borlaug dopo, i guadagni produttivi attribuibili al progresso genetico sono compresi tra 20 e 50 kg ha<sup>-1</sup> per anno (Garcia Olmedo 2000). Questi cambiamenti sono associati ad importanti modificazioni dell'architettura e della fisiologia della pianta, come evidente in orzo e frumento, in cui la riduzione dell'altezza della pianta, accompa-

gnata da una maggior efficienza nell'assorbimento e nel trasporto, si è rivelata indissolubilmente collegata all'aumento dell'Harvest Index.

Nel 1911 Nazareno Strampelli per primo introdusse il carattere bassa taglia nei frumenti usando nei suoi incroci il genotipo giapponese AKAGOMUKI, portatore del gene *Rht8* sensibile alle gibberelline. Lo sviluppo di nuovi genotipi a bassa taglia rappresenta il grande successo italiano nel mondo. Le varietà di Strampelli sono state impiegate in quasi tutti i programmi di breeding in tutto il mondo sino a pochi anni or sono. Anche Cesare Orlandi utilizzò un'altra varietà a taglia bassa – SAITAMA 27 – portatrice del gene *Rht-B1d* insensibile alle gibberelline. Successivamente un'altra varietà giapponese, Norin 10(6x), portatrice di un altro gene di bassa taglia *Rht-B1b* insensibile alle gibberelline, isolata per la prima volta nel 1932, fu introdotta nel 1946 da Orville Vogel nella Washington State University, e nel 1948 fu eseguito il primo incrocio. Norman Borlaug utilizza Norin 10 nel 1955 per gli incroci, e nel 1964 avvia il nuovo programma di miglioramento genetico presso il CIMMYT (Messico), dal quale origina e si realizza la "Rivoluzione Verde", che gli porterà nel 1970 il premio Nobel per la pace.

Va chiarito che il successo di questi nuovi genotipi a bassa taglia non derivò soltanto dall'eliminazione dei danni da allettamento, ma anche dagli effetti pleiotropici di questo gene. Il guadagno nelle rese, anche con l'uso di dosi massicce di azoto, sarebbe stato pari al 50% del potenziale produttivo, cioè si sarebbero raggiunte rese pari a 3-3,5 t/ha. In pratica la presenza di *Rht-B1b* permette alla pianta di aumentare l'apparato fotosintetico, migliorare la fertilità della spighetta, il numero di spighe per spiga, il numero di spighe/m<sup>2</sup> e la dimensione della cariosside. Tutto ciò ha portato a un aumento della produzione pari a 4-5 volte il potenziale delle varietà pre-Strampelli (fino a 10-12 t/ha). Il gene *Rht-B1b* è stato battezzato "a very lucky gene". Perché? Dal punto di vista genetico e molecolare, il gruppo di Mike Gale a Cambridge ha spiegato il fenomeno in questo modo: *Rht-B1b* è un gene nato da una mutazione a un singolo nucleotide, verificatasi a una tripletta STOP codon. Ma subito dopo questa tripletta di STOP si è assortita una tripletta di START che codifica per Metionina, quindi il gene ha continuato a essere trascritto, producendo una proteina leggermente diversa dal *wild type*. Il gene *R* (*wild type*) codifica per una proteina con tre funzioni: la più importante è quella di riconoscere la gibberellina e dirigerla verso i siti d'azione – le pareti delle cellule dell'internodo. Nel mutante, cioè *Rht-B1b*, questa funzione si perde per il segnale di STOP e START a livello molecolare, e quindi la gibberellina continua

a essere prodotta dalla pianta, ma non viene veicolata per distendere le pareti cellulari dell'internodo (piante nane) e in più va a colpire organi importanti della riproduzione, come descritto in precedenza. Risultato finale: piante nane con una superiore potenzialità produttiva, sino a oggi ancora in crescita. Nel mondo l'incremento produttivo è stato notevole e si prevedono ancora progressi sostanziali sia in ambienti fertili che in ambienti stressati. L'evidenza di questo fenomeno fu messa in luce con un semplice esperimento, somministrando una soluzione contenente gibberelline a plantule di frumento *wild type* e mutate: ci si aspettava una crescita maggiore del mutante *dwarf* e nessuna crescita del *wild type*. Il risultato fu l'opposto: la varietà a taglia alta continuò a crescere mentre il mutante restò nano, e per questo fu battezzato "insensibile".

Con il gene *Rht-B1b* fu possibile descrivere un nuovo ideotipo di pianta, basato sull'Harvest Index (HI = biomassa utile/biomassa totale). Di fatto la potenzialità di biomassa totale non è cambiata tra i genotipi non *dwarf* e *dwarf*. È solo cambiato l'HI e ciò dimostra che tutta la genetica dei *dwarf* ha migliorato la relazione *source-sink* ed ha equilibrato il rapporto assorbimento/fotosintesi e trasporto/accumulo nei siti definitivi dei fotosintati.

Ricercatori australiani hanno identificato il gene corrispondente a *Rht-B1b* in *Vitis*, dove è responsabile della trasformazione dei cirri in organi fiorali e quindi grappoli. Infatti nella vite il gene omologo a *Rht-1* determina la conversione dei viticci in infiorescenze, che si evolvono nella formazione di grappoli d'uva. Nel normale sviluppo, in presenza della forma *wild type* del gene, i viticci non possono svilupparsi in infiorescenze perché bloccati dall'azione delle gibberelline (Stanca et al. 2014).

Il modello di pianta, il cosiddetto "ideotipo", nel quale deve instaurarsi un ottimale rapporto tra sorgente di energia "fotosintesi" e siti di accumulo (frutto) è stato esportato ed applicato in altre specie vegetali. Al miglioramento genetico classico si è affiancata la mutagenesi sperimentale per l'ottenimento di nuove varietà. La mutagenesi indotta nel settore vegetale ha un ruolo di rilievo non solo per lo studio delle funzioni geniche, ma anche, soprattutto in un recente passato, per indurre variabilità genetica da cui attingere nuovi fenotipi di potenziale interesse agrario. Negli anni 1960-70 sono state rilasciate diverse varietà di specie erbacee e arboree. In Italia la varietà di frumento Castelporziano è stata ottenuta direttamente per mutagenesi di Cappelli presso i Laboratori Applicazione Agricoltura del CNEN. La mutagenesi è ancor oggi ampiamente utilizzata nel settore delle piante orna-

mentali, in cui la richiesta di novità è costante.

È stato scritto che il successo economico della genetica sia stato anche lo sfruttamento dell'eterosi, sia in campo vegetale sia animale. Questo fenomeno genetico indica la comparsa di vigore fenotipico nelle progenie ibride rispetto ai parentali omozigoti (Barcaccia et al. 2006).

L'eterosi si è dimostrata strategia di grande interesse applicativo non solo nelle piante allogame (nel mais si sono raggiunte 15 t/ha in pieno campo), ma anche nelle autogame. Particolarmente rilevante è l'esempio del pomodoro (specie autogama), in cui lo sfruttamento di questo fenomeno ha spostato le produzioni, negli ultimi 50 anni, dagli iniziali 300 q/ha agli attuali 1200 q/ha in pieno campo e 2200 q/ha in serra. L'interesse verso lo sfruttamento dell'eterosi si è spostato anche su frumento e orzo: quattro ibridi del primo e sei del secondo sono oggi in coltura in Germania (Sreenivasulu and Schnurbusch 2013). In un secolo di applicazioni scientifiche nelle piante coltivate si sono raggiunti risultati straordinari; agli esempi sopra riportati si può aggiungere la barbabietola da zucchero, che è passata negli ultimi 40 anni da una produzione di radici media di 30 t/ha ad oltre 100 t/ha con un indice zuccherino del 15%. Abbiamo raggiunto il plateau?!

### Alimentare 10 miliardi di persone

Con i risultati fin qui raggiunti si può pensare di alimentare il pianeta nei prossimi 40 anni, quando la specie umana supererà i 9 miliardi di individui?

Benché la scienza e la tecnologia abbiano fornito in questi ultimi decenni risultati straordinari, e in considerazione del fatto che non possiamo più applicare la regola della messa a coltura di nuove terre, ma che dobbiamo risparmiare il terreno dalle continue razzie antropiche, nasce l'imperativo di dover chiedere all'unità di superficie l'ulteriore sforzo di ospitare, in perfetto equilibrio, nuove piante capaci di garantire il cibo per 10 miliardi di persone. Alla domanda se ciò sia possibile, la risposta è stata positiva, ma dobbiamo disegnare nuove strategie.

Gli obiettivi attuali sono rivolti a convogliare gli sforzi delle diverse discipline scientifiche verso lo sviluppo

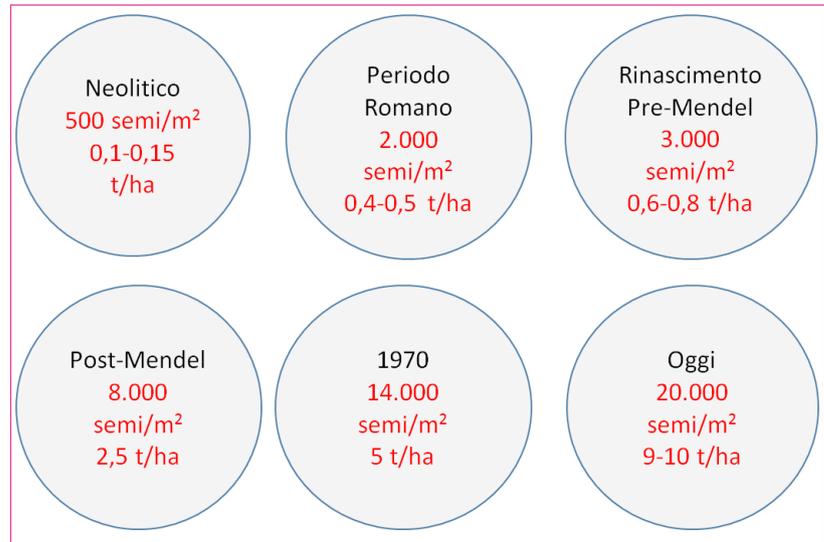


Figura 3  
Evoluzione della produzione di granella e numero di cariossidi per m<sup>2</sup> raggiunti dall'orzo (*Hordeum spontaneum*) dal Neolitico a Mendel e da Mendel ai nostri giorni  
Cortesia di A.M. Stanca et al.

di tecnologie mature per l'agricoltura del futuro, a garanzia di produzione di alimenti per tutti.

Se si analizza lo sviluppo e la crescita di una pianta addomesticata, si evidenzia che anche nelle migliori condizioni ambientali non si è riusciti a ridurre in modo consistente il gap esistente tra la produzione potenziale e quella effettiva raggiunta in azienda. Questo è il primo problema da affrontare.

Il secondo è quello di disegnare nei prossimi anni un nuovo modello di pianta capace di innalzare ulteriormente la potenzialità produttiva. Se consideriamo il frumento risulta evidente che le nuove varietà e le nuove tecniche agronomiche, in alcuni Paesi europei, hanno permesso di raggiungere una media nazionale superiore a 8 t/ha con una potenzialità di 12-14 t/ha, cioè sono stati ottenuti circa 20.000 semi/m<sup>2</sup> di terreno senza intensificare l'uso di prodotti di sintesi (Figura 3).

Oggi si può dire che teoricamente è possibile raggiungere 30.000 semi/m<sup>2</sup> e superare la barriera delle 15 t/ha. Potenzialmente il frumento, l'orzo e molte specie coltivate programmano molto precocemente il numero di fiori da trasformarsi in frutti per singola pianta, ma eventi sfavorevoli durante il ciclo biologico riducono drasticamente la fertilità e l'allegagione dei fiori e la dimensione dei frutti.

Partendo infatti da una situazione ottimale pari a 100 si può avere una perdita dell'80% a causa di eventi negativi ambientali. La sfida è di ottenere una nuova pianta capace di far fronte a queste cause negative durante

tutto il ciclo biologico! Nella Figura 4 vengono descritte tutte le offese che una specie vegetale riceve durante il suo ciclo biologico.

Oggi conosciamo in modo approfondito la tappa metabolica di risposta all'insulto; disponiamo della sequenza del genoma di molte specie, compresa la più complessa, il frumento; presso le banche del germoplasma sono disponibili i passaporti delle singole varietà con la descrizione fenotipico-molecolare delle loro caratteristiche peculiari; sono state designate nuove architetture di piante arboree; con l'aiuto della genomica nuove strategie di *breeding* sono state messe in opera per incorporare

più geni in un genotipo superiore (*Pyramiding*); nuove tecniche agronomiche saranno via via disponibili per appiattare sempre più la curva degli input di sintesi.

Un esempio molto appropriato riguarda l'architettura della pianta del melo regolata da un gene che controlla il portamento colonnare *Colomnar (Co)* mappato sul cromosoma 10. L'habitus di crescita colonnare, scoperto nel melo intorno al 1970, è caratterizzato da internodi corti, ridotta altezza e ramificazione della pianta. Questo modello ottimizza l'intercettazione della luce, permette di aumentare la densità di piante per ettaro come pure la produzione di frutti, riduce al minimo la potatura e facilita la raccolta meccanica (Wolters et al. 2013). Se a tutto ciò aggiungiamo i risultati ottenuti sulle resistenze, è evidente come anche per questa specie esistano già oggi incoraggianti prospettive.

È interessante osservare come all'aumentare della produzione di prodotti utili, la curva degli input tecnologici non segua lo stesso andamento in parallelo ma si appiattisce. Come già detto, tutti questi sforzi dovranno seguire un percorso di compatibilità ambientale. Per alcuni aspetti della destinazione d'uso della biomassa, si comincia a sperimentare la coltivazione di piante perennanti al fine di ridurre l'input dei prodotti di sintesi. Nuovamente, alla domanda quindi se la scienza e la tecnologia abbiano gli strumenti per produrre alimenti per 10 miliardi di individui nei prossimi 40 anni, la risposta non può essere che positiva, perché abbiamo già oggi, rispetto a qualche decennio fa, strumenti di conoscenza assolutamente nuovi: siamo nell'era della *Systems Biology*.

L'analisi dei genomi è stata la maggiore conquista della genetica moderna per lo studio della struttura e funzione dei singoli geni e dell'intero genoma degli esseri

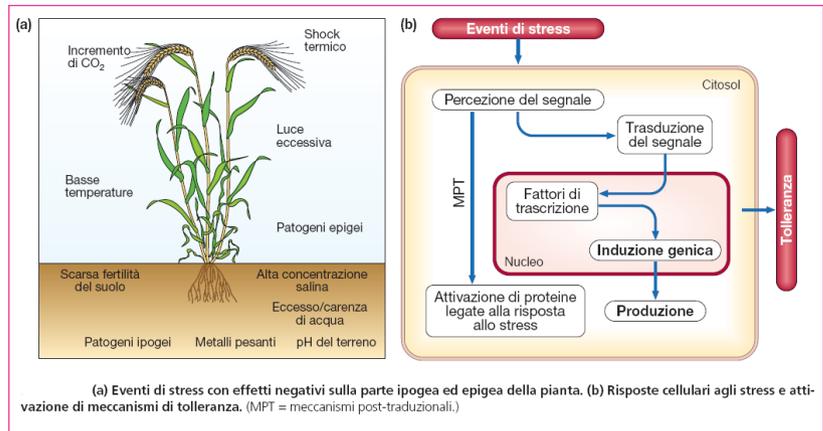


Figura 4  
Eventi di stress con effetti negativi sulla parte ipogea ed epigea della pianta (a); risposte cellulari agli stress e attivazione di meccanismi di tolleranza (b)  
Nota: MPT = meccanismi post-traduzionali  
Cortesia di A.M. Stanca et al.

viventi, fondamentale anche per comprenderne le dinamiche evolutive e sviluppare ulteriori biotecnologie al fine di migliorare specie vegetali per caratteri utili. Sono oggi disponibili le sequenze genomiche ad alta qualità di specie modello quali *Arabidopsis* e *Brachypodium* (oltre a quelle di specie di elevato interesse agronomico quali riso, mais, vite, melo, pioppo, patata, pomodoro, orzo e frumento). I genomi del riso e del *Brachypodium* sono particolarmente importanti perché servono anche da modello per lo studio dei genomi degli altri cereali, le *Poaceae*.

Tra i genomi di maggiore complessità si annovera quello del frumento tenero (*Triticum aestivum*,  $2n = 6x = 42\text{-AABBDD}$ ), stimato in 17 miliardi di bp, pari a cinque volte il genoma umano e a circa quaranta volte quello del riso. È caratterizzato dalla presenza di elementi ripetuti per circa l'80%. Si stima che soltanto nel cromosoma 5A siano contenuti da cinque a seimila geni (Vitulo et al. 2011).

Il primo importante incrocio avvenne tra la specie portatrice del genoma A (*Triticum urartu* AA) e quella portatrice del genoma B (*Aegilops speltoides* BB), incrocio che diede origine a *Triticum turgidum* (AABB), il grano duro tetraploide che utilizziamo per fare la pasta; successivamente, questa specie unì il proprio genoma con quello di *Aegilops tauschii* (DD). Sequenziare il genoma del frumento è un po' come completare un puzzle di migliaia di pezzi, tutti molto simili tra loro. Considerando la qualità dell'assemblaggio, i ricercatori stimano che *Triticum aestivum* possieda qualcosa come 106.000 geni codificanti per proteine, un numero elevatissimo se rapportato ai 25.000 geni umani, ma perfettamente in linea con le dimensioni considerevoli di questo genoma. Ciò che rende dav-

vero speciale il genoma di *Triticum aestivum* è il fatto che esso sia in realtà costituito da tre distinti genomi, costretti dall'evoluzione a convivere all'interno della stessa specie. Nel genoma del frumento si trovano moltissime tracce di questi esperimenti evolutivi: si contano infatti migliaia di geni che mostrano differenze rispetto alla versione originale presente nelle piante selvatiche. Generalmente si tratta di mutazioni senza effetti particolari, ma in alcuni casi l'impatto sulla funzionalità della proteina è stato rilevante. Da queste sequenze ridondanti potrebbero ad esempio originarsi i microRNA (di 20-24 nucleotidi), una categoria di molecole fondamentali per la resistenza agli stress ambientali e agli agenti patogeni (Colaiacovo 2014).

Nelle piante, sono particolarmente attivi durante lo sviluppo, ma non mancano esempi di microRNA che controllano la risposta agli stress ambientali, quali la siccità o la carenza di nutrienti nel terreno, e all'attacco di agenti patogeni. Agiscono spegnendo altri geni in modo mirato, controllando in questo modo la sintesi di nuove proteine. Ogni microRNA colpisce un particolare set di geni bersaglio, e gli effetti di questa regolazione possono amplificarsi notevolmente, perché spesso i geni target sono fattori di trascrizione, molecole che a loro volta controllano l'espressione di altri geni. Complessivamente, questi risultati suggeriscono che il frumento possiede un enorme "serbatoio" di microRNA al momento poco utilizzato, che potrebbe però essere attivato a seconda delle necessità (Mayer et al. 2014).

Altri genomi vegetali il cui sequenziamento è stato già completato o è ancora in corso comprendono il caffè, la *Medicago truncatula*, la fragola, il pesco, l'arancio, nonché specie cosiddette orfane, di minore rilevanza economica rispetto alle grandi colture, ma comunque con utili destinazioni d'uso. Parallelamente si sta procedendo al sequenziamento del genoma di diversi funghi fitopatogeni, la cui analisi apre la possibilità di meglio comprendere quali siano i meccanismi evolutivi che determinano la patogenicità.

Tra le piante da frutto più diffuse, è noto il genoma del melo (*Malus domestica*) varietà Golden Delicious, tra le più diffuse al mondo. I 17 cromosomi ( $2n = 34$ ) contengono 742 milioni di basi e oltre 57.000 geni, tra cui spiccano i fattori di trascrizione (oltre 4.000), e i geni correlabili alle resistenze ai patogeni (circa 1.000), oltre quelli che regolano il portamento colonnare della pianta. Sono inoltre rappresentati in numero estremamente elevato i geni MADS coinvolti nello sviluppo del frutto, e i geni del metabolismo basale del pomo, quali ad esempio quelli legati alla sintesi del sorbitolo o glucitolo, lo zucchero tipico delle *Rosaceae*.

Il genoma della vite (*Vitis vinifera*), varietà Pinot Noir, è

formato da 475 milioni di basi, tre volte più grande di quello di *Arabidopsis* e sei volte più piccolo di quello dell'uomo, e contiene 30.434 geni codificanti per proteine. Una peculiarità di questo genoma è rappresentata dalla presenza di famiglie di geni legati alle caratteristiche organolettiche del vino.

I genomi vegetali cambiano più rapidamente di quanto non facciano i genomi animali, portando così a una maggior variazione tra specie anche strettamente correlate e anche all'interno di una stessa specie. Il motivo di questa estrema plasticità è da ricercarsi nelle diverse condizioni di vita e di strategie di sopravvivenza delle piante rispetto agli animali, che sembrano dunque richiedere per le prime la presenza di genomi più "flessibili".

Un'importante caratteristica delle piante è che vaste porzioni dei loro genomi sembrano essersi duplicate, ossia interi segmenti di cromosomi con tratti di sequenze geniche quasi identiche si ritrovano in molteplici posizioni del genoma. Ciò suggerisce che, a un certo punto dell'evoluzione, questi genomi siano andati incontro a duplicazione (interamente o in parte) e che in seguito le sequenze duplicate (e quindi ovviamente sia geni che regioni regolative) siano andate in parte perdute e in parte si siano diversificate. Ci sono forti evidenze infatti che indicano come la duplicazione del genoma abbia importanti conseguenze morfologiche, ecologiche e fisiologiche, con effetti sui processi fotosintetici della pianta, sul suo sistema riproduttivo, sulla sua interazione con gli erbivori e gli impollinatori, sulla speciazione. Durante l'evoluzione, la formazione di poliploidi ha giocato probabilmente un ruolo di primo piano nella diversificazione delle angiosperme ed è stata molto rilevante anche nella genesi di importanti piante coltivate, quali il frumento, brassicacee e alcune rosacee.

Il sequenziamento del genoma della vite ha suggerito come questa pianta, considerata diploide dalla genetica classica, sia in realtà derivata dalla fusione di tre genomi. Questo arrangiamento ancestrale è condiviso da molte altre dicotiledoni e assente in riso, che è una monocotiledone. La conclusione è, quindi, che questa triplicazione non fosse presente nell'antenato comune alle mono- e dicotiledoni.

Il sequenziamento del genoma del pomodoro coltivato e del suo antenato selvatico, *Solanum pimpinellifolium*, ha evidenziato il fenomeno della poliploidizzazione. Come noto, il pomodoro appartiene alla famiglia delle *Solanaceae*, che comprende sia piante agrarie, quali patata e melanzana, che piante ornamentali e medicinali, quali la petunia, il tabacco, la belladonna e la mandragola. Una peculiarità delle *Solanaceae* è la loro diffusione in ecosistemi molto differenziati. La sequenza del genoma ha fatto nuova luce sulle basi molecolari

di questo adattamento. Si è infatti dimostrato che il genoma di pomodoro si è “triplicato” improvvisamente circa 60 milioni di anni fa, in un momento vicino alla grande estinzione di massa che ha portato alla scomparsa dei dinosauri. Successivamente, la maggior parte dei geni triplicati sono stati persi, mentre alcuni di quelli superstiti si sono specializzati e oggi controllano caratteristiche importanti della pianta, comprese quelle della bacca, come il tempo di maturazione, la consistenza e la pigmentazione rossa.

L'avvento dei marcatori molecolari ha consentito di definire la base genetica dei caratteri qualitativi e quantitativi (QTL), di stabilire le relazioni di sintenia tra i genomi, di verificare i meccanismi genetici che controllano l'eterosi in specie quali il mais. La selezione assistita con marcatori molecolari per caratteri qualitativi è una realtà ormai diffusa anche presso le grandi aziende sementiere private.

Lo sviluppo di una nuova classe di marcatori molecolari (Single Nucleotide Polymorphism - SNP) consentirà di automatizzare ed estendere più di quanto sia stato fatto finora le applicazioni basate sui marcatori molecolari, ad esempio sviluppando approcci di Whole Genome Association Mapping (Tondelli et al. 2013). Studi volti all'analisi dell'espressione genica in condizioni di stress e basati su svariate tecnologie di screening hanno permesso l'isolamento di numerosi stress-related genes, coinvolti nei processi metabolici più complessi del ciclo vitale delle piante (sviluppo e crescita, resi-

stenza al freddo, al caldo, alla siccità, alle malattie, maturazione dei frutti ecc. L'identificazione dei recettori dei segnali ambientali o ormonali, dei messaggeri secondari, dei fattori di trascrizione coinvolti nei processi cellulari complessi, nonché lo studio delle interazioni di questi elementi tra loro e con l'ambiente rappresenta la chiave per comprendere il funzionamento globale della cellula e quindi la base molecolare del fenotipo (Cattivelli 2008).

L'analisi su larga scala del trascrittoma ha infatti evidenziato che centinaia di geni sono attivati o repressi in risposta agli stress. I diversi geni individuati, oltre ad avere un ruolo diretto nella protezione delle cellule dai danni causati da stress osmotico, sono coinvolti nell'attivazione di circuiti di regolazione che controllano l'intero network della risposta. I geni coinvolti sono, quindi, generalmente divisi in due categorie: geni funzionali, che includono geni implicati nella sintesi di molecole e proteine con ruolo protettivo di processi cellulari cruciali (proteine protettive, enzimi detossificanti, osmoliti compatibili ed altri), e geni regolatori, codificanti proteine regolatrici coinvolte nella percezione e trasduzione del segnale di stress (putativi recettori, calmoduline, calcium-binding proteins, fosfolipasi, chinasi e fosfatasi, fattori di trascrizione), che modulano l'espressione dei geni appartenenti alla prima categoria. I fattori di trascrizione sono considerati ottimi targets per rendere una pianta tollerante a stress.

La vita della pianta, oltre gli stress abiotici, viene tormentata da attacchi anche massicci di parassiti vegetali ed animali. Durante la loro crescita le piante sono costantemente attaccate da patogeni che cercano di invaderle. Questi patogeni accedono all'interno dei tessuti vegetali della pianta tramite meccanismi di penetrazione attivi che forzano gli strati esterni e la parete cellulare, attuati da funghi e nematodi, o attraverso aperture naturali (stomi, idatodi, lenticelle) e ferite nel caso dei batteri, o veicolati da insetti e funghi e da operazioni meccaniche che causano ferite. I patogeni possono invadere tutti gli organi della pianta, dal seme in fase di germinazione fino alle radici, ai fusti, alle foglie e ai frutti. Per rispondere alla presenza di patogeni che cercano di invaderle, le piante non possiedono un sistema immunitario adattativo, come quello presente negli animali,

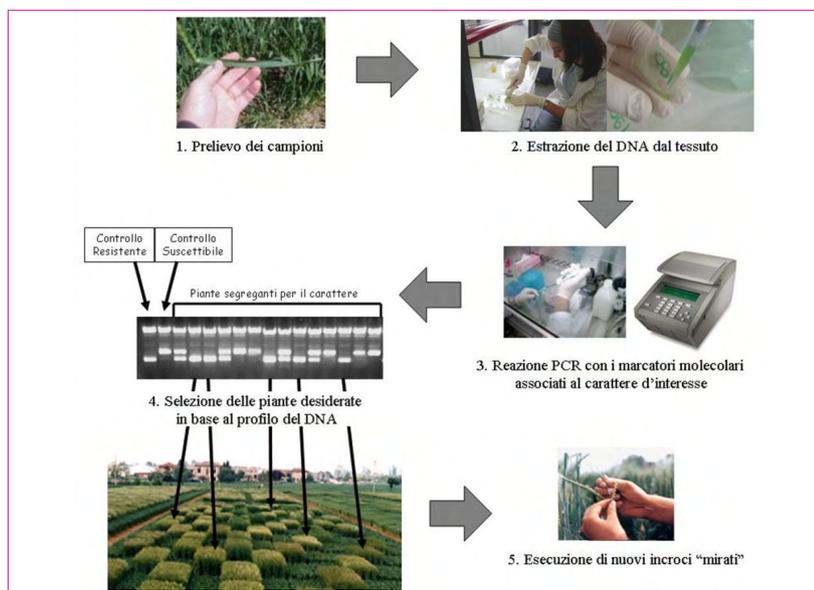


Figura 5  
Flusso di lavoro in un programma di miglioramento genetico in cui la selezione per un carattere di resistenza ad una patologia viene assistita da marcatori molecolari  
Cortesia di E. Francia e V. Terzi

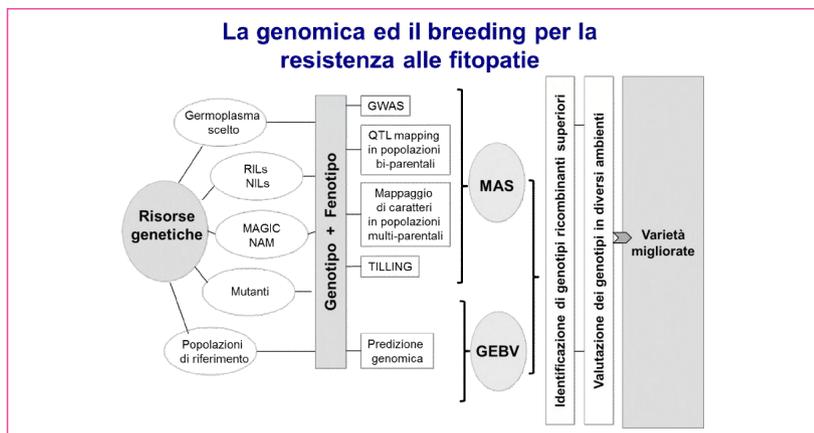


Figura 6  
Partendo dalla variabilità genetica esistente in collezioni di germoplasma, mutanti e popolazioni genetiche, caratteristiche fenotipiche d'interesse possono venire associate a caratteristiche genotipiche per individuare marcatori molecolari che, attraverso MAS e GEBV, possono avere come output finale il rilascio di varietà più produttive e più resistenti agli stress biotici

Cortesia di V. Terzi

ma hanno a disposizione meccanismi di resistenza basati su un sistema immunitario innato che consente di riconoscere e rispondere all'azione di patogeni specifici. La cosiddetta "immunità" delle piante dipende da eventi dotati di autonomia cellulare: una singola cellula che subisce un tentativo di invasione è, cioè, in grado di attuare tutti i processi che portano a una risposta di resistenza. Alla base di questa serie cruciale di eventi è stato individuato un repertorio molecolare di riconoscimento molto esteso, ed è proprio grazie a quest'ultimo che gli organismi vegetali sono in grado di sopperire alla già menzionata mancanza di un sistema immunitario adattativo.

A valle dei fenomeni di riconoscimento le piante infettate possono attivare geni che determinano la sintesi di un'ampia varietà di molecole, tra cui le fitoalessine, piccole molecole ad ampio spettro antimicrobico sintetizzate dalla pianta in tempi brevissimi, e le proteine PR (*pathogenesis related*), a più lenta azione, ma dotate di molteplici funzioni. Queste e altre molecole ancora, rientrano in meccanismi di notevole complessità, quali la risposta ipersensibile e la resistenza sistemica acquisita.

Molti funghi e batteri che infettano le piante producono una grande quantità di enzimi che degradano la parete cellulare come, per esempio, le poligalatturonasi, le pectin metilesterasi, le endoglucanasi e le xilanasi. Le piante, a loro volta, hanno sviluppato una serie di risposte di difesa tra cui gli inibitori proteici di questi enzimi, come le PGIP (*polygalacturonase-inhibiting protein*), le PMEI (*pectin methylesterase inhibitor*), che inibiscono enzimi che degradano la pectina e gli inibi-

tori delle xilanasi che inibiscono enzimi che degradano le emicellulose. Il coinvolgimento di questi inibitori nella risposta di difesa della pianta è stato dimostrato attraverso la produzione di piante transgeniche sovraesprimenti questi inibitori, sottoposte ad infezione con determinati patogeni.

Quanto sin qui descritto indica che è possibile tracciare oggi strategie genético-molecolari per l'identificazione e l'introggressione dei geni di resistenza nel germoplasma coltivato come un valido strumento per costituire nuove varietà resistenti e conseguentemente limitare le perdite produttive imputabili ai patogeni e l'uso di fitofarmaci in agricoltura, con indubbi vantaggi in termini econo-

mici e ambientali (Figura 6).

Tuttavia, l'efficacia della resistenza della pianta è sovente limitata nel tempo perché alcuni ceppi patogeni evolvono la capacità di superarla: si tratta di geni resistenza razza-specifica che agiscono in tempo limitato. Da una parte, si sta percorrendo la strada della rincorsa verso la scoperta di nuovi alleli utili nel germoplasma anche selvatico, e dall'altra dell'introduzione della " *durable resistance*" come fonte di difesa che conferisce resistenza completa verso tutti gli isolati del patogeno o mediante introggressione di geni multipli derivanti da diversi germoplasmi attraverso il "*gene pyramiding*" e la selezione di rari ricombinanti tra geni di resistenza strettamente associati (Stanca et al. 2014).

Uno degli aspetti di particolare considerazione riguarda la genomica per la qualità e sicurezza alimentare. La qualità delle produzioni agroalimentari rappresenta un concetto particolarmente complesso, coinvolgendo le esigenze spesso differenti dei diversi attori delle filiere, quali i produttori, gli stoccatrici, i trasformatori ed infine i consumatori. Innumerevoli sono gli esempi di applicazioni biotecnologiche al miglioramento della qualità in piante agrarie, così come ampie sono le prospettive delle biotecnologie applicate alle richieste mutevoli del settore (AA.VV. 2014).

Tutto ciò però deve essere dimostrato in qualsiasi tappa della filiera e pertanto il processo necessita di disporre di strumenti inequivocabili di tracciabilità. Con il termine tracciabilità molecolare vengono indicate metodiche genomiche, proteomiche e metabolomiche capaci di dare indicazioni su diverse caratteristiche di una produzione agraria o di un prodotto agroalimenta-

re, quali sicurezza e qualità, origine geografica, valore nutrizionale, autenticità. Il fingerprinting molecolare è applicabile a tutti i livelli delle filiere di produzione agroalimentari, partendo dalla caratterizzazione della diversità genetica fino ad arrivare alla tracciabilità delle materie prime nelle fasi di trasformazione, confezionamento e distribuzione degli agro derivati. È perciò oggi possibile utilizzare tecniche di DNA profiling per verificare la presenza in un prodotto finito di specie vegetali potenzialmente allergeniche, ma anche verificare la composizione di una pasta alimentare sia in termini di specie cerealicole presenti, che in termini di varietà. A questo si aggiunge l'importanza di avere a disposizione anche approcci proteomici per la diagnostica di proteine ed enzimi responsabili di caratteristiche desiderabili o, al contrario, indesiderabili.

Alla selezione assistita con marcatori molecolari si affianca la tecnologia della trasformazione genetica. I nuovi indirizzi biotecnologici sono rivolti a produrre piante geneticamente modificate prelevando geni da piante filogeneticamente affini -Piante Cisgeniche- oppure da piante filogeneticamente lontane -Piante Transgeniche- (*Clive James, ISAAA -International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications, www.isaaa.org*). I benefici attesi dall'impiego delle Piante Geneticamente Modificate in agricoltura sono stati ampiamente discussi in pubblicazioni internazionali e nazionali nonché con interventi sul sito di società scientifiche come la Società Italiana di Genetica Agraria ([www.sig.unina.it/gmo\\_01.html](http://www.sig.unina.it/gmo_01.html)) o la Società Americana di Biologia Vegetale (<http://tinyurl.com/pfanvcq>).

Tra i benefici, sono stati segnalati: il minor consumo di pesticidi chimici, l'incremento percentuale di specifici nutrienti, la maggiore produttività e quindi un minor sfruttamento delle risorse naturali, la possibilità di utilizzare le piante come fabbriche naturali di sostanze industriali o farmaceutiche, individuando così nuovi orizzonti per la produzione agricola, la possibilità di cambiare in maniera mirata e più velocemente, rispetto al tradizionale incrocio, pochi caratteri deficitari in una varietà altrimenti buona, la possibilità di eliminare potenziali allergeni nelle colture, la possibilità di monitorare il livello d'inquinamento nel suolo e di ridurlo rimuovendo i composti inquinanti.

La conoscenza dei meccanismi che regolano l'architettura della pianta, molto spesso mediata da un controllo ormonale, sono fondamentali per i nuovi ideotipi di pianta per il futuro. In genere gli studi sono stati rivolti principalmente a fisiologia, metabolismo e genetica della parte aerea delle piante. Oggi tuttavia una maggiore attenzione viene rivolta alle radici, per migliorare l'efficienza d'uso dell'acqua (WUE), dell'azoto (NUE), del fosforo (PUE), alla resistenza al freddo (*cor genes*), alle proprietà fisico-chimiche e biologiche del suolo e al loro impatto sulla resistenza alle malattie, in modo da disegnare un moderno sistema integrato (IPM: Integrated Pest Management) per mettere i nuovi genotipi di pianta nella migliore condizione di crescita.

Sono in atto in "Open Field" i primi esperimenti di simulazione dell'incremento della CO<sub>2</sub> nell'atmosfera, che passerà dalle 400 ppm (parti per milione in volume) attuali a 600 ppm nel 2050 per verificare l'effetto sulla fotosintesi e qualità dei prodotti. Sulla base di tutto ciò è stata disegnata una nuova pianta di frumento tenero capace di raggiungere una potenzialità produttiva di 20 t/ha nel 2020 partendo dalle attuali 14 t/ha. Non trascurabile è anche il tema che vede il sistema produttivo agrario non più basato sul trinomio Pianta-Atmosfera-Suolo ma piuttosto sul quadrinomio Pianta-Atmosfera-Suolo-Microrganismi che vivono intorno o dentro le radici. Questa nuova visione ha stimolato la nascita di network per monitorare l'evoluzione del *metagenoma* al variare dei diversi sistemi colturali e degli ambienti, e come questo possa influenzare la vita delle specie agrarie e selvatiche. Si ipotizza già che la performance di specie di piante e di genotipi entro specie dipenderà anche dagli inoculi microbici, specifici per l'esaltazione di determinati caratteri, che interagiscono con gli elementi fisico-biochimici del suolo e con il microbioma naturale in specifiche condizioni (Schlaeppli and Bulgarelli 2015).

Le nuove sfide della moderna agricoltura per alimentare il mondo si baseranno sempre più sulla scienza e l'innovazione tecnologica, in particolare quella derivata dalle discipline "omiche", e sulla velocità con cui queste nuove tecniche raggiungeranno l'azienda agraria.

A. Michele Stanca  
UNASA-UNIMORE

## Bibliografia

1. AA.VV. 2014. La seconda rivoluzione verde. *Le Scienze*. pp 143
2. Barcaccia G., Lorenzetti S., Falcinelli M. 2006 Sull'eterosi nelle piante: dall'ipotesi genetica di Jones all'era genomica -UNIPG- 1-89
3. Cattivelli L.; Rizza F.; Badeck, F.; Mazzucotelli E.; Mastrangelo A.M.; Francia E.; Marè C.; Tondelli A.; Stanca A.M. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Res.* 105: 1-2 1-14
4. Cavalli Storza L. e F. 2005. *Perché la scienza. L'avventura di un ricercatore*. Oscar Saggi Mondadori, pp 393.
5. Colaiacovo M. 2014. Il genoma del grano. *Le Scienze* 554: 44-47
6. Garcia Olmedo F. 2000. *La terza rivoluzione verde*. Il Sole 24 Ore. Pp 178
7. Mayer KFX, J. Rogers, J. Doležel, C. Pozniak, K. Eversole, C. Feuillet, B. Gill, M. Colaiacovo, P. Faccioli, A.M. Stanca. L. Cattivelli, et al. 2014. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345 (6194), 1251788, 2014
8. Morcia C., Rattotti E., Stanca A.M., Tumino G., Rossi V., Ravaglia S., Germeier C., Herrmann M., Polisenka I., Terzi V. 2013. Fusarium genetic traceability: Role for mycotoxin control in small grain cereals agro-food chains. *Journal of Cereal Science*, 57: 175-182
9. Schlaeppi K., D. Bulgarelli. 2015. *The Plant Microbiome at work*. MPMI (in press)
10. Sreenivasulu N., T. Schnurbusch. 2012. A genetic playground for enhancing grain number in cereals. *Trends in Plant Science* 17(2): 91-100
11. Stanca A.M., A. Marocco, N. Pecchioni, G. Valè, M. Odoardi, P. Faccioli, L. Cattivelli, V. Terzi. -2014- Genetica Vegetale, in *GENETICA*, ed S. Pimpinelli. Casa Editrice Ambrosiana Milano p 155-221
12. Stanca A.M., A. Gianinetti, F. Rizza, V. Terzi (in Press) Barley: An Overview of a Versatile Cereal Grain with Many Food and Feed Uses. *Encyclopedia of Food Grains* – Elsevier. DOI10.1016/B978-0-12-394437-5.00021-8
13. Terzi V., G. Tumino. *Genomica a supporto della difesa* (submitted)
14. Tondelli A. et al. 2013. Structural and temporal variation in genetic diversity of European Spring two-row barley cultivars and association mapping of quantitative traits. *The Plant Genome* 6: 1-14
15. Vitulo Nicola; Hana Simková; Giorgio Valle; Alessandro Albiero; Paolo Bagnaresi; Davide Campagna; Luigi Cattivelli; Moreno Colaiacovo; Francesca Dal Pero; Jaroslav Doležel; Primetta Faccioli; Paolo Facella; Claudio Forcato; Giulio Gianese; Giovanni Giuliano; Marie Kubaláková; Antonella Lamontanara; Loredana Lopez; Gaetano Perrotta; Marco Pietrella; Antonio Michele Stanca. 2011. First survey of the wheat chromosome 5A composition through a next generation sequencing approach. *PLoS one* 6(10):e26421
16. Westengen O.T. et al. 2013. Global ex-situ crop diversity conservation and the Svalbard Global Seed Vault: assessing the current status. *PLoS one* 8(5): e64148
17. Wolters P.J. et al. 2013. Evidence for regulation of columnar habit in apple by a putative 2OG-Fe(II) oxygenase. *New Phytol.* 200: 993-999



## Biotechnologie: uno strumento per l'innovazione sostenibile in agricoltura

R. Nocera

*Stimare 9,6 miliardi di persone che, secondo le proiezioni ONU, popoleranno il pianeta al 2050. È questa la sfida che l'agricoltura è chiamata ad affrontare e che sarà uno dei temi portanti di EXPO 2015. La risposta al fabbisogno alimentare di una popolazione in crescita, in particolare nei Paesi in via di sviluppo, non sarà sicuramente univoca, ma la strada sembra segnata: è quella di una "intensificazione sostenibile" dell'agricoltura, supportata da innovazione e ricerca, in grado di migliorare le rese agricole senza aggravare il bilancio di input necessari per la produzione (energia, terra, acqua).*

### Come soddisfare il crescente fabbisogno

Circa 805 milioni di persone ancora oggi soffrono la fame. È questa la fotografia tracciata dall'ONU nel report *The State of Food Insecurity in the World (SOFI 2014)*, che fa il punto

sui progressi nelle politiche di riduzione della povertà e della fame nel mondo. Sono soprattutto le regioni più povere di Asia, Africa e America latina che si confrontano ogni giorno con il problema della carenza di risorse alimentari. Desertificazione, mancanza di acqua, pratiche agricole inadeguate, fenomeni estremi quali inondazioni e siccità, attacchi di patogeni di varia natura e, soprattutto, la crescente urbanizzazione delle popolazioni rurali, pregiudicano, anno dopo anno, la sicurezza alimentare in molti Paesi in via di sviluppo.

Ma è soprattutto il domani, con l'inarrestabile incremento della popolazione mondiale, a destare preoccupazioni. La risposta non potrà venire dall'aumento di superfici agricole, ottenute a detrimento delle aree forestali e boschive già sottoposte a gravi stress, ma dovrà essere ricercata nel miglioramento

delle pratiche agricole in direzione di una maggiore efficienza nell'uso dei fattori produttivi.

L'attenzione è quindi concentrata sull'innovazione in agricoltura. FAO e Banca Mondiale, i due principali attori su questo fronte, sottolineano la necessità di investire in nuovi processi, prodotti e tecnologie per garantire la sicurezza alimentare e lo sviluppo dei Paesi emergenti nel lungo periodo, e richiamano l'attenzione sul ruolo delle biotechnologie.

Secondo la FAO le innovazioni biotechnologiche nel settore agricolo possono contribuire in modo significativo all'aumento della produzione alimentare, ad affrontare le incertezze del cambiamento climatico e a preservare la biodiversità.

### Oltre gli OGM

Le biotechnologie comprendono una vasta gamma di tecnologie, tra con-

venzionali e innovative, applicate in agricoltura, allevamento, silvicoltura, acquacoltura e agroindustria per scopi diversi. Si va dal miglioramento genetico di piante e animali per aumentare i loro rendimenti, alla caratterizzazione e conservazione delle risorse genetiche per l'alimentazione e l'agricoltura; dalla diagnosi di malattie e identificazione di patogeni in piante e animali, allo sviluppo di vaccini e alla produzione di alimenti fermentati.

Cosa siano le biotecnologie è definito già nella "Convenzione sulla Biodiversità" (*Convention on Biological Diversity - CBD*) adottata nel 1992 nel corso del Summit della Terra di Rio, in cui per biotecnologia si intende: "Ogni applicazione tecnologica che utilizzi sistemi biologici, organismi viventi o da essi derivati, per creare o modificare prodotti o processi per impieghi specifici".

Interpretata in senso lato, la definizione di biotecnologia comprende molti degli abituali strumenti e tecniche utilizzati in agricoltura e nella produzione alimentare. Interpretata in un senso ristretto, che contempla soltanto le metodiche basate sul DNA, la biologia molecolare e le applicazioni di tecnologia riproduttiva, comprendendo una gamma di tecnologie quali la manipolazione genetica e il trasferimento di geni, la tipizzazione del DNA e la clonazione di piante ed animali.

Alcune metodiche *biotech* sono note e praticate da decenni (ad esempio l'inseminazione artificiale dei bovini); le *biotech* moderne si basano invece sull'utilizzo di marcatori genetici, analisi del DNA ed altre sofisticate metodiche, oggi sempre più disponibili grazie all'aumentata potenza di calcolo che permette di sequenziare il genoma di specie vegetali e animali.

Le biotecnologie agricole non-OGM sono guardate con interesse

soprattutto per le prospettive che aprono alla selezione di specie resistenti ai patogeni o agli stress ambientali, o in grado di utilizzare meno risorse e aumentare le rese anche in condizioni ambientali marginali.

Molti dei progressi registrati in questi anni sono dovuti all'introduzione di biotecnologie in agricoltura. Nuove varietà di riso e altri cereali alla base dell'alimentazione di miliardi di persone, selezionate sulla base delle tecnologie genetiche, hanno consentito di aumentare la produttività delle coltivazioni in Asia e Africa. In India, un ibrido miglio (HHB 67) ottenuto con metodi di selezione attraverso marcatori genetici, caratterizzato da alti rendimenti e resistenza agli attacchi fungini, si stima abbia contribuito al fabbisogno alimentare di circa 2 milioni di persone. Una varietà di riso (Swarna-Sub1) più resistente alla prolungata permanenza in acqua, sviluppata in India in collaborazione con istituti di ricerca locali, è ora utilizzata da 3 milioni di piccoli coltivatori che possono coltivare il riso anche nelle zone dove il monzone causa inondazioni che pregiudicano i raccolti.

A sollecitare un nuovo approccio alla ricerca in campo agricolo, nel quadro di una protezione e promozione della biodiversità agricola, è la FAO. Per l'Agenzia delle Nazioni Unite, se opportunamente integrate con altre tecnologie, prodotti e servizi agricoli, le biotecnologie possono contribuire a soddisfare le esigenze di una popolazione in espansione e sempre più urbanizzata e contribuire alla sicurezza alimentare. In particolare possono supportare l'"intensificazione sostenibile" dell'agricoltura nei Paesi in via di sviluppo, a condizione che le biotecnologie vengano orientate in funzione dei bisogni dei piccoli produttori e allevatori e

che, soprattutto, nascono da una ricerca pubblico-privata vicina alle esigenze locali.

### Biotecnologie e rischi per la sicurezza

La FAO ha espresso una posizione di interesse per le tecnologie non-OGM già nel 2000 con la "Dichiarazione sulle biotecnologie" in cui riconosce le potenzialità dell'ingegneria genetica per favorire l'incremento di produzione e produttività nel settore agricolo, forestale e ittico, valutando gli aspetti positivi quali la possibilità di incrementare le rese in terreni marginali, la selezione di specie più vigorose e resistenti così come il contributo alla conservazione della biodiversità.

Allo stesso tempo, sulla base del principio di precauzione, nella suddetta Dichiarazione viene ribadita la necessità di una continua attenzione e valutazione dei rischi potenziali insiti in alcuni aspetti delle biotecnologie, sia per la salute umana che per le conseguenze ambientali, ad esempio la possibilità di ibridazione di varietà *biotech* con altre piante, che potrebbe condurre allo sviluppo di piante infestanti più aggressive; o anche ai rischi per la biodiversità dovuti allo spostamento dalla grande varietà di coltivazioni tradizionali ad un piccolo numero di varietà geneticamente modificate.

In tema di biosicurezza nel 2000 è stato adottato il "Protocollo di Cartagena sulla Biosicurezza", un protocollo aggiuntivo della Convenzione sulla Biodiversità sottoscritto da 163 Paesi più l'Unione Europea. Si tratta di un accordo internazionale che mira a garantire che la manipolazione, il trasporto e l'utilizzo di organismi viventi modificati ottenuti con la moderna biotecnologia avvenga in condizioni di sicurezza sia per la salute umana che rispetto agli impatti sulla biodiversità.

Il Protocollo si rifà direttamente all'Articolo 19 della Convenzione sulla Diversità Biologica e al Principio di precauzione così come definito all'Articolo 15 della Dichiarazione di Rio sull'ambiente e lo sviluppo. Nel testo si riconosce la necessità di indagare a fondo i potenziali rischi associati agli organismi geneticamente modificati, ottenuti tramite le moderne biotecnologie, al fine di garantire un elevato livello di protezione con particolare riferimento alla diversità biologica, e si assegna alle Parti della Convenzione il compito di assumere le necessarie misure normative, amministrative e politiche per prevenire eventuali rischi. Le Parti si impegnano inoltre a sviluppare protocolli e procedure per il trasporto, la gestione e l'uso in sicurezza di qualsiasi organismo geneticamente modificato che possa avere effetti negativi sulla conservazione e sull'uso sostenibile della biodiversità.

Il Protocollo si pone come strumento giuridico internazionale che contribuisce a regolamentare il trasporto internazionale di OGM. Il Protocollo non pone quindi limitazione alla sperimentazione, alla produzione o alla coltivazione di organismi geneticamente modificati, ma obbliga i Paesi che volessero esportarne ad ottemperare ad alcune procedure.

### Al servizio della biodiversità

Le *biotech* non sono soltanto una minaccia potenziale alla biodi-

versità. Possono essere un alleato prezioso. Va in questa direzione la pubblicazione di standard di riferimento per garantire la conservazione delle colture chiave per la sicurezza alimentare e la conservazione della biodiversità, sia in banche genetiche che in campo.

Rilasciata nel gennaio 2014, la pubblicazione della FAO *Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*, delinea standard volontari per le banche genetiche (oltre 1.750 in tutto il mondo) che immagazzinano semi o altri materiali genetici utilizzati per la riproduzione delle varietà culturali. Le risorse genetiche vegetali sono una risorsa strategica per una produzione agricola sostenibile e la loro conservazione e l'uso efficiente è fondamentale per salvaguardare la sicurezza alimentare e nutrizionale, ora e nel futuro. La perdita di diversità genetica, difatti, riduce le opzioni per la gestione sostenibile dell'agricoltura e pregiudica la resilienza agli effetti del cambiamento climatico.

Per questa ragione gli standard sono stati progettati per guidare gli utenti nella realizzazione delle tecnologie e le procedure più idonee per la raccolta, la conservazione e la documentazione della diversità delle colture, in banca e in campo. Sono infatti più di 7 milioni i campioni di semi, tessuti e altri materiali di riproduzione di colture alimentari, insieme ai

loro parenti selvatici, conservati nelle banche genetiche ed ai quali è affidata non solo la conservazione della biodiversità, ma anche la possibilità di sviluppare e selezionare coltivazioni e varietà in grado di accompagnare le esigenze alimentari dei 9,6 miliardi di persone che popoleranno il pianeta al 2050.

La protezione di questa risorsa fondamentale per l'agricoltura è affidata al *Trattato internazionale sulle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura* (ITPGRFA) adottato nel 2001 dalla trentunesima riunione della Conferenza della FAO. Il Trattato facilita lo scambio di sementi e di altri elementi costitutivi della diversità genetica delle colture alimentari del mondo, stimolando la ricerca che è essenziale per lo sviluppo di una agricoltura in grado di adattarsi al cambiamento climatico. Il Trattato facilita lo scambio e la conservazione delle risorse genetiche delle piante coltivate tra i Paesi membri, così come l'equa ripartizione dei benefici derivanti dal loro utilizzo. Di fatto ha dato vita ad un pool genetico globale per la sicurezza alimentare, sotto il controllo diretto di tutte le Parti contraenti, con 1,6 milioni di campioni di materiale genetico che facilitano la ricerca di colture importanti, tra cui il mais, il riso, il grano e la manioca.

Rachele Nocera

ENEA, Unità Centrale Relazioni,  
Servizio Relazioni Internazionali

## Biotechologie agricole: gli attori della governance

**FAO:** l'Organizzazione delle Nazioni Unite che fornisce supporto e assistenza tecnica ai Paesi in via di sviluppo. In materia di biotechologie fornisce ai governi dei Paesi membri: consulenza legale e tecnica in settori quali lo sviluppo di strategie nazionali di biotecnologia e biosicurezza; assistenza tecnica con propri programmi o mediante partnership con centri e istituzioni di ricerca quali il CGIAR; informazione. La FAO rappresenta inoltre una piattaforma neutrale per l'informazione scientifica in materia. Dal 2000 è attivo il *Forum on Biotechnologies* che organizza una serie di conferenze via e-mail su temi specifici legati alle biotechologie agricole nei Paesi in via di sviluppo.

**FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture:** forum intergovernativo permanente deputato, tra l'altro, alla elaborazione di un codice di condotta sulle biotechologie finalizzato a massimizzarne i vantaggi attesi e minimizzare i rischi correlati. Il codice dovrà basarsi su evidenze scientifiche e dovrà considerare le implicazioni ambientali, socio-economiche ed etiche delle biotechologie.

**Codex Alimentarius Commission:** Organismo intergovernativo istituito congiuntamente da OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) e FAO nel 1963. La Commissione emana standard, linee guida e pratiche di condotta indirizzate a facilitare gli scambi internazionali degli alimenti e preservare la corretta produzione e conservazione dei cibi. Al suo interno operano numerosi Comitati e Commissioni settoriali.

**Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnologies:** task force istituita in seno alla Codex Alimentarius Commission, in cui gli esperti designati dai governi sono chiamati a sviluppare norme, direttive o raccomandazioni per gli alimenti derivati da biotechologie o rispetto alle caratteristiche introdotte negli alimenti con metodi biotecnologici. La Commissione sta anche valutando l'etichettatura dei prodotti alimentari derivati da biotechologie in modo da permettere al consumatore una scelta informata.

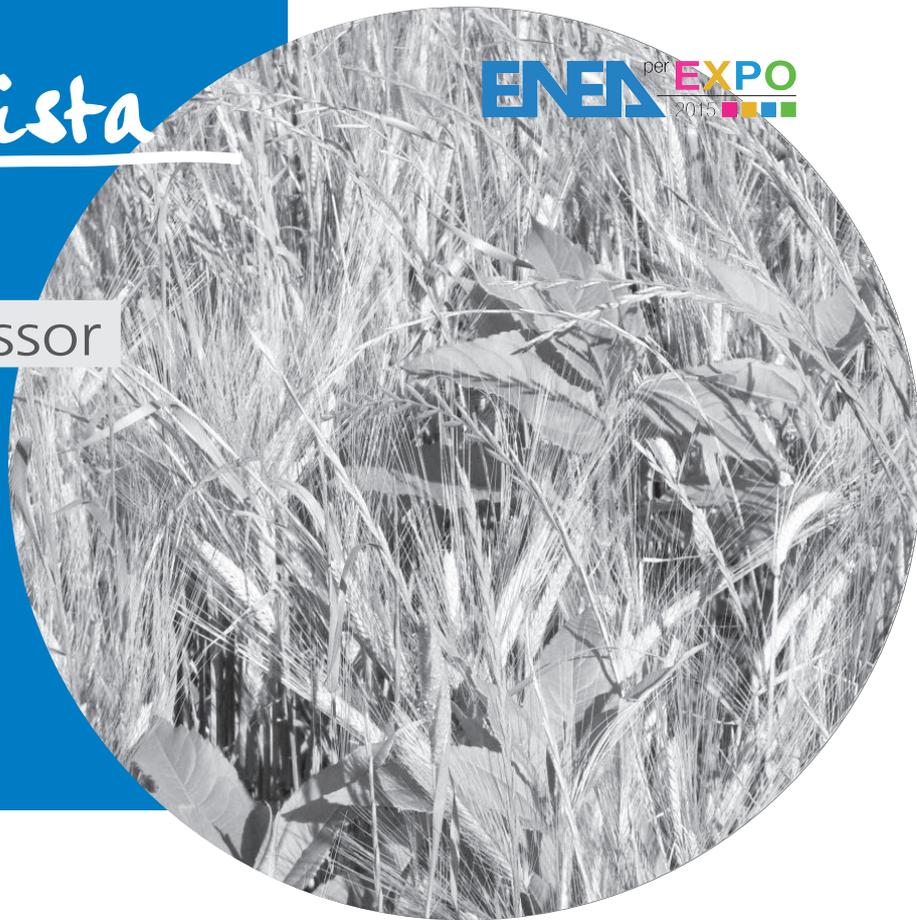
**CGIAR:** noto in precedenza come *Consultative Group on International Agricultural Research*, è una partnership globale che riunisce le organizzazioni impegnate nella ricerca finalizzata alla sicurezza alimentare e alla gestione sostenibile delle risorse naturali. È un consorzio di 15 istituzioni di Ricerca che opera in stretta collaborazione con centinaia di partner, tra cui organizzazioni multilaterali, istituti nazionali e regionali di ricerca, organizzazioni della società civile, mondo accademico, settore privato.

**International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB):** è un'organizzazione di ricerca internazionale, senza scopo di lucro. Nata come progetto speciale di UNIDO (United Nations Industrial Development Organization), oggi conta più di 60 Stati membri. L'ICGEB svolge attività di ricerca innovativa nelle scienze della vita a beneficio dei Paesi in via di sviluppo e rappresenta un approccio globale alla promozione della biotecnologia a livello internazionale.

**Convenzione internazionale per la protezione delle piante (IPPC):** è un trattato internazionale volto a prevenire la diffusione e l'introduzione di organismi nocivi a vegetali e piante, e a promuovere misure appropriate per il loro controllo. Gli organismi viventi modificati (OVM) che possono presentare rischi fitosanitari rientrano nel campo di applicazione della direttiva IPPC. La Segreteria IPPC che coordina le attività della Convenzione è ospitata presso la sede della FAO.

## Intervista al Professor Amedeo Alpi

A cura di Maura Liberatori



È opinione comunemente accettata che dovremo aumentare la produzione agroalimentare salvaguardando l'ambiente e le risorse naturali. A parità di terreni disponibili, vuol dire aumentare i rendimenti, stabilizzare le produzioni in condizioni climatiche mutevoli, migliorare le tecniche agronomiche per aumentarne la sostenibilità. Ne parliamo con il Professor Amedeo Alpi\*

**Nutrire la popolazione, diminuire le disparità di accesso al cibo, usare meno risorse, l'obiettivo non è banale. Professore come la scienza e la ricerca possono aiutarci?**

Nutrire una popolazione crescente, rispettando l'ambiente ed utilizzando globalmente meno risorse, può apparire come la quadratura del cerchio, ma la condizione del pianeta ci impone di lavorare per questo difficile obiettivo. Vorrei aggiungere che certe posizioni, assolutamente maggioritarie in Italia, ma molto influenti anche in gran parte dell'Unione Europea, non aiutano. Alludo alle posizioni di chi, in sostanza, sostiene che l'Italia, incapace di competere, per ragioni strutturali, sul piano delle grandi produzioni, debba pertanto orientarsi verso le produzioni di alta qualità, rappresentate spesso da prodotti di nicchia, non certo dalle "commodities". Come questo sia compatibile con una agricoltura che occupa

una ampia fetta, nonostante la forte contrazione degli ultimi decenni, del nostro territorio nazionale (circa 13 milioni di ettari), lascio decidere al lettore. Nonostante queste problematiche, gli strumenti tecnico-scientifici sono a nostra disposizione per incrementare le produzioni in maniera, come si usa dire, sostenibile. Un esempio molto attuale viene dall'ultima campagna olearia. Come ben sappiamo, molte aree italiane hanno perso, pressoché totalmente, la produzione di olive in quanto il decorso stagionale ha talmente favorito lo sviluppo di un insetto parassita, la cosiddetta mosca delle olive, da sconsigliare di portare il prodotto ai frantoi, dove sarebbe stato ottenuto un prodotto pessimo. Ma chi ha seguito le buone pratiche di controllo del parassita in modo adeguato è riuscito a salvare gran parte della produzione che è risultata di qualità più che accettabile. Ciò dimostra che le tecniche per difendersi ci sono già; occorre saperle usare. Altre volte è invece utile fare affidamento su nuove tecnologie, ma anche qui il "diavolo" ci ha messo lo zampino. Alcuni dei nostri problemi potrebbero essere risolti con la tecnologia, comunemente chiamata transgenica; purtroppo per le piante GM (geneticamente modificate) esiste una opposizione fortissima da parte dei nostri governanti, unitamente ad una posizione, a dir poco ultra prudente, dell'Unione Europea.

Credo che sia ancora molto valida l'affermazione del presidente Obama, fatta durante il suo primo mandato come presidente USA, circa il ruolo della Scienza: "la Scienza sarà essenziale per la nostra prosperità, la nostra sicurezza, la nostra salute, il nostro ambiente e la nostra qualità della vita, ancor più di quanto sia mai stata prima". Conseguentemente gli USA, ma anche altri Paesi, hanno incrementato le risorse da investire in ricerca e sviluppo, mentre noi, come ben sappiamo e come più volte è stato sottolineato, abbiamo ancora una organizzazione della ricerca, nel settore agro-alimentare, frammentata e segnata da pesanti ritardi strutturali.

### **Può essere utile fare qualche esempio sul contributo che la ricerca ha già offerto in questo settore.**

Mi è difficile riportare specifici esempi di come la scienza e la ricerca ci hanno aiutato, perché le citazioni dovrebbero essere moltissime. Posso comunque citare gli enormi avanzamenti che sono stati fatti circa la sempre maggiore comprensione degli adattamenti delle piante agli stress, biotici ed abiotici; colgo l'occasione per ricordare che l'ambiente cosiddetto ottimale per le piante coltivate è una astrazione e quindi la condizione "normale" per la pianta è di essere sotto stress. L'argomento è stato affrontato, come giusto, su più piani, da quello fisiologico-biochimico a quello genetico, con risultati eccellenti. Una organizzazione perfetta della ricerca avrebbe dovuto consentire il trasferimento di tali dati sulle piante coltivate ottenendo nuove cultivar resistenti, ma questa fase, che viene per ultima ma che è fondamentale, non si è realizzata se non assai raramente. È un ulteriore esempio di disfunzione, di come si sprechino i talenti nel nostro Paese.

### **Quali sono gli approcci della ricerca per le produzioni governate da mercati internazionali (commodities), rispetto alle produzioni che hanno come riferimento i mercati locali?**

Premetto che, a mio parere, manca in Italia una visione organica per una politica agricola nazionale. Da questo punto di vista la frammentazione delle politiche agrarie in 20 politiche regionali non ha aiutato; ma questo discorso ci porterebbe ad altro tipo di considerazioni. Possiamo comunque dire che in Italia si stanno facendo sforzi continui per contenere il più possibile le *commodities* e dare tutta la preferenza ai mercati locali. Per cui se la domanda intende chiedere che tipo di ricerca si faccia ormai in Italia, la risposta è ovvia: si fa quella orientata ai mercati locali, perché è quest'ul-

tima che è prevista dai canali di finanziamento europei, nazionali e regionali. Ci sarebbe bisogno di una partecipazione dell'Italia alle ricerche per le produzioni governate da mercati internazionali? Certamente sì; ma le politiche della ricerca non lo prevedono ed è un triste errore. Stiamo diminuendo da anni le nostre produzioni di frumento, sia tenero che duro; non stiamo sviluppando il mais, pur avendo nella Pianura padana un biotopo tra i più produttivi al mondo; abbiamo perso, di fatto, la coltivazione della barbabietola da zucchero; ecc. È chiaro che per le *commodities* ci sono approcci di ricerca di miglioramento genetico (tutte le metodologie incluse, anche quelle transgeniche), di miglioramento dei rapporti costi/produzione, di potenziamento dei canali distributivi, solo per citarne alcuni. Nel caso delle produzioni che si riferiscono ai mercati locali si seguono invece metodologie più soft. Si è dimenticato l'aspetto quantitativo a favore della cosiddetta qualità in quanto utilissima per il benessere del consumatore. È tale l'insistenza di questo tam-tam che talora ho l'impressione che i ricercatori siano così coinvolti nell'ossessionata individuazione di parametri qualitativi, da prenderne per buoni alcuni che forse rappresentano solo una pura invenzione. La qualità di un prodotto alimentare è cosa seria, ma difficile da definire e quindi da ricercare. Ottimo lavoro si può fare e si deve fare; ma è bene tenere in mente che un prodotto finale, che sia effettivamente passato attraverso un processo di miglioramento qualitativo, dovrebbe essere venduto ad un prezzo superiore. Al momento il mercato non risponde; al di là di tutta la propaganda che si può fare. Allora: non sarebbe giusto, anche per i prodotti da mercato locale, fare della ricerca finalizzata al miglioramento genetico degli aspetti quantitativi, al miglioramento della tecnica colturale, ai metodi di conservazione ecc.?

A prescindere dalle idee di ciascuno di noi, è comunque incontrovertibile che l'azione combinata di alcuni gruppi ben organizzati da una parte e della comunicazione dall'altra, abbia fornito una immagine dell'agricoltura spesso folcloristica, identificata con la gastronomia, con l'assaggio dei prodotti di nicchia, e con un gran roteare di calici. È un'immagine che piace al consumatore distratto; non rispetta assolutamente le necessità del nostro Paese per una agricoltura che deve rispondere a bisogni ben più ampi di una popolazione che cresce nei suoi bisogni quantitativi e qualitativi.

**La ricerca ha bisogno di risorse e di strutture non sempre disponibili nei Paesi che maggiormente beneficerebbero, quelli più poveri, più popolosi, più vulnerabili dal punto di vista ambientale.**

**Come vede il mercato delle biotecnologie rispetto a questi Paesi? Ritiene che possa allargarsi la forbice del divario ed aumentare il rischio di espellere dal mercato le realtà più marginali?**

Domanda importante ma anche molto complessa. Comporta una conoscenza notevole di realtà internazionali assai diversificate. Cominciamo dall'Oriente. Prescindendo dal Giappone, che rappresenta un caso molto particolare per le agrobiotecnologie, non è un mistero che i due subcontinenti orientali (Cina ed India) si siano aperti -ormai da diversi anni- alle novità tecnologiche, diventando spesso forze trainanti in molti ambiti, per esempio quello informatico. Ma anche in campo biotecnologico si stanno facendo grandi progressi e, di fatto, il mercato biotecnologico si va espandendo non solo in Cina ed India, ma anche a Taiwan, nelle Filippine, Singapore, Corea del Sud ecc. Queste realtà hanno indubbiamente una influenza in tutto il Sud-Est asiatico, complessivamente ancora povero, mediante una crescente diffusione di prodotti biotecnologici.

Una situazione particolare è rappresentata dall'America latina. In questo continente vi sono ancora grandi aree di povertà, ma le biotecnologie non hanno avuto problemi a diffondersi, non solo in Brasile ed Argentina, che sono tra i principali paesi al mondo per la coltivazione di piante GM, ma diversi altri paesi sud-americani si sono allineati ed altri lo faranno prossimamente.

La situazione è assai più precaria nel continente africano. Qui il rischio accennato nella domanda è reale e, francamente, non vedo alternative ad uno sforzo internazionale che sappia rapportarsi in modo adeguato con i diversi Paesi africani. La loro crescita demografica, la povertà -molto diffusa e che talora raggiunge livelli impressionanti-, le condizioni ambientali -suolo, disponibilità idrica, situazione climatica ecc., la situazione sociale esplosiva, sono tutti fattori che chiedono una seria programmazione di interventi. Se questo non sarà fatto, il rischio non è quello di espellere le realtà più marginali dal mercato, perché ciò è già avvenuto; il rischio vero è l'impossibilità di dare un minimo di organizzazione ad una produzione agraria locale, la quale, comunque, non potrà prescindere dalle moderne tecnologie.

Insomma, abbiamo assistito ad una rivoluzione "biotecnologica" e l'evoluzione delle tecniche è continua, molto efficace e procede a velocità crescente. Possiamo raggiungere grandi obiettivi solo se si mettono insieme le energie dei vari Paesi. D'altra parte sarebbe già una grande vittoria se si potessero arginare le paure irrazionali e i pregiudizi, creati in larghi settori del

pubblico, in merito alle piante geneticamente modificate. La popolazione del mondo cresce e, di pari passo, cresce la domanda alimentare mentre la superficie destinata alle coltivazioni si sta restringendo. Le piante GM rappresentano un ottimo strumento che è nelle nostre mani per far fronte ad una possibili crisi alimentare, ma l'Europa ed alcuni Paesi in via di sviluppo si ostinano in un sostanziale divieto alla loro coltivazione; persino il "Golden rice" che può salvare moltissime persone, in zone asiatiche, dalla precoce cecità, trova opposizione. Se almeno riuscissimo a convincere che questi sono pregiudizi assurdi!

**Alcuni bacini di produzione agricola mondiale (Nord America, Russia) sono stati colpiti recentemente da fenomeni di siccità che hanno compromesso la quantità immessa sul mercato con ripercussioni soprattutto nei Paesi più poveri. Lei prevede uno spostamento nel medio termine dei luoghi di produzione in altre aree? Ovvero, potrebbe accentuarsi il rischio geopolitico legato alla produzione agricola?**

La situazione descritta, che è drammatica, risponde a verità. Aggiungiamo pure che la popolazione mondiale sta aumentando in tutto il mondo con l'eccezione della sola Europa e che il raggiungimento dei 9 miliardi nel 2050 circa, come tetto massimo, dal quale avremmo poi cominciato una graduale diminuzione, è già considerato irreali dalle proiezioni di tutti gli istituti specializzati in demografia. Le problematiche ambientali ricordate nella domanda non fanno altro che aggiungere difficoltà a questo problema di dimensione planetaria. Lo spostamento dei luoghi di produzione in altre aree del mondo si sta già attuando. Siamo a conoscenza del "land grabbing", cioè dell'acquisizione, da parte di gruppi internazionali (ma anche di singoli privati e di governi), di terreni nei cosiddetti Paesi in via di sviluppo. Non sarà facile attuare progetti validi di coltivazione di queste terre, ma certamente questo aspetto contribuisce a quello spostamento dei luoghi di produzione che è in atto e che aumenterà a causa di una molteplicità di concause che sarebbe troppo lungo elencare. Se comunque consideriamo la siccità come causa prima della riduzione della quantità di alcune produzioni, dobbiamo anche ammettere che a livello mondiale la fondamentale risorsa, l'acqua, disponibile in buona qualità per l'agricoltura, non è affatto illimitata. Anzi la quantità globale disponibile sta diminuendo ed è il caso forse di ricordare al grande pubblico che l'uso maggiore dell'acqua che facciamo sul pianeta non è per i nostri bisogni domestici o industriali, ma soprattutto per l'agricoltura. Ben oltre il 50% dell'acqua consumata è de-

stinata alle coltivazioni e la sua qualità (almeno per la componente chimica) non è poi così diversa da quella che deve rispettare l'acqua che usiamo per dissetarci! Pertanto il rischio geopolitico esiste, eccome!

Il "crinale apocalittico", così fu chiamato da alcuni molti anni fa, per indicare la divisione tra popoli benestanti e moltitudini affamate e disperate, non è stato abbattuto. È un fatto che molti di questi popoli non riescono a prefigurarsi un futuro nelle loro terre e vengono da noi con le modalità che sappiamo. Ogni giorno veniamo a conoscenza -l'Italia in particolare, a causa della sua posizione geografica- di arrivi di disperati. È chiaramente un problema complesso che non può essere risolto solo dall'incremento quanti-qualitativo delle produzioni alimentari, ma questo può e deve essere un obiettivo morale e politico da perseguire. Le tecnologie capaci di aiutare in questo senso ci sono, anche per quegli ambienti territorialmente e climaticamente sfortunati.

**L'Italia ha assunto con EXPO 2015 la responsabilità di rappresentare un modello possibile alla soluzione di questi problemi. Nel dibattito diretto alla pubblica opinione si parla di eccellenza italiana, di specificità locale, di qualità artigianale, le cose che sono nel DNA degli italiani. Tutto ciò può rappresentare un modello? Per quanta parte del mondo? Come salvaguardare questo patrimonio?**

Se rispondessi di getto sarei molto polemico, ma non sarebbe opportuno visto l'importanza dei problemi che stiamo affrontando. L'eccellenza italiana, anche se troppo sbandierata, e talora completamente fuori luogo, ha però una sua base di verità; anche la qualità artigianale è una prerogativa nazionale che va protetta, ma ciò che non sono riuscito a capire in questi anni è perché ci siamo divisi in due fazioni: quelli che ritengono di essere a favore delle "buone" cose italiane e quelli che invece sarebbero contrari e quindi a favore della omologazione delle produzioni. Questa divisione è assurda. Non vedo perché io, che sono assolutamente a favore di una seria politica dell'agricoltura, che rafforzi la produzione anche delle cosiddette commodities e non solo delle piccole produzioni di nicchia, debba passare per un contrario alle nostre, cosiddette, produzioni di eccellenza. Ma chi ha fatto questa sciagurata divisione priva di ogni razionalità? Viene da pensare che certi interessi possano essere protetti solo da bugie, anziché da seri argomenti! Comunque per me è ovvio che le cose migliori che sa fare l'Italia in campo agroalimentare (il famoso patrimonio da salvaguardare e che comprende materie prime ma anche molti prodotti trasformati) non si difendono con le pa-

role, ma con serie misure di politica agricola che conservi alla, ancora meravigliosa, campagna italiana la possibilità di coltivarla seriamente senza trasformarla in quella Disneyland che sta diventando, con grande esposizione di bancarelle che esibiscono marmellate, salamini, liquori, dolcetti, leccornie varie che non ci daranno mai una capacità competitiva a livello mondiale ma ci relegheranno a paese insignificante persino nel comparto agrario nel quale potremmo davvero emergere.

Quindi il "modello" delle eccellenze italiane è valido sia per quelle già affermate che hanno contribuito a fare grande il nome dell'Italia nel mercato mondiale, sia per le piccole (che siano di vera qualità, non di qualità in quanto piccole), ma, appunto, non si tratta di far assurgere questo a modello unico. Facendo questo tipo di prodotti abbiamo bisogno di materie prime (pensiamo anche solo al frumento ed ai tanti pani italiani, molto buoni e diversi da regione a regione ed all'interno delle stesse regioni). Se non produciamo noi queste materie prime, chi le produrrà per noi? A me appare tanto chiara la risposta e spero che così sia per il lettore.

Quindi, con i soli prodotti artigianali si dà soddisfazione ad esigenze di una piccola parte del mondo, dimenticandoci degli scenari apocalittici pocanzi delineati. Possiamo e dobbiamo invece salvarli insieme a tutta la grande produzione agricola senza modelli contrapposti, ma convinti che il patrimonio rappresentato dalle "eccellenze" tanto più si protegge se si torna a mettere l'agricoltura al centro delle politiche nazionali e non a farne la cenerentola dei prodotti di nicchia.

#### **Un auspicio per l'agricoltura del Paese?**

Mi auguro fortemente che termini in Italia l'accesa, quanto inutile, campagna condotta dalla variegata schiera dei difensori delle "Eccellenze alimentari italiane" contro coloro che sostengono, invece, l'importanza strategica di tutta l'agricoltura. È davvero assurdo constatare che anziché prendere le difese di un sistema agroalimentare -quello italiano- che accanto ad alcuni punti di forza, contiene molti punti deboli, ci si divida in fazioni litigiose. Difendere tutta l'agricoltura e quindi le aziende produttive, significa includere certamente anche quelle realtà di "nicchia", di prodotti di qualità ecc. che hanno bisogno di essere inserite in un più vasto contesto produttivo agrario, altrimenti avranno un futuro precario.

Voglio sperare che ci sia un soprassalto di lucidità.

\* Amedeo Alpi

Università di Pisa, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari, Agro-ambientali, Laboratorio di Fisiologia Vegetale



## Valutare e gestire il cambiamento globale in agricoltura mediante modelli di ecosistema integrati nei sistemi di informazione geografica

L. Ponti, A. P. Gutierrez, M. Iannetta

Nel corso degli ultimi quattro decenni l'ENEA ha sviluppato con successo approcci innovativi per gestire, su base territoriale ed in modo sostenibile, molteplici problemi riguardanti l'agroecosistema, e ha accumulato in particolare una vasta esperienza nello sviluppo di soluzioni avanzate per combattere su scala territoriale la diffusione della mosca mediterranea della frutta (*Ceratitis capitata*), uno dei parassiti agricoli più dannosi al mondo.

La variazione degli input agrotecnici, nuove specie esotiche invasive e i cambiamenti climatici stanno determinando un cambiamento globale che va ad incrementare la già di per sé elevata complessità degli agroecosistemi.

Le specie invasive causano ogni anno, a livello mondiale, danni economici circa dieci volte superiori a quelli dovuti ai disastri naturali, e il loro numero è destinato

ad aumentare a causa della duplice azione di clima e globalizzazione; ne sono un esempio le numerose specie di insetti tropicali dannosi, di recente insediamento nel Bacino del Mediterraneo, e la tignola del pomodoro (*Tuta absoluta*), specie subtropicale di origine sudamericana, già resistente alla maggior parte degli insetticidi in commercio che, arrivata nel 2006 in Spagna, ha percorso in pochi anni circa 4.000 km raggiungendo ogni angolo del Bacino del Mediterraneo.

Il cambiamento globale inciderà profondamente a livello territoriale, causando una serie di problemi di natura ecologica anche in ambiti diversi da quello agricolo.

Un esempio di grande impatto è la recrudescenza di malattie umane trasmesse da vettori di origine tropicale, verificatasi negli ultimi anni in regioni temperate

come l'Europa. Anche in questo caso, come per gli organismi dannosi in agricoltura, il cambiamento globale agisce a due livelli: da una parte, il riscaldamento del clima rende le regioni temperate più suscettibili all'invasione da parte di vettori di malattia esotici quali la zanzara tigre (*Aedes albopictus*); dall'altra, un mondo sempre più interconnesso facilita lo spostamento su scala globale dei vettori stessi, andando a determinare epidemie senza precedenti, come quella di febbre chikungunya segnalata in Italia nel 2007. Fenomeni simili registrati in Francia negli anni successivi hanno fatto affermare agli esperti del settore che il brutto sogno dell'invasione dell'Europa da parte della zanzara tigre stia diventando realtà. L'esempio della febbre chikungunya, trasmessa appunto dalla zanzara tigre, suggerisce che i problemi causati dal cambiamento globale possono avere natura analoga (in quanto dovuti a specie invasive) anche in ambiti diversi come l'agricoltura e la salute umana. Talvolta, poi, le specie invasive sono dannose in più ambiti, come nel caso dell'ambrosia comune (*Ambrosia artemisiifolia*), anche fonte di polline altamente allergenico, con un notevole impatto sanitario, sociale ed economico in Europa.

Storicamente il principale ostacolo allo sviluppo di soluzioni efficaci e sostenibili per i problemi causati da organismi dannosi in agricoltura (esotici o meno), risiede nella complessità della biologia e dell'ecologia degli organismi stessi. Ogni specie animale e vegetale ha, infatti, requisiti di crescita, sopravvivenza e riproduzione propri, che ne determinano distribuzione geografica, abbondanza ed interazioni con le altre specie. In più, attualmente, molteplici fattori d'interferenza legati al cambiamento globale portano la complessità degli agroecosistemi ad un livello senza precedenti.

Affrontare una molteplicità di problemi ecologici analoghi mediante un approccio olistico comune, consente di gestire in maniera più efficace la complessità legata al cambiamento globale a livello territoriale.

Con questo approccio l'ENEA ha realizzato, grazie alla collaborazione con l'Università della California di Berkeley, il progetto GlobalChangeBiology che, per la prima volta, ha reso disponibile in Europa una tecnologia che può essere usata per interpretare e gestire efficacemente il cambiamento globale in agricoltura. Scopo del progetto era fornire strumenti per riassumere, gestire ed analizzare dati ecologici relativi agli effetti del cambiamento globale nei sistemi agricoli, utilizzando colture mediterranee tradizionali (ad es. vite ed olivo) come sistemi modello ([http://cordis.europa.eu/project/rcn/89728\\_en.html](http://cordis.europa.eu/project/rcn/89728_en.html)).

Il progetto GlobalChangeBiology è nato dal bisogno sempre più stringente di strumenti analitici capaci di fornire una sintesi dei dati ecologici relativi a sistemi agri-

coli soggetti al cambiamento globale. Oggi, come già ricordato, per progettare e gestire agroecosistemi sostenibili si deve tener conto della crescente interferenza del cambiamento globale sotto forma di nuovi input agrotecnici, specie invasive e cambiamenti climatici. Queste considerazioni hanno rilevanza particolare per il Bacino del Mediterraneo, un'area del pianeta particolarmente soggetta ai cambiamenti climatici e già minacciata da mutamenti ambientali di natura locale, desertificazione compresa. Per rispondere a queste esigenze, il progetto ha utilizzato modelli demografici con base fisiologica (*physiologically based demographic models*, PBDM) nel contesto di sistemi d'informazione geografica (GIS), mettendo così a punto uno strumento integrato (PBDM/GIS), mediante il quale è possibile comprendere in maniera dinamica agroecosistemi complessi sottoposti al cambiamento globale.

L'idea di base dell'approccio PBDM è che tutti gli organismi viventi possono essere considerati consumatori, con problemi simili di acquisizione (input) ed allocazione (output) delle risorse, il che consente di descrivere per analogia ogni organismo della catena alimentare (fino ad arrivare al livello economico: vedi esempio dell'olivo più sotto) utilizzando lo stesso modello matematico e concettuale. Un grande vantaggio di questo approccio consiste nella possibilità di descrivere un grado di dettaglio ecologico tale da consentire valutazioni realistiche, senza che il modello PBDM diventi eccessivamente complicato, in virtù del fatto che la complessità (ecologica) viene gestita nel modello a livello concettuale.

Per analizzare gli agroecosistemi a scala territoriale è necessario utilizzare i PBDM nel contesto di un GIS. A tale scopo è stata scelta la tecnologia GIS a sorgente aperta di GRASS (<http://grass.osgeo.org/>). L'approccio PBDM è stato sviluppato presso l'Università della California a Berkeley, con estensioni in contesto GIS basate sulla collaborazione scientifica fra ENEA e CASAS Global, mentre il progetto GlobalChangeBiology ha assicurato il trasferimento di conoscenze verso ENEA. Uno dei principali risultati di questo progetto è stato collegare la tecnologia PBDM/GIS con dati telerilevati da satellite, per colmare il divario esistente tra gli approcci GIS "dal basso" (soprattutto fisiologia e dinamica di popolazione) e quelli "dall'alto" (climatologia), generalmente utilizzati per valutare problemi reali a livello di ecosistema.

Tra i 368 progetti del programma Marie Curie International Reintegration Grants, finanziati nel 2007 per consentire a ricercatori che avessero acquisito esperienza pluriennale fuori dall'Europa di sviluppare un programma di ricerca in un paese europeo, GlobalChangeBiology era l'unico progetto italiano ad affrontare la tematica del cambiamento globale.

Il progetto GlobalChangeBiology, considerato una storia di successo a livello europeo, fa parte della Piattaforma Europea di Adattamento ai Cambiamenti Climatici. La collaborazione con l'Università della California continua attraverso il consorzio scientifico internazionale CASAS Global (<http://casaglobal.org/>).

Una recente applicazione della tecnologia PBDM/GIS è l'analisi della coltura di olivo e del suo parassita più dannoso, la mosca delle olive (*Bactrocera oleae*) (vedi articolo al link <http://www.pnas.org/content/111/15/5598.full>): un tema di notevole attualità, visto che il 2014 è stato definito l'anno nero dell'olio italiano proprio a causa delle fortissime infestazioni di mosca delle olive. Per la prima volta, in quest'analisi, l'impatto dei cambiamenti climatici sull'olivo è stato valutato tenendo conto sia del particolare clima tipico del Bacino del Mediterraneo, sia della rilevante complessità biologica che caratterizza l'interazione tra olivo e mosca delle olive. Si tratta della prima valutazione d'impatto dei cambiamenti climatici ad aver simulato processi biologici realistici a scala sub-continentale, utilizzando come input dati meteorologici giornalieri ad alta risoluzione, ottenuti mediante un modello di simulazione del clima messo a punto da ENEA che riproduce bene la variabilità climatica tipica del Mediterraneo (<http://utmea.enea.it/research/PROTHEUS/>).

L'olivo riveste un'importanza ecologica e socioeconomica considerevole per il Bacino del Mediterraneo, essendo una delle piante di più antica coltivazione, nonché praticamente onnipresente in questa regione geografica. Da qui il notevole interesse per i possibili effetti dei cambiamenti climatici sulla coltura. Lo studio mostra come un riscaldamento del clima nell'ordine dei 2 °C – che con tutta probabilità si verificherà nel Bacino del Mediterraneo nel giro di pochi decenni – potrebbe minacciare la redditività delle piccole aziende olivicole comuni nelle aree collinari marginali, accentuandone l'abbandono già in atto.

È importante notare come i piccoli oliveti tradizionali, che in aree marginali hanno un elevato potenziale in termini di tutela dell'ambiente, poiché conservano suolo e biodiversità e riducono il rischio di incendi, sarebbero anche quelli a maggior rischio di abbandono per l'azione combinata di cambiamenti climatici e politiche agricole europee non sempre del tutto appropriate. Questo – come altri risultati chiave dello studio – non sarebbe emerso senza un'analisi cosiddetta bio-economica, ossia comprensiva delle dinamiche sia biologiche che economiche risultanti dall'interazione tra olivo e mosca in presenza di cambiamenti climatici. Più in generale, l'analisi indica che il riscaldamento del clima avrà un impatto diverso su resa dell'olivo e infestazioni da mosca in zone diverse del Bacino del Mediterraneo, determinando vincitori e vinti da un punto di vista economico (Figura 1).

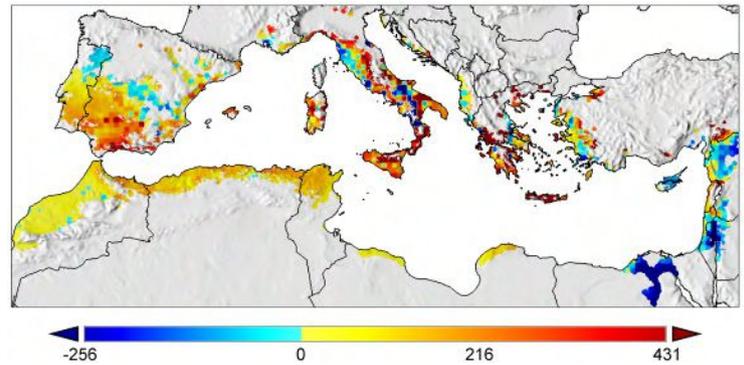


Figura 1  
Effetto di un riscaldamento del clima di 1,8 °C su olivo e mosca delle olive in termini di aumento (giallo-rosso) o diminuzione (blu) del reddito da olivicoltura da olio (euro per ettaro)

Fonte: L. Ponti, A.P. Gutierrez, P.M. Ruti, A. Dell'Aquila (2014). Fine scale ecological and economic assessment of climate change on olive in the Mediterranean Basin reveals winners and losers. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 111: 5598-5603. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1314437111>

L'olivo è una coltura nota per la sua notevole resistenza all'aridità, e quindi con tutta probabilità gli impatti ecologici ed economici dei cambiamenti climatici sarebbero assai più gravi nel caso di colture meno tolleranti a caldo e siccità come vite e frumento. Questa analisi fornisce un modello riproducibile per valutare gli impatti dei cambiamenti climatici in altri agroecosistemi, in presenza di specie invasive vecchie e nuove e in un contesto GIS.

In sintesi, lo strumento integrato PBDM/GIS può essere considerato un archivio contenente le informazioni attualmente disponibili sugli agroecosistemi, applicabile anche ad altri sistemi, aggiornato con nuove informazioni ed utilizzato per guidare ricerche multidisciplinari a scala locale o per regioni geografiche più vaste. La tecnologia PBDM/GIS ha un elevato potenziale di sviluppo futuro per la soluzione di un'ampia gamma di problemi ambientali, ed ha valore generale e specifico a lungo termine per la società in ambiti quali l'agricoltura, la gestione delle risorse naturali e i cambiamenti climatici.

Il trasferimento in ENEA della tecnologia PBDM/GIS, fino ad allora non disponibile in Europa, rappresenta un'opportunità senza precedenti per affrontare il cambiamento globale in agricoltura su base ecologica in un contesto territoriale, in grado fornire alle agenzie governative europee la base scientifica necessaria per sviluppare efficaci politiche di adattamento al cambiamento globale, cambiamenti climatici compresi.

Per approfondimenti: [luigi.ponti@enea.it](mailto:luigi.ponti@enea.it)

Luigi Ponti <sup>1,2</sup>, Andrew Paul Gutierrez <sup>2,3</sup>, Massimo Iannetta <sup>1</sup>

<sup>1</sup> ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale

<sup>2</sup> Center for the Analysis of Sustainable Agricultural Systems Global (CASAS Global), Kensington, CA, USA

<sup>3</sup> College of Natural Resources, University of California, Berkeley, CA, USA



# Genetica applicata alla costituzione di nuove varietà di piante

C. Stamigna, E. Chiaretti, D. Chiaretti

Il miglioramento genetico delle piante mira alla costituzione di nuove varietà, nonché allo studio dei principi e delle tecniche per ottenerle, affinché rispondano alle esigenze reali degli agricoltori.

Tale processo richiede tecniche agronomiche avanzate per ottenere un continuo e progressivo aumento della produttività delle colture e una più alta redditività dei procedimenti impiegati in agricoltura.

La superficie mondiale di terre arabili si sta riducendo a causa di diversi fattori, quali urbanizzazione, desertificazione, erosione, degrado dei suoli e quindi la via più sostenibile per incrementare, come necessario, la produzione di alimenti, è quella di accrescere la produttività delle specie agrarie.

Per il futuro, la sfida è di realizzare produzioni più elevate, costituendo nuove varietà adatte ad una agricoltura a basso costo e a ridotto impatto ambientale.

Per soddisfare tali esigenze, è importante anche realizzare varietà che siano resistenti a malattie per ridurre l'impiego di antiparassitari, in grado di ottimizzare l'utilizzazione dei fertilizzanti e dell'acqua presenti nel terreno per ridurre i concimi chimici e l'irrigazione, che abbiano elevato rapporto granella/paglia a parità di sostanza secca prodotta e buona qualità ai fini della trasformazione e conservazione.

Oltre che ottimizzare l'utilizzazione dell'acqua da parte della pianta, ad esempio seminando in epoca autunno-vernina, il bilancio idrico delle colture può essere migliorato incrementando le risorse d'acqua del suolo a disposizione o riducendo le perdite con colture e tecniche di coltivazione appropriate.

Per evitare di ripetere l'errore già commesso in passato con i cereali, cioè il depauperamento di sostanza organica del terreno a causa dell'uso esteso della monocoltura, si stanno selezionando nuove varietà di leguminose ad alto tenore proteico da integrare nel ciclo di produzione con consociazioni e/o rotazioni in modo da ottimizzare le pratiche colturali. L'uso della rotazione permette una diminuzione dei costi relativi ai fertilizzanti, concimi chimici e pro-

dotti agrochimici con aumento sostanziale dei rendimenti.

Le modifiche della PAC (Politica Agricola Comune) potrebbero variare notevolmente il panorama colturale, ridando nuovo slancio alle rotazioni, riducendo la monocoltura, ristabilendo un ruolo importante nel mantenimento della fertilità dei suoli mediante apporto di sostanza organica ed azoto.

Nel Centro Ricerca ENEA della Casaccia, presso l'Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale, esiste una lunga esperienza nel campo del miglioramento genetico dei cereali e delle leguminose da granella sia per l'alimentazione umana che animale.

I programmi di miglioramento varietale mediante incrocio hanno permesso lo sviluppo di nuova variabilità genetica nella quale si ha la possibilità di selezionare nuove linee, combinando i caratteri favorevoli dei genitori. L'attività di ricerca riguarda una serie di cereali (triticale, frumenti, orzo, segale) e leguminose (lupino, fava, pisello, cece, lenticchia), con l'obiettivo di migliorare i caratteri qualitativi e quantitativi.

Tutto ciò utilizzando in particolare varietà e popolazioni nazionali ed estere che presentano specifiche caratteristiche (ad es. assenza di tannini nei semi di lenticchia e fava; assenza dei principi amari nei lupini; il fiore chiuso e l'autogamia nella fava; la tetraploidia e il carattere perenne nella segale; l'autofertilità nel triticale): il tutto mantenendo le caratteristiche di produttività e qualità delle linee avanzate usate.

L'ENEA continua ad iscrivere nuove varietà vegetali in collaborazione con l'azienda sementiera ISEA-AGROSERVICE, che in passato è stata quella che ha più commercializzato il grano Cresco, una varietà di grano duro ottenuta presso i laboratori del Centro Ricerche Casaccia nei primi anni 70.

Nel 2013 è stato depositato il brevetto di una varietà di lupino azzurro dolce, denominata "Polo", a semina autunno-vernina, resistente a stress idrici, alle principali malattie e all'allettamento, ad elevato

contenuto proteico, da utilizzare per la produzione di mangimi e foraggio (Figura 1).

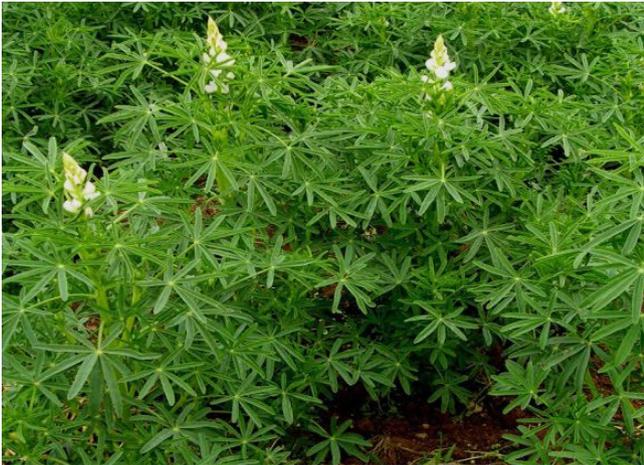


Figura 1  
Lupino, varietà "Polo"

Attualmente, sono in corso di prova al Registro Varietale Nazionale Vegetale due nuove varietà di lupino bianco dolce, denominate CD1 e CD2, che possono essere impiegate per l'alimentazione umana, per la produzione di mangimi e foraggio (Figura 2).



Figura 2  
Lupino, varietà "CD1"

Nel 2014 è stato depositato il brevetto nazionale ed europeo di una varietà di triticale invernale, denominato "Quirinale", con una resa in granella superiore del 10% rispetto alle varietà in commercio, con buona resistenza al freddo e alle principali malattie, da utilizzare come granella ed insilato (Figura 3).



Figura 3  
Triticale, varietà "Quirinale"

Un'altra varietà di triticale invernale denominata Cupolone, ad elevata produttività, è in corso di prova al Registro Varietale Nazionale Vegetale.

Sono inoltre in fase di moltiplicazione nuove linee di fava prive di fattori antinutrizionali, che costituiranno nuove varietà (Figura 4).



Figura 4  
Linea di fava in selezione

Tali nuove varietà possono rappresentare nell'alimentazione umana fonti alternative di proteine vegetali di alta qualità e lipidi in grado di sostituire parti di grassi e proteine animali. In particolare, il lupino, coltura ad alto contenuto proteico, potrebbe sostituire con successo la soia che viene utilizzata nella mangimistica e in vari prodotti dell'industria alimentare, riducendo sensibilmente l'importazione delle sue sementi. Si fa presente che la coltivazione della soia richiede interventi irrigui a differenza del lupino, che è una coltura a semina autunno-vernina.

Per approfondimenti: [catia.stamigna@enea.it](mailto:catia.stamigna@enea.it)

Catia Stamigna, Emiliano Chiaretti, Domenico Chiaretti  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale

# “Fast and Fluo”: la nuova tecnica FISHIS consente di catturare i cromosomi e apre nuovi orizzonti alla genomica

D. Giorgi, A. Farina, V. Grosso, S. Lucretti

## L'innovazione genomica e la tradizione citogenetica

Le tecnologie “omiche” più produttive e ad alto impatto sono basate sul concetto di analisi parallela ad alta velocità di elementi biologici. Il sequenziamento parallelo, o *Next Generation Sequencing* (NGS), è la metodologia che attualmente sta portando le scienze della vita verso la decifrazione del codice genetico di molteplici e diversi organismi. Anche in questo caso, grazie a strumenti bioinformatici che applicano un sistema di calcolo “parallelo”, l'enorme quantità di dati generati dal NGS, difficili da interpretare e da rendere significativi, sta trovando un ordine e, finalmente, una spiegazione circa la loro funzione biologica. La comprensione del meccanismo della vita sta fornendo gli strumenti per migliorarne le condizioni e riparare eventuali “malfunzionamenti”, o malattie, che possano presentarsi nel suo naturale svolgimento.

L'unità base funzionale di un organismo è la cellula, e la sua funzionalità e “salute” sono in larga parte governate dall'organizzazione del suo DNA, contenuto nel nucleo e organizzato in unità di replicazione autonome, denominate cromosomi.

Dagli studi emerge come la presenza di specifiche sequenze di DNA, e la loro organizzazione in gruppi di ripetizioni variabili e differentemente collocate nel genoma dell'individuo, sia sempre più spesso individuata quale fonte di regolazione, ed alterazione, del funzionamento del patrimonio genetico di una specie (CNV: *Copy Number Variation*).

Sino ad oggi, l'analisi della struttura dei cromosomi di una cellula è stata effettuata su base qualitativa, ossia osservando al microscopio la presenza di specifiche sequenze di DNA tramite l'abbinamento, o ibridazione, di “pezzi” di DNA coniugati con molecole evidenziatrici, o “reporter”, generalmente di tipo fluorescente ed in grado di emettere una luce di fluorescenza specifica quando il fluorocromo viene eccitato da una determinata lunghezza d'onda (Figura 1).

L'osservazione microscopica consente di valutare qualitativamente la presenza, o meno, di un pezzo di DNA: in citogenetica molecolare le “bande” di colore diverso indicano la localizzazione di specifiche sequenze di

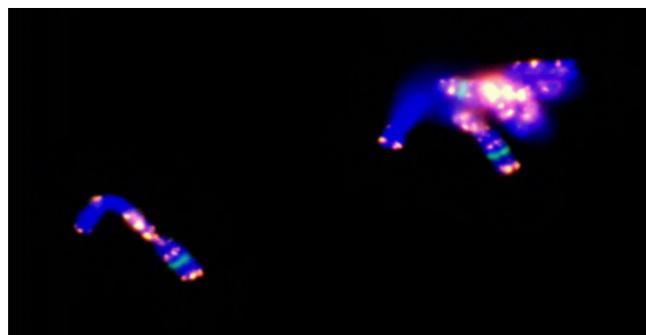


Figura 1  
Immagine di cromosomi di grano (*T.durum* cv Cresco) colorati con metodica FISHIS e ibridazione con sequenze di DNA per le ripetizioni GAA (rosso) e rDNA (verde). La specifica marcatura fluorescente consente di identificare i singoli cromosomi e gli “spostamenti”, o traslocazioni, di porzioni dei cromosomi stessi, spesso correlati ad alterazioni visibili dell'organismo

DNA, e l'eventuale loro diversa collocazione tra cromosomi di individui diversi. Non si possono ottenere informazioni quantitative specifiche da queste osservazioni perché il materiale genetico non è manipolabile per analisi e clonaggi, ossia il DNA di interesse non è isolabile per esperimenti di biologia molecolare.

## Innovazione e tradizione coniugate in un approccio originale: la citogenetica molecolare a flusso

I nuclei ed i cromosomi provenienti dalle molteplici forme cellulari, che siano linfociti del flusso sanguigno, cellule epiteliali, cellule tumorali in fase di proliferazione, o cellule staminali dalle potenzialità rigeneratrici, possono essere caratterizzati con la rapidità e la precisione necessarie a trattare grandi popolazioni dove gli eventi patologici, o di interesse, possono essere molto rari, con la sola tecnica della citofluorimetria a flusso (CFM) e *flow sorting*.

Con la CFM, gli elementi cellulari, sia animali che vegetali, sono analizzati e separati con alta resa e precisione secondo le loro diverse caratteristiche morfologiche e biochimiche, senza contaminazioni esterne che ne blocchino la crescita o le inquinino limitandone l'impiego. Con il *flow sorting* si possono isolare singoli elemen-

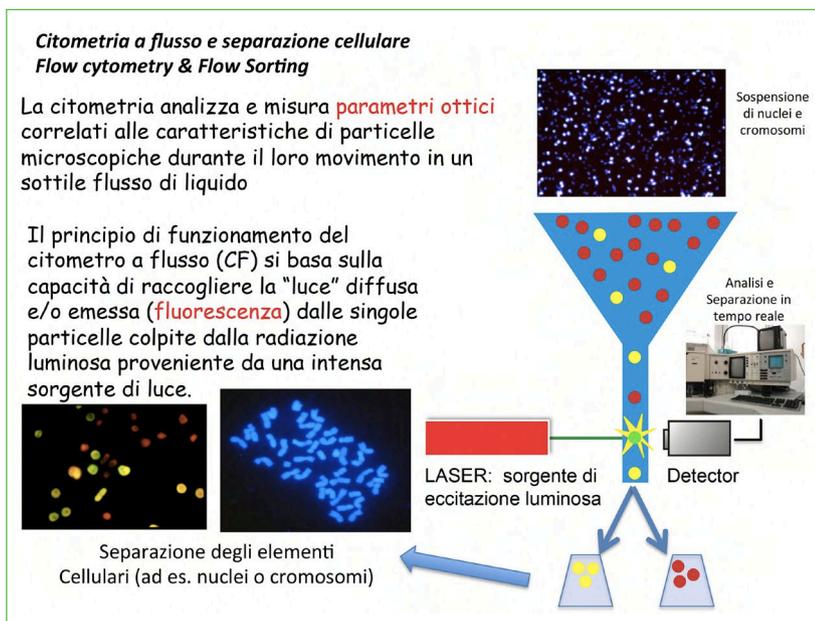


Figura 2

Come funziona un citometro a flusso: la sospensione di cromosomi e nuclei marcata con colorante specifico per il DNA viene analizzata da un citofluorimetro che cataloga in tempo reale le intensità di fluorescenza emesse dalle singole particelle. La quantità di fluorescenza viene utilizzata dallo strumento per frazionare la sospensione in provette singole contenenti le particelle di interesse. In circa un'ora di flow sorting si possono ottenere da 10 ng a 1µg di DNA puro, a seconda del campione in esame

ti e rare sotto-popolazioni per successive manipolazioni e studi (Figura 2).

Sino ad oggi, le grandi capacità analitiche della caratterizzazione molecolare, o citogenetica molecolare, non hanno trovato efficace applicazione per l'isolamento e la manipolazione di quegli elementi cellulari, come nuclei e cromosomi, così ben rivelati sul vetrino al microscopio, ma indisponibili per l'analisi citofluorimetrica, la separazione via *flow sorting* e l'analisi molecolare-genomica.

La citometria a flusso è stata introdotta pionieristicamente in Italia in ENEA, alla fine degli anni settanta, presso il Centro Ricerche della Casaccia, nel Laboratorio Dosimetria e Biofisica del Dipartimento Radiazioni (RAD) dell'allora Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare (CNEN). Successivamente, grazie ad uno specifico investimento in beni strumentali e risorse umane, questa tecnologia è stata adottata anche per lo studio delle cellule vegetali, e le competenze nel tempo sviluppatesi sono oggi presenti nell'Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale dell'ENEA.

Inizialmente, la citometria a flusso è stata applicata, dal nostro gruppo, alle cellule vegetali, considerate come uno "strumento" biotecnologico molto versatile

perché in possesso della capacità, condivisa nel campo animale solo con le preziose cellule staminali, di crescere indefinitamente e differenziare in un organo o - fatto biologico unico - rigenerare una nuova pianta, identica a quella dalla quale sono state prelevate inizialmente le cellule stesse. Questa capacità, detta totipotenza, rende le cellule vegetali un materiale *biotec* peculiare e dalla grandi potenzialità applicative: una singola cellula con una modificazione del suo corredo genetico può dar luogo ad un individuo completo con le nuove caratteristiche stabilizzate ed espresse. Le potenzialità applicative di una tecnica come la citofluorimetria a flusso e *flow sorting* consentono di identificare e selezionare la rara diversità presente in alcune cellule tra i milioni di elementi cellulari allevati *in vitro*.

Ma la capacità di identificare, tramite la citogenetica molecolare, le alterazioni del patrimonio genetico in

nuclei e cromosomi per analizzarle e studiarle con gli strumenti della genomica rimaneva ancora preclusa. Almeno sino a quando, presso i laboratori della Casaccia, è stata messa a punto per la prima volta una nuova tecnica, denominata *ibridazione in situ fluorescente in sospensione* (FISHIS: *fluorescent in situ hybridization in suspension*), in grado di unificare le migliori capacità della citogenetica molecolare con la separazione cellulare mirata della citometria a flusso e *flow sorting* e dando così origine alla citogenetica molecolare a flusso (<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0057994>).

La nuova tecnica FISHIS consente di marcare il DNA di nuclei e cromosomi in sospensione con sonde molecolari a DNA coniugate con coloranti fluorescenti per identificare immediatamente e con precisione alterazioni del patrimonio genetico, riconosciute tramite citometria a flusso e separate con il *flow sorting* (Figura 3). Si aprono, così, nuove prospettive di sviluppo che consentono di ampliare le conoscenze applicative in tutti i campi della genomica e diagnostica molecolare, grazie alla possibilità di rilevare la presenza di geni e sequenze di DNA di interesse, di identificare cromosomi e sotto-genomi in specie complesse (ad es. il grano tenero, la segale, il cotone), di diagnosticare la presenza/

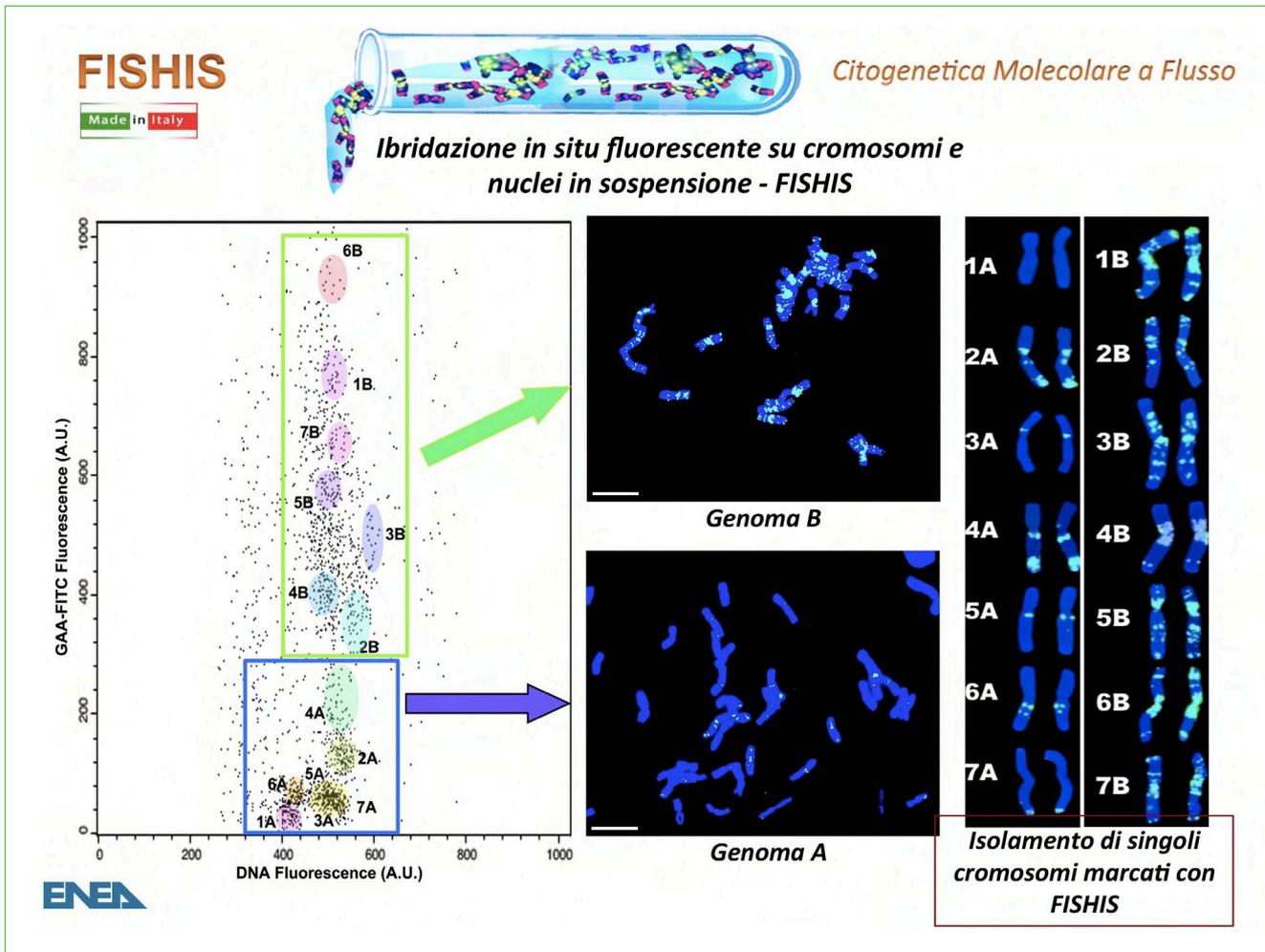


Figura 3  
 La sospensione cromosomica ottenuta da cellule della radice di grano duro dopo sincronizzazione del ciclo cellulare e frantumazione dei tessuti viene ibridata con FISHIS con sequenze di DNA fluorescente (GAA+FITC) ed un colorante per il DNA totale. I singoli cromosomi, ciascuno con un pattern di ibridazione specifico, vengono riconosciuti dal citometro e separati nei due sotto-genomi che hanno originato la specie grano duro (genoma A e B) e nei singoli tipi cromosomici. Questa possibilità di frazionamento del genoma di grano duro, costituito da 12 miliardi di nucleotidi (12Gb), consente di leggere e comprendere il significato dei dati del sequenziamento, altrimenti non interpretabili nel loro insieme indiviso

assenza di geni e traslocazioni cromosomiche (causa di malattie genetiche e mutazioni).

Questa scoperta è l'ultima di una serie che ha visto l'ENEA mettere a punto, per prima, i sistemi di isolamento e separazione di cromosomi vegetali, alla base dell'approccio cromosomico scelto dal Consorzio Internazionale per il Sequenziamento del Grano (<http://www.wheatgenome.org/>), il più grande genoma mai affrontato dalla genomica, che è circa sei volte più vasto di quello umano.

L'ENEA può giustamente vantare un polo di eccellenza in Italia per lo sviluppo di sistemi di analisi e separazione cellulare nel campo delle biotecnologie, non presente in alcuna altra Istituzione di ricerca, sia pubblica che privata.

Per approfondimenti: [debora.giorgi@enea.it](mailto:debora.giorgi@enea.it) - [sergio.lucretti@enea.it](mailto:sergio.lucretti@enea.it)

Debora Giorgi, Anna Farina, Valentina Grosso, Sergio Lucretti  
 ENEA, Unità Tecnica Ambiente Sviluppo Sostenibile ed Innovazione  
 del Sistema Agro-Industriale - Laboratorio Innovazione Agro-Industriale



# Tecnologie aerospaziali integrate a supporto dell'agricoltura di precisione

F. Borfecchia, L. De Cecco, S. Martini, L. Giordano, C. Trotta, D. Masci, V. Di Gioia, V. Pignatelli, A. Moreno, C. Micheli, S. Mancini, A. Pizzuti, P. Piciuccio, S. Taraglio, V. Nanni, C. Moriconi

## Tecnologie innovative aerospaziali e loro utilizzo

L'agricoltura, uno dei settori produttivi più rilevanti a livello planetario, è anche uno dei più vulnerabili ai cambiamenti climatici, specialmente nei Paesi in via di sviluppo, nonostante essa vi contribuisca notevolmente rilasciando in atmosfera enormi quantità di gas serra. Si stima che, attualmente, il suo contributo alle emissioni di gas climalteranti (~15%) sia in aumento e che sia pari a circa la metà di quello attribuito alla produzione energetica, nonché superiore a quello dei trasporti (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC).

Anche se la produttività agricola dipende prevalentemente dal clima, responsabile di periodi di siccità, alluvioni, temperature estreme e variazioni della piovosità, molti altri fattori locali, come la mancanza di sostanze nutritive, di acqua o di altre carenze del suolo, le muffe, gli attacchi di insetti o altri fitofagi, possono avere un forte impatto nel ridurre il raccolto. In questo contesto, tenendo conto che sono aumentate notevolmente anche la sensibilità e l'attenzione dell'opinione pubblica sulla qualità del cibo, sull'utilizzo di composti di sintesi e sulla sostenibilità delle attività umane, al fine di ottimizzare in tali direzioni la gestione degli agro-ecosistemi, da vari anni hanno sempre più preso piede gli approcci fondati sia sulle pratiche biologiche sia sui concetti dell'agricoltura di precisione. Quest'ultima, in particolare, è basata sulla disponibilità di tecnologie di recente evoluzione per una gestione ottimizzata, con un supporto alle decisioni efficaci e "smart", volto alla prevenzione e mitigazione degli effetti negativi sugli agro-ecosistemi legati ai differenti fattori di stress delle colture, in base al monitoraggio puntuale dei diversi parametri biofisici vegetali, nella prospettiva della maggiore sostenibilità economica e ambientale delle attività produttive.

In generale, l'agricoltura industriale attuale mira ad aumentare il raccolto, minimizzando allo stesso tempo i costi e migliorando la qualità dei prodotti, mentre la moderna agricoltura di precisione si basa sulla messa a punto di strategie di gestione specifiche per massimizzare qualità, rendimento e profitto, riducendo gli eventuali impatti ambientali dovuti all'eccessivo uso di

fertilizzanti o di pesticidi. Questo è uno degli obiettivi principali dell'agricoltura di precisione, che consiste in un nuovo concetto di gestione agricola ottimizzata, impostata sull'osservazione efficace per mezzo di tecniche innovative di misurazione estensiva, in grado di stimare la variabilità inter e intra-campo delle specie coltivate, modulando opportunamente gli input in termini di nutrienti, acqua, fertilizzanti e pesticidi, secondo le specifiche esigenze delle colture, variabili sia in funzione dello spazio che del tempo.

Questo approccio innovativo, oltre all'aumento dell'automazione, richiede tecniche di posizionamento e misura efficaci con capacità di mappatura, a livello del singolo appezzamento, di parametri biofisici chiave, rappresentativi dello status della piantagione. A tal fine, si stanno sempre più diffondendo tecnologie di monitoraggio estensivo basate sulla rilevazione remota, tramite la necessaria sensoristica, dell'energia elettromagnetica riflessa nelle sue componenti multi/iperspettrali che, una volta opportunamente elaborate tramite modellistica specifica, consentono di stimare estensivamente le distribuzioni di tali parametri alle scale spazio-temporali d'interesse, superando i limiti dell'utilizzo esclusivo dei rilievi in campo puntuali, dovuti ai costi e alle risorse disponibili.

D'altronde, la vegetazione si caratterizza per la capacità di catturare e trasformare l'energia elettromagnetica solare per mezzo della fotosintesi, sfruttando principalmente le componenti nel rosso, mentre riflette quelle nel verde e soprattutto vicino infrarosso, NIR (Near Infra-Red). Tali lunghezze d'onda riflesse ed emesse nel canale termico TIR (Thermal Infra-Red), in particolare quelle nell'intervallo spettrale tra il rosso e NIR (Red-Edge), contengono informazioni relative al funzionamento e allo stato di salute del sistema vegetale, essenziali per soddisfare varie esigenze di monitoraggio, finalizzato ad un'efficace ed estensiva diagnostica remota degli stress della vegetazione.

In questo contesto, grazie anche allo sviluppo di sensori e piattaforme satellitari ed aeree dedicate, a partire dal secolo scorso, si è fatto sempre più ricorso integra-

to a queste tecniche osservative di “telerilevamento” o EO (Earth Observation), in grado di fornire informazioni coerenti, riproducibili ed economicamente efficaci sulla copertura vegetativa e sulla sua evoluzione temporale alle diverse scale d’interesse, da quelle del singolo appezzamento a quelle globali dell’intero pianeta. Le applicazioni innovative, basate sulle informazioni acquisite dai sensori satellitari, stanno diventando sempre più indispensabili, non solo per il progresso scientifico (si pensi all’esplorazione planetaria e alla modellistica atmosferica), per la sicurezza (ad esempio: telecomunicazioni, previsioni meteo, supporto nelle emergenze, inquinamento ambientale) e per la gestione sostenibile del pianeta (bilancio idrologico, cambiamenti climatici, ciclo del carbonio), ma anche per il supporto alle politiche locali e alla vita quotidiana dei cittadini (GPS e telefonia, agricoltura e gestione del territorio, trasporti ecc.).

Attualmente, molte agenzie spaziali governative mondiali, anche di paesi emergenti quali Cina, India, Brasile, sono impegnate in programmi importanti, liberalizzando l’accesso alle informazioni acquisite alle varie scale, alla base per lo sviluppo di servizi e prodotti innovativi, con ricadute significative per l’economia. In questa prospettiva, si collocano anche i programmi di punta europei di EO e monitoraggio globale quali Galileo (nuovo sistema GPS) e Copernicus, portati avanti dall’ESA (European Space Agency). Nell’ambito di quest’ultimo, nei prossimi mesi del 2015, è prevista la messa in orbita del primo satellite del sistema Sentinel2, con sensori ottici in grado di assicurare un monitoraggio efficace della vegetazione e degli agro-ecosistemi, con caratteristiche spettrali (includenti bande di acquisizione nel Red-Edge) e spaziali, adeguate alle applicazioni nel settore agricolo per le specifiche esigenze sopra citate.

Attraverso l’utilizzo di nuovi materiali e di soluzioni aeronautiche e di navigazione (GPS) avanzate, anche il settore degli APR (Aeromobile a Pilotaggio Remoto) sta evidenziando una crescita d’interesse notevole, con lo sviluppo di applicazioni in diversi settori, tanto da richiedere una nuova regolamentazione specifica da parte dell’Ente Nazionale per l’Aviazione Civile, preposto a livello nazionale. Attualmente, si assiste alla rilevante diffusione di queste applicazioni avanzate di telerilevamento anche a supporto dell’agricoltura di precisione. Esse sono basate, oltre che su satelliti, pure su piattaforme innovative che vanno da ultraleggeri, in grado di decollare ed atterrare da aviopiste, a droni UAV (Unmanned Aerial Vehicle)/APR, che possono essere telecomandati a distanza mantenendo vari livelli di autonomia relativi al posizionamento, tramite tecnologia GPS, e gestione della missione.

Oltre alle tecniche di rilevamento e posizionamento aerospaziali (GPS, GNSS ecc.), in questo contesto giocano un ruolo determinante i più recenti metodi integrati di elaborazione della grande massa di dati geo-spaziali prodotti, basati sulla Geomatica e sul GIS (Geographic Information System). Grazie quindi all’evoluzione delle tecnologie aerospaziali e della sensoristica, attualmente tali pratiche colturali avanzate possono giovare di rilievi d’interesse agronomico effettuati da diverse piattaforme e con differenti modalità, che vanno dall’utilizzo di apparati portatili per misure locali sul campo, a riprese da varie piattaforme aeree o satellitari da utilizzare eventualmente in modo integrato per l’ottimizzazione della copertura.

I dati a livello di bacino, rilevati continuamente dai sensori di ultima generazione delle piattaforme satellitari, in grado di captare le sottili variazioni spettrali dovute alle alterazioni nel metabolismo della pianta, causate da patogeni, carenze nutritive o idriche, sono integrati da quelli acquisiti localmente tramite APR appositamente attrezzati, al fine di stimare mappe di fabbisogno di fitofarmaci, acqua e fertilizzanti da sfruttare tramite macchine agricole innovative per trattare il singolo appezzamento.

La calibrazione dei rilievi estensivi effettuati tramite queste tecniche aerospaziali si basa su modellistica integrata da rilievi a terra puntuali georiferiti di parametri radiometrici e fenologici (Figura 2), con campionamenti da sottoporre a varie analisi di laboratorio (quali fluorescenza, spettroscopia Raman, genetica), finalizzate a rilevare eventuali indicatori di stress di diversa origine (come carenza di acqua o di nutrienti, patologie) attraverso indagini su parametri (ad esempio: peso secco, azoto), su composti (clorofilla, pigmenti ecc.) o su variabili genetiche (Figura 1).

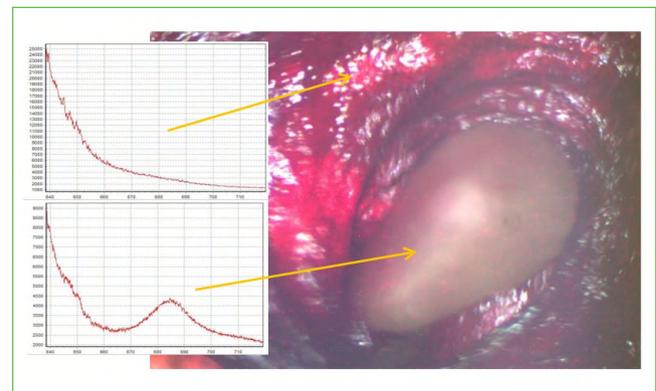


Figura 1  
Rilevazione del contenuto di clorofilla (Chl) nell’achenio di fragole affette da attacco di muffe (*Penicillium*) tramite tecniche di fluorescenza attiva (Horiba LIF)

Queste misure di campo, opportunamente georeferenziate, possono fornire la calibrazione puntuale, efficace per sviluppare metodologie integrate di telerilevamento multipiattaforma (satellite, aereo, UAV), in grado di soddisfare le esigenze dell'agricoltura di precisione, in termini di monitoraggio ripetitivo e mappatura degli stress e danni alle colture (Figura 3), derivanti dai fattori sopra citati sin dalle fasi iniziali.



Figura 2 Rilevazione di misure spettrali di calibrazione relative a piantagioni di grano duro su suoli a diverso grado di salinizzazione tramite radiometro iperspettrale portatile ASD-FieldspecPro col supporto di ricevitore GPS per la georeferenziazione

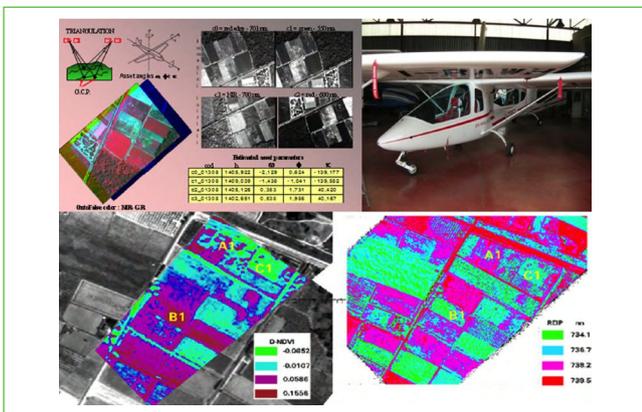


Figura 3 Mappatura dello stress idrico di coltivi attraverso i rilievi ASPIS elaborati sotto forma di indici spettrali di vegetazione basati su piattaforma ultraleggera Sky Arrow 730 TC ed elaborati (in alto) sotto forma di indici spettrali di vegetazione (NDVI) in basso a sinistra, e relativi all'intervallo Red-Edge (REIP), in basso a destra

### Esperienze sviluppate in ENEA

Sin dal 2005, in ENEA, sono state condotte, in collaborazione con piccole e medie imprese, come Terrasystem Srl, esperienze di telerilevamento aereo a supporto del monitoraggio dei fattori di stress multifattoriali delle colture, per mezzo di piattaforme e sensori innovativi, nell'ambito delle attività di ricerca a supporto degli studi sugli effetti della desertificazione (progetto RI-

ADE PON 12248, 2002-2006). In particolare, sono state sviluppate metodologie fondate sul sistema aviotrasportato con sensore ASPIS (Advanced Spectral Image System), attraverso piattaforma ultraleggera e camere CCD (Figura 3) ad alta risoluzione radiometrica e spettrale, con canali di acquisizione programmabili sulle caratteristiche di riflettanza spettrale, specifiche delle colture.

Attualmente, nel settore degli APR, in sintonia con la crescita dell'interesse generale, diverse attività di ricerca si stanno sviluppando significativamente, in sinergia tra le varie competenze multidisciplinari presenti nell'Agenzia, come queste applicazioni specifiche richiedono. Con riferimento al settore delle piattaforme UAV ad ala fissa, si stanno sperimentando con successo motorizzazioni innovative a supporto dell'utilizzo di biocombustibili, ottenuti dal riciclo degli olii alimentari esausti come carburanti aeronautici (Figura 4), mentre per quelli ad ala rotante è in corso la progettazione per utilizzare celle a combustibile a idrogeno con cui superare i limiti di autonomia (0,5-0,75 h) delle soluzioni APR maggiormente diffuse, e con emissioni a impatto nullo.



Figura 4 Messa a punto e test di motorizzazioni aeronautiche innovative di UAV per lo sfruttamento di combustibile aeronautico ottenuto da biodiesel derivato dal riciclo di olii alimentari esausti

Al fine di soddisfare il più ampio spettro delle esigenze per un effettivo supporto a varie attività di ricerca e sviluppo dell'ENEA, non solo in agricoltura, ma anche in quelle di altri settori d'interesse, quali il monitoraggio dei beni culturali e monumentali e la sismica (Figura 5), sono in corso sviluppi di piattaforme innovative a diversi livelli di automazione, in grado di supportare l'acquisizione semiautonomo di informazioni e di dati ambientali terrestri e marini, sulla base di una pianificazione preventiva dei percorsi di navigazione tramite sistema GPS, con capacità di gestione della sensoristica di bordo appositamente sviluppata, anche per far



Figura 5  
Utilizzo di UAV ad ala rotante ed alimentazione elettrica per il monitoraggio dei beni culturali e l'ispezione di edifici e infrastrutture danneggiate da eventi sismici e catastrofici

fronte adeguatamente ad eventi improbabili e a situazioni potenzialmente dannose.

In tale contesto, il Laboratorio di Robotica dell'Unità Tecnica Tecnologie Avanzate per l'Energia e l'Industria dell'ENEA, nell'ambito di una serie di progetti europei e regionali (MACRO, EUROSTARS ARCA, SARA), in collaborazione con partner industriali, quali Deep Blue Srl e SpaceTech GmbH, ha realizzato un sistema (hardware e software) prototipale, alloggiabile a bordo di un UAV, in grado di far fronte, in modo semiautomatico, a possibili eventi di collisione tra aeromobili, anche in caso

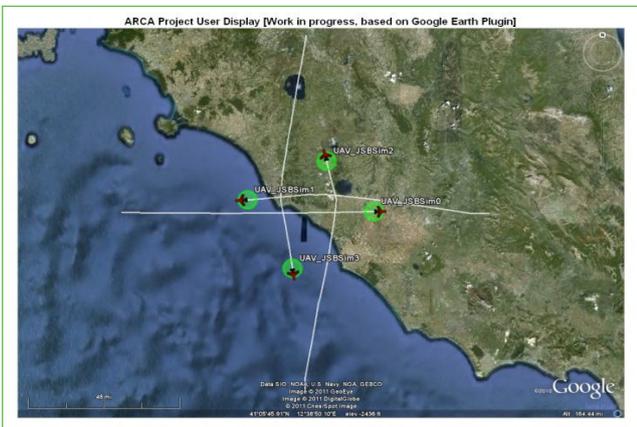


Figura 6  
Simulazione di quattro UAV in rotte di collisione controllate e risolte dall'algoritmo del sistema

di configurazione complessa dovuta alla presenza di più velivoli (Figura 6).

Il sistema, sulla base di un protocollo aeronautico di interscambio di informazioni, provvede a segnalare automaticamente al pilota a terra la manovra evasiva che permetta allo UAV di non avvicinarsi mai ad altro aeromobile entro un dato raggio di sicurezza (per i velivoli commerciali 5 miglia nautiche, circa 8 km), prescritto dalle regole del controllo del traffico aereo. Nel caso di un velivolo completamente autonomo, la manovra evasiva elaborata in tempo reale viene direttamente inviata all'autopilota, garantendo così la sicurezza del volo.

In uno scenario dove l'agricoltura gioca un ruolo sempre più determinante e strategico, la diffusione, in tale settore, di queste tecnologie aerospaziali e robotiche avanzate, sempre più accessibili, risponde alle esigenze di basare le decisioni su informazioni integrate, non solo per aumentare la produzione, ma anche per assicurare cibo di qualità alla popolazione mondiale, minimizzando gli impatti ambientali e sul clima, e valorizzando la biodiversità. In tale contesto, le applicazioni basate su queste tecnologie si stanno rivelando sempre più indispensabili per far fronte alle sfide di aumento della produttività in agricoltura richiesto dal mercato globale, in una prospettiva di sostenibilità ambientale incentrata anche sulla diffusione dell'economia verde e circolare, a cui si riferiscono alcune delle applicazioni sperimentali e sugli APR condotte in ENEA. Tali concetti sono alla base dell'eco-innovazione, praticabile in accordo con la conservazione e tutela delle risorse naturali, e tenendo conto dei cambiamenti ambientali e climatici in una visione multiscala, integrata, sistemica ed olistica degli agro-ecosistemi, tramite i quali provvedere adeguatamente alla nutrizione della crescente popolazione mondiale, che si stima raggiungerà circa 9 miliardi nel 2050.

Per approfondimenti: [flavio.borfecchia@enea.it](mailto:flavio.borfecchia@enea.it)

**Flavio Borfecchia, Luigi De Cecco, Sandro Martini**  
ENEA, Unità Tecnica Modellistica Energetica Ambientale

**Ludovica Giordano, Claudia Trotta, Domenica Masci**  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale

**Valter Di Gioia, Vito Pignatelli, Carla Micheli, Angelo Moreno**  
ENEA, Unità Tecnica Fonti Rinnovabili

**Sergio Taraglio, Vincenzo Nanni, Claudio Moriconi**  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie Avanzate per l'Energia e l'Industria

**Sergio Mancini**  
ENEA, Unità Tecnica Biologia delle Radiazioni e Salute dell'Uomo

**Alessandro Pizzuti, Piero Piciuccio**  
ITEMASas - Ingegneria termo-elettromeccanica avanzata



**ENEA** per **EXPO**  
2015 ■■■



## AGRICOLTURA PIÙ EFFICIENTE E SOSTENIBILE

*Ridurre l'uso di acqua e fertilizzanti, migliorare la difesa fitosanitaria e avere piante meno esigenti sono elementi chiave per nutrire il mondo nei prossimi decenni. L'agricoltura convenzionale ha iniziato a fare passi avanti enormi, trovando modi innovativi per indirizzare meglio ed orientare l'applicazione di fertilizzanti e pesticidi, utilizzando trattrici computerizzate con sensori avanzati e GPS. L'agricoltura biologica può notevolmente ridurre l'uso di acqua e di fertilizzanti, privilegiando l'uso della lotta biologica ed altre forme di lotta ai parassiti che non passino dall'uso di sostanze chimiche.*



### il tema

*Agricoltura di precisione per aumentare l'efficienza d'uso delle risorse*

### il punto di vista

*Intervista a Gianfranco Bologna, Direttore Scientifico WWF Italia*

### L'Enea per...

*Gestire in modo efficiente gli input chimici ed energetici in agricoltura, riducendo l'inquinamento ambientale*

*Le risorse genetiche vegetali per la sostenibilità delle produzioni agroindustriali*

*Acqua e agricoltura: un rapporto che deve cambiare*

*L'utilizzo della pollina per la riduzione dell'impatto ambientale*

*Estrazione sostenibile di biomolecole per usi alimentari, cosmetici e farmaceutici*

*Ridurre gli input chimici ed energetici in agricoltura mediante tecniche agronomiche innovative*

*Tecnologie di filtrazione a membrana e applicazioni per l'agro-industria*

*Controllo biologico delle specie aliene e invasive in agricoltura*

*Agricoltura sostenibile: valorizzazione del "neem cake"*

## “Agricoltura di precisione” per aumentare l’efficienza d’uso delle risorse

DOI 10.12910/EAI2015-026

B. Basso

### Introduzione

L’innalzamento del livello di sostenibilità in agricoltura si sta prefigurando come un obiettivo sempre più importante per gli operatori, date le necessità di contenere i costi per salvaguardare il reddito da un lato e quella di aumentare la protezione delle risorse ambientali dall’altro. Non solo, in un contesto sempre più globale, la necessità di mantenere elevato il livello di competitività del processo di produzione messo in atto è indicato da più parti come un requisito fondamentale per la permanenza sul mercato degli operatori. Tale obiettivo può essere raggiunto solo mediante un’attenta e strategica pianificazione da parte degli organi competenti, seguita da una revisione del processo di produzione da parte dei singoli operatori, al fine di poter individuare i punti critici del sistema e apportare una razionalizzazione ed una ottimizzazione gestionale, economica e ambientale delle singole fasi del processo. Una risposta a tali esigenze può arrivare dal trasferimento al settore primario di soluzioni innovative in grado, non solo di agevolare gli attori, ma anche di facilitare il raggiungimento degli obiettivi sopra descritti. A tal proposito bisogna considerare che le soluzioni tecniche ad oggi presenti sul mercato sono sempre più il risultato dell’evoluzione dei settori dell’informatica e dell’elettronica verificatasi negli ultimi anni, e si caratterizzano per un elevato contenuto tecnologico. Tuttavia, l’impiego di strumentazio-

ni e soluzioni tecniche presenti nel mercato si sta diffondendo in maniera disorganizzata presso gli operatori e soprattutto in assenza di una metodica d’utilizzo corretta. Ciò non solo ostacola la comprensione delle effettive potenzialità del loro impiego da parte degli utilizzatori ma, in assenza di una metodologia affidabile, induce spesso nell’errore di interpretare le tecnologie disponibili come la soluzione alle diverse problematiche, più che come uno strumento per arrivare a quest’ultima.

### Agricoltura di precisione: una tecnologia alla ricerca di problemi da risolvere

L’introduzione di un’innovazione tecnologica viene di regola accompagnata da un processo che, partendo da necessità di ordine tecnico o economico, matura attraverso fasi che permettono prima la comprensione del problema e poi ne delineano l’approccio metodologico. La disponibilità di macchine e processi innovativi è di solito legata e in sincronia con i sistemi di utilizzo appropriati o almeno fortemente finalizzati al raggiungimento di obiettivi. Quando una macchina o una tecnologia nascono come risposta ad una esigenza, il risultato che ne scaturisce è sia tecnico (realizzazione della macchina) sia metodologico (strategie di utilizzo). Strumento e metodo sviluppano da un processo parallelo e interconnesso, con reciproca messa a punto. Non

è stato così per quella che appare la tecnologia che sta segnando l'agrotecnica dell'inizio del terzo millennio, la georeferenziazione precisa, in tempo reale e a basso costo. In due parole "agricoltura di precisione", o meglio "sito specifica", vale a dire quello che serve, nella quantità necessaria e solo dove e se ne vale la pena. In questo caso la messa a disposizione della sofisticata tecnologia DGPS (Differential Global Positioning System) ha anticipato la percezione dei problemi con essa potenzialmente superabili. L'ingegneria aero-spaziale ha messo a disposizione uno strumento di cui si intuisce l'enorme potenzialità, ma che fatica a trovare pratico riscontro in soluzioni applicative e non conosce allo stato attuale adeguate procedure a supporto delle decisioni. Quello che serve, nella misura adeguata e solo se economicamente conveniente: concetto semplice, ma molto complesso, specie quando si tratta di fornire decisioni con un basso livello di incertezza. In queste parole sono racchiuse le tre fondamentali fasi del processo decisionale di "agricoltura di precisione": prima capire se esiste variabilità spaziale e perché (quello che serve); poi quando, quanto e come sia opportuno intervenire (definire le modalità di applicazione); infine valutare se gli interventi siano compatibili con le finalità che si intendono perseguire. La soluzione tecnica è giunta prima della necessità di risolvere un problema, per cui gli strumenti di analisi e i percorsi decisionali risultano spesso improvvisati, comunque sempre inadeguati. Che l'utilizzo del GPS e delle attrezzature ad esso legate possa rappresentare uno strumento che imprimerà una fortissima evoluzione al modo di fare agricoltura ormai nessuno lo mette in dubbio. È facile intuire quanto possa essere dirompente ed efficace una tecnologia di questo tipo. Per le soluzioni applicative è solo questione di tempo: probabilmente tra breve ogni macchina sarà progettata per l'agricoltura sito specifica e non semplicemente adattata. Ma non è per ora altrettanto facile capire a quali strumenti di analisi e di supporto alle decisioni si potrà far ricorso. La struttura portante della prassi applicativa è apparsa subito razionalmente semplice e chiara: Rilevazione Dati-Elaborazione-Applicazioni Variabili. Processo impeccabile, semplice e condivisibile. Ma nel momento in cui si debbono sostituire alle idee i numeri tutto sembra perdere di concretezza, e rifarsi alla "esperienza dell'agronomo" rafforza il rischio di improvvisazione. Le diverse ditte costruttrici stanno proponendo soluzioni finalizzate all'esaltazione delle proprie capacità tecnologiche, ma che lasciano del tutto inesplorati gli aspetti di analisi e gestionali. Avere un preciso DGPS montato su di una mietitrebbia affidabile, con un data logger ben tarato, ci permette di rilevare

una eventuale variabilità spaziale della produzione, ma non fornisce alcuna indicazione sulla significatività dei numeri e sulle cause delle variazioni produttive. Avere uno spandiconcime facilmente tarabile e preciso nella distribuzione non fornisce alcuna indicazione sulla effettiva utilità economico-ambientale dell'applicazione variabile. Gli strumenti sono sempre più facili ed affidabili, ma è ancora troppo trascurato il processo a supporto delle decisioni.

### Le tecnologie allo studio e le applicazioni

La ricerca che si occupa di tecnologia di posizionamento applicata all'agricoltura ha preso due principali strade:

- la verifica statistica e sperimentale delle variazioni delle produzioni e la conseguente applicazione differenziata dei fattori dosabili (acqua, fertilizzanti, sementi ecc.);
- l'applicazione di automatismi che migliorino le prestazioni delle macchine in casi di utilizzo particolari.

Nel secondo caso l'utilità è spesso evidente, quantunque limitata ad applicazioni molto specifiche. È invece importante e generalmente molto attesa la messa a punto di metodologie che diano significato alle osservazioni (variabilità rilevata) e concretezza alle successive applicazioni, variabili o meno che siano.

Il primo passo è senz'altro quello di provare statisticamente la presenza di variabilità ma, fatto ciò, bisogna spiegarne l'origine, pianificare le possibili integrazioni o i risparmi di fattori produttivi, valutare gli effetti delle modifiche indotte e analizzare il tutto con la lente dell'economia dei risultati.

Fino ad ora ci si è concentrati sulla raccolta e analisi statistica delle misurazioni, pensando poi di poter individuare la causa della variabilità con analisi chimiche o valutazioni del contenuto idrico del terreno. Non è sbagliato, ma non è così semplice. È necessario valutare contemporaneamente la dinamica e le influenze reciproche di suolo, clima, genetica e pratiche colturali, e il suolo non deve essere considerato solo un contenitore di elementi chimici semplici, ma nella complessità delle interazioni chimico-fisico-pedologiche. La complessità di una analisi di questo tipo richiede un adeguato strumento informatico che funga da sistema di supporto alle decisioni agronomiche.

Attualmente esistono diversi modelli previsionali (DS-SAT, SALUS, APSIM, EPIC, CropSyst) in grado di simulare e prevedere gli effetti delle interazioni del clima, del suolo e della gestione colturali sulla produzione e qualità della resa e dell'ambiente.

Questi modelli permettono di analizzare migliaia di interazioni tra gli elementi di input, e sono quindi in

grado di analizzare le cause che hanno condotto ad una certa situazione, oppure prevedere una casistica futura, ipotizzando diversi tipi di intervento o scenari possibili. Una volta che si disponga dei dati relativi al terreno (che non cambieranno in maniera apprezzabile nel tempo), dei dati climatici (storici e stagionali) e della caratterizzazione genetica della cultivar da valutare,

si potranno confrontare a tavolino, in modo veloce ed affidabile, diverse strategie e determinarne la relativa convenienza. Si potrà operare sia in modo da ottimizzare statisticamente gli interventi, pianificandoli con anticipo, sia monitorando lo sviluppo della coltura compiendo analisi in tempo reale che permettano interventi tattici mirati.

Tali modelli compiono rapidamente il lavoro che solo anni di sperimentazione condotti sul luogo specifico potrebbero fare; in più riescono a simulare con precisione ciò che sarebbe accaduto con input diversi e le situazioni pregresse sulle quali ovviamente non si possono più condurre esperimenti, in particolare a valutazioni di carattere ambientale condotte con simulazioni su situazioni storiche o ipotesi non ancora realizzate.

La capacità di interpretare processi multifattoriali con integrazioni incrociate permette di applicare con grande profitto modelli previsionali all'agricoltura sito-specifica. Se è facile capire l'enorme potenzialità di questo supporto decisionale nell'agricoltura tradizionale, dove ogni campo è visto e trattato come un'entità mediamente omogenea, lo è ancor di più se si pensa ad applicazioni georeferenziate. Facendo girare il modello non solo con i dati medi del campo, ma con misure raccolte per aree omogenee all'interno degli appezzamenti, la precisione raggiunge livelli tali da poter definire interventi mirati e dosati per ogni singola area. Nell'ipotesi di analisi spaziali è fondamentale l'utilizzo di un adeguato GIS (Geographic Information System) che permetta di elaborare e confrontare le diverse informazioni legate ai siti. L'integrazione dei dati riguardanti la raccolta dei prodotti, alle caratteristiche del terreno, allo sviluppo vegetativo ecc., permette di definire aree con caratteristiche omogenee. Facendo girare i modelli per ogni trattamento da confrontare e per ogni area si ottengono le indicazioni per programmare gli interventi modulandoli nel modo più conveniente. Il successivo compito del GIS sarà quello di programmare le macchine utilizzate nella fase applicativa. L'accuratezza nel dosare gli interventi agronomici richiede una sempre maggiore precisione, sia a causa della riduzione del rapporto

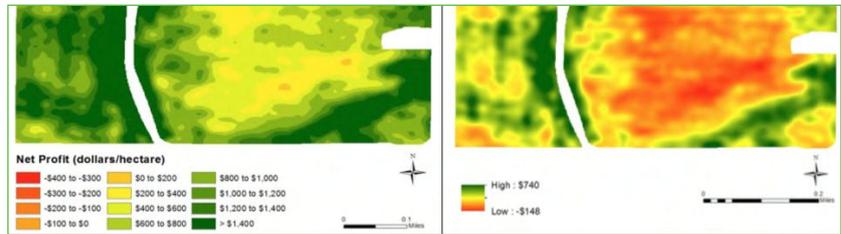


Figura 1  
 Mappa del profitto con applicazione di azoto uniforme (a);  
 mappa del profitto con applicazione di azoto in quantità variabile (b)

ricavo unitario/costo dei fattori, sia per aumentare il livello di compatibilità ambientale, esigenza non più trascurabile da parte dell'attività agricola. Agricoltura tradizionale "responsabile", agricoltura-sito specifica, agricoltura che voglia muoversi lungo la strada della sostenibilità, richiedono valutazioni tecniche che trascendono la capacità di sintesi dell'esperienza personale. Diviene necessario l'utilizzo di uno strumento come SALUS, DSSAT o altri modelli in grado di integrare molte variabili e di simularne la dinamica finalizzata alla gestione agronomica.

Le mappe di efficienza economica (Figura 1) dimostrano che con l'applicazione di tecniche di agricoltura di precisione è possibile ridurre le zone del campo in cui i bilanci economici dell'operatore agricolo sono in perdita e migliorare l'efficienza d'uso dell'azoto e dell'acqua ottimizzando l'uso dei fattori produttivi.

Lo sviluppo di uno strumento di supporto alle decisioni gestionali caratterizzato da algoritmi nuovi per la previsione del sistema suolo-pianta-atmosfera ed integrato con rilevazioni dei fattori che influenzano il processo produttivo mediante sensoristica innovativa ed efficiente, come il telerilevamento, è uno degli obiettivi principali della ricerca agronomica. Nuove società, principalmente negli Stati Uniti, stanno nascendo con la messa a punto di un sistema innovativo ed efficace di supporto alle decisioni (DSS) che assista l'agricoltore nell'interpretazione della variabilità spazio-temporale dei dati e quindi nella scelta delle soluzioni che possono essere adottate, al fine di avviare una gestione tecnicamente ed economicamente conveniente, mirante peraltro a rispettare la normativa introdotta dalla nuova Politica Agricola Comune europea.

### Benefici ambientali ed economici dell'agricoltura di precisione

L'agricoltura di precisione può avere impatto sull'agricoltura mondiale a svariati livelli e con differenti modalità in funzione del diverso livello di sviluppo economico in cui viene inserita. La letteratura scien-

tifica è concorde nell'affermare che l'agricoltura di precisione contribuisce in vari modi alla sostenibilità, confermando l'intuitiva idea che riduce la quantità di prodotti chimici applicandoli solo dove e quando essi necessitano. I benefici ambientali derivano da un uso più mirato dei prodotti chimici, una migliore efficienza oppure, nel caso dei pesticidi, alla riduzione dello sviluppo di resistenza ai vari principi attivi. Tutto questo ha effetti sulla qualità delle acque e sulla riduzione del suo consumo, sulla qualità del suolo e dell'aria, sulla mitigazione del clima e sulla questione energetica. Ad esempio è noto che le tecniche conservative di lavorazione del terreno, come la non inversione degli strati, la minima lavorazione e la non lavorazione, riducono l'erosione, aumentano la fertilità del suolo, riducono le emissioni di CO<sub>2</sub>, ottimizzano l'uso dell'acqua e possono contribuire alla mitigazione del surriscaldamento climatico dovuto all'attività antropica e all'eccessivo uso del territorio. È stato visto però che spesso ciascuna di queste tecniche trova conveniente e fruttuosa applicazione in certe condizioni pedo-climatiche, piuttosto che in altre, condizionando notevolmente il reddito dell'imprenditore. I principi dell'agricoltura di precisione applicati alle lavorazioni conservative del terreno sono in grado di mantenere inalterati i benefici ambientali, incrementare il reddito aziendale e razionalizzare l'uso delle macchine agricole. La decompattazione localizzata del terreno eseguita solamente nelle zone dove effettivamente è presente uno strato compattato, favorisce i movimenti dell'acqua e dell'aria nel suolo. Più numerosi sono gli studi sull'azoto da cui risulta, oltre l'ampia variabilità, una riduzione della lisciviazione dei nitrati fino al 75% rispetto alla distribuzione uniforme (7% da prove in Italia). I minori consumi di erbicidi e pesticidi (24% e 19% rispettivamente) favoriscono una minor inquinamento delle acque superficiali e profonde e dell'aria. L'irrigazione di precisione può razionalizzare il consumo di acqua irrigua (riduzioni del 20%) e aumentarne grandemente l'efficienza.

I benefici di natura economica derivano da una generale ottimizzazione degli interventi e da una razionalizzazione delle pratiche colturali, più che da una riduzione nell'impiego di un singolo fattore. Si tratta perciò di aspetti difficilmente monetizzabili, così come l'entità del costo che l'azienda deve sostenere per l'avvio di un diverso sistema gestionale. A rendere poco univoci i risultati concorre l'intensità con la quale la variabilità si manifesta e la propensione al rischio dell'imprenditore agricolo.

Il beneficio economico è destinato ad aumentare con l'incremento dei costi dei fattori di produzione, con la

tendenziale diminuzione degli investimenti richiesti dalla tecnologia e con la spinta delle politiche comunitarie volte a riconoscere le forme di agricolture più "sostenibili" a scapito di quelle "convenzionali".

La determinazione della qualità non sempre è semplice, soprattutto perché raramente può essere identificata attraverso limitati indicatori (proteina per i cereali e per le foraggere). In viticoltura, ad esempio, la qualità è funzione di differenti caratteristiche la cui importanza di una rispetto alle altre può differire con le varietà e con l'uso finale del prodotto. L'approccio con la qualità si concretizza in due benefici. Il primo riguarda la possibilità di testare la qualità direttamente al momento della raccolta o attraverso il telerilevamento, con l'obiettivo di selezionare il prodotto in classi che verranno presumibilmente remunerate in modo diverso. Sensori precisi e affidabili si stanno installando sulle vendemmiatrici per valutare le caratteristiche qualitative delle uve e sulle mietitrebbiatrici per valutare proteine, amido e grassi nelle granelle. Il secondo aspetto riguarda invece la possibilità di mappare la qualità per mettere a punto tecniche di coltivazione variabili, per ottimizzare le caratteristiche qualitative desiderate. Un esempio di come l'agricoltura di precisione può essere utilizzata nella sicurezza alimentare è la riduzione del livello di aflatossine nel prodotto raccolto. È noto infatti che in condizioni di stress i microrganismi fungini che producono aflatossine sono più attivi, e quindi è pensabile che con il telerilevamento si possa porre rimedio alle situazioni di stress o al limite segregare le zone più a rischio in modo tale da ridurre le contaminazioni tra granella sana e infettata. Inoltre veloci metodi per rilevare le aflatossine sono attualmente allo studio, da utilizzare o prima della raccolta attraverso bio-sensori e nasi elettronici, oppure con sensori NIRS sulle mietitrebbie durante la raccolta.

### Ruolo dell'agricoltura di precisione nelle diverse aree geo-economiche

Nelle economie sviluppate con agricoltura supportata dai governi come quelle di UE, Giappone e USA, la tendenza a massimizzare le produzioni ha portato a severi impatti ambientali. Ora, riconoscendo il bisogno sociale della gestione sostenibile del territorio, l'obiettivo dell'agricoltura si è spostato dalla massimizzazione della produzione alla produzione compatibile con l'ambiente. L'obiettivo aziendale è sempre quello di massimizzare il reddito, ma adesso anche attraverso l'aumento del valore del prodotto (qualità) e il riconoscimento economico di pratiche rispettose dell'ambiente o sanzioni per chi non gestisce in modo ambientalmente corretto l'attività agricola. La funzione dell'agricoltura di precisione in

queste zone risiede dunque in ordine di priorità nelle questioni ambientali, nel migliorare le qualità e sicurezza degli alimenti e nel garantire la tracciabilità.

Nelle economie sviluppate con agricoltura poco supportata dai governi come quelle di Australia, Nuova Zelanda, Argentina e Brasile, a causa della dipendenza dalle esportazioni agricole, l'accento si pone sul vantaggio competitivo e sulla quantità e qualità delle produzioni, piuttosto che sull'ambiente. Questi Paesi, per l'elevata dimensione degli appezzamenti hanno, almeno all'inizio, un grande potenziale di diffusione dell'agricoltura di precisione, i cui obiettivi sono essenzialmente il profitto e la qualità abbinata alla tracciabilità.

Nelle economie in via di sviluppo con piantagioni (molti Paesi del terzo mondo) le tecnologie applicate, non eccessivamente costose, sono i sistemi di mappatura delle produzioni finalizzate al miglioramento della qualità, considerato l'alto valore delle colture, e alla tracciabilità delle produzioni per uniformarle agli standard dei Paesi europei.

Nei Paesi più poveri si pensa che l'agricoltura di precisione sia difficile da applicare. In effetti i benefici sono insufficienti per giustificare i costi. Tuttavia i principi di base dell'agricoltura di precisione possono essere visti come essenziali per accelerare lo sviluppo, anche se utilizzati in forme diverse da come vengono applicate nei Paesi sviluppati. È difficile quantificare il valore dell'informazione, ma gli errori che si possono evitare hanno portata rilevante. Avere informazioni sito-specifiche riduce la possibilità di errore causata dall'ignoranza e dalla non conoscenza dell'esistenza di aree significativamente variabili. In queste regioni il primo passo per migliorare la gestione delle risorse

(acqua) è quello di migliorare l'informazione e i sistemi di gestione dell'informazione. Se su scala nazionale e regionale esistono dati per decisioni strategiche, su scala locale gli alti costi e la mancanza di meccanizzazione impediscono l'uso di sofisticate tecnologie, ma l'obiettivo al momento attuale è quello di applicare semplici sistemi di supporto alle decisioni per ridurre le incertezze ed evitare gli errori. Ad esempio, in alcuni Paesi dove la coltivazione del caffè è in crisi, l'obiettivo è di trovare le zone di migliore produzione e gestirle meglio; nelle zone di scarsa produzione si cercheranno altre colture che abbiano una maggiore efficienza. Stesse considerazioni si possono fare per le colture da bioenergia, in cui l'agricoltura di precisione ottimizza le coltivazioni in relazione alle caratteristiche pedoclimatiche della zona e ne razionalizza energeticamente tecniche.

### Conclusione

In definitiva, l'agricoltura di precisione non è la soluzione per tutti i mali, ma si dimostra uno strumento flessibile e potente per risolvere problemi definiti e circoscritti di qualsiasi regione del globo. L'agricoltura di precisione è anche adattabile a tutte le altre forme di agricoltura proponibili come quella biologica, quella multifunzionale, le coltivazioni per la produzione di biocombustibili, la mitigazione dei cambiamenti climatici, l'agricoltura di sussistenza e così via, perché ne valorizza e razionalizza le finalità. Infine, prima di essere un insieme di tecnologie, è uno stile di gestione e un modo di pensare per affrontare qualsiasi tipo di problema, perché valorizza le conoscenze e ottimizza la razionale gestione delle risorse.

Bruno Basso

Michigan State University, East Lansing, USA



## Intervista a Gianfranco Bologna, Direttore Scientifico WWF Italia

A cura di Maura Liberatori



L'uso di acqua e fertilizzanti, migliorare la difesa fitosanitaria e avere piante meno esigenti sono elementi chiave per nutrire il mondo nei prossimi decenni. Ne parliamo con Gianfranco Bologna, direttore scientifico del WWF Italia.

### **Affrontare questi temi significa incidere su aspetti economici, sociali, culturali, tecnologici e di governance a livello globale; come metterli insieme?**

Il tema fondamentale da affrontare per il futuro è che l'agricoltura deve essere armonizzata con gli equilibri dinamici dei sistemi naturali, con la loro resilienza; non deve essere più considerata un sistema industriale-produttivo "staccato" dalla natura come ha anche chiaramente indicato l'autorevole International Assessment of Agricultural Knowledge, Science and Technology for Development (IAASTD) patrocinato dalle Nazioni Unite e pubblicato nel 2009. Oggi siamo oltre 7,2 miliardi di abitanti sulla Terra e secondo l'ultimo Population Prospect dell'ONU nel 2050 saremo, secondo la variante media, 9,6 miliardi. Già oggi più del 50% della popolazione mondiale vive in aree urbane e nel 2050 la popolazione globale urbana potrebbe raggiungere i 6 miliardi. Oggi se escludiamo Groenlandia e Antartide, coltiva-

mo il 38% delle terre emerse e abbiamo già fisicamente trasformato il 50% della superficie delle terre emerse. La strada di un'agricoltura intensiva che dilapida acqua, energia e trasforma pesantemente ambienti naturali distruggendo la biodiversità, la ricchezza della vita sulla Terra, non è più una strada praticabile. Dobbiamo imparare a eliminare gli sprechi, il cui reale recupero basterebbe ad alimentare una parte significativa della popolazione mondiale; a ridurre significativamente l'uso dell'acqua per l'irrigazione, quello della carne (per ottenere un chilo di carne di manzo si necessita di 15 kg di cereali e soia e 15.000 litri di acqua); a diversificare le colture; a conservare il suolo e la sua biodiversità; a migliorare le economie rurali negli ambienti più degradati; a riprendere le sementi tradizionali e locali. Senza un'agricoltura sostenibile non avremo futuro.

### **E quanto è difficile nel confronto tra decisori separare i dati dalle opinioni, le visioni politiche dai fatti?**

Qui non si tratta di ideologie o visioni politiche particolari, si tratta di avere la corretta informazione e conoscenza dello stato di profonda modificazione che hanno subito i sistemi naturali sulla Terra a causa della nostra continua e crescente pressione ed oggi le migliori e più avanzate

ricerche sul Global Environmental Change (GEC) ce le forniscono in maniera ampia e dettagliata, basti vedere l'insieme dei grandi programmi internazionali di ricerca, "Future Earth, Research for Global Sustainability", patrocinati dall'International Council for Science (ICSU).

**Le istituzioni preposte (FAO, EU, Ministeri, associazioni di settore, imprese, enti di ricerca, think thank ecc.), non sempre condividono la diagnosi e quasi mai la terapia, almeno nelle azioni concrete, lasciando nella più totale incertezza la pubblica opinione che su questi temi manifesta un livello di preoccupazione crescente, senza però incidere significativamente. Secondo Lei, la scienza riesce ancora ad informare le decisioni politiche su questi temi strategici?**

Non sono d'accordo. Oggi le conclusioni alle quali giungono i più autorevoli rapporti scientifici pubblicati da prestigiose accademie scientifiche (penso, ad esempio, alla National Academy of Sciences statunitense o alla Royal Society britannica), quelli delle organizzazioni delle Nazioni Unite (come ad esempio i Global Environment Outlook dell'UNEP), quelli dei grandi programmi internazionali di ricerca sui cambiamenti globali (compreso l'IPCC per i cambiamenti climatici) ecc. forniscono una massa ingente di dati che dimostrano inequivocabilmente che la pressione umana agisce sui sistemi naturali della Terra con un impatto tale che può essere paragonato agli effetti prodotti dalle grandi forze geofisiche che hanno modificato il pianeta nell'arco di tutta la sua vita di 4,6 miliardi di anni. Non è un caso che nell'ambito dell'International Union of Geological Sciences un apposito gruppo di lavoro della International Commission on Stratigraphy sta lavorando alacremente per decidere (decisione prevista per il 2016) se inserire nel Geological Time Scale ufficiale della storia della Terra, un nuovo periodo geologico definito Antropocene (al quale è stata dedicata la copertina di uno degli ultimi numeri della prestigiosa rivista scientifica *Nature*) a dimostrazione proprio del riconoscimento della pervasività e della gravità dell'impatto umano sugli equilibri dinamici della natura. Esiste certamente un problema di come far sì che la conoscenza scientifica possa incidere meglio sulle decisioni politiche ma va ricordato che è presente ancora una diffusa cultura umana irrazionale ed antiscientifica che nega l'evoluzione e i cambiamenti climatici e che si nutre di visio-

ni "tribali" di appartenenza a gruppi religiosi o politici con visioni ideologiche assolutistiche. Invito tutti a leggere lo splendido ultimo libro del grande biologo Edward Wilson "Il significato dell'esistenza umana" (Codice Edizioni, 2015).

**Nel libro di Lester R. Brown, presidente dell'Earth Policy Institute di Washington DC, "9 miliardi di posti a tavola" si afferma tra le altre cose che "il cibo è l'anello debole della nostra società e rischia quindi di diventare un importante fattore di instabilità politica", il testo in generale presenta una visione molto pessimistica. Lei ne condivide analisi e conclusioni?**

Sono amico di Lester Brown sin dalla fine degli anni Settanta e sono il curatore delle edizioni italiane di numerosi volumi che ha scritto, compreso "9 miliardi di posti a tavola". Condivido in pieno da sempre la sua analisi che, ripeto rifacendomi a quanto già detto precedentemente, è saldamente basata sulle migliori conoscenze scientifiche che derivano dalle ricerche sul cambiamento globale. Non si tratta di essere pessimisti ma realisti. Il realismo ci dovrebbe aiutare ad affrontare seriamente i problemi e ad avere la visione dell'estrema necessità di far leva sulle nostre migliori capacità di innovazione, creatività e cambiamento necessari a risolvere queste sfide epocali.

**Produzioni biologiche e biotecnologie richiedono ricerca, aggiornamento del sapere dei consumatori e del saper fare degli operatori agricoli, risorse pubbliche e private per affermarsi in termini di sostenibilità ambientale, socio-economica e di salubrità. Pensa che si arriverà mai a sostenerne la piena legittimità delle conoscenze e tecnologie a disposizione nei diversi ambiti di impiego?**

Credo che la conoscenza e la ricerca possono solo migliorare la dimensione umana purché la nostra società comprenda seriamente la necessità di entrare in una fase di Lifelong Learning che deve riguardare tutti indistintamente. La complessità della realtà che ci circonda non può essere parcellizzata, disgiunta, separata come siamo abituati a fare nelle tradizionali modalità di formazione. La sfida che abbiamo di fronte è essere sempre più capaci di connettere. Abbiamo bisogno di un'educazione all'apprendimento innovativo continuo.

# L'Enea per...

ENEA per EXPO 2015



## Gestire in modo efficiente gli input chimici ed energetici in agricoltura, riducendo l'inquinamento ambientale

*M. R. Rapagnani, M. Cristofaro, A. Letardi*

La produzione di alimenti ottenuta con l'approccio convenzionale dell'agricoltura, così come intesa posteriormente all'introduzione della meccanizzazione e della chimica di sintesi largamente basata sui combustibili fossili e i loro derivati, ha sempre più mostrato nel tempo i suoi limiti economici ed ecologici.

Nonostante il nostro paese, tra quelli dell'Europa occidentale, sia tuttora il maggior consumatore di pesticidi per unità di superficie coltivata, con valori doppi rispetto a quelli della Francia e della Germania, la maggior parte dei Piani di Sviluppo Regionale (PSR) continuano a mostrare una scarsa tendenza a promuovere approcci gestionali di maggiore sostenibilità degli agroecosistemi. L'esperienza, sviluppatasi negli anni, nel settore della valutazione dell'effetto dei pesticidi nei confronti dell'ambiente

e della salute pubblica si è recentemente incontrata con la sempre maggiore attenzione a livello europeo su queste problematiche.

La nuova strategia europea sui pesticidi ha come obiettivo principale la riduzione dei rischi per la salute, l'ambiente e la biodiversità attraverso una riduzione e razionalizzazione dell'uso dei prodotti fitosanitari, sia in ambito agricolo che extra-agricolo. In questo quadro comunitario rientra la direttiva 2009/128/CE sull'uso sostenibile dei pesticidi, recepita in Italia con il Decreto Legislativo 14 agosto 2012, n. 150 e con il Decreto Ministeriale 22 gennaio 2014 che istituisce un Piano d'Azione Nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (PAN).

Il PAN, entrato in vigore il 13 febbraio 2014, fornisce indicazioni dettagliate sulle azioni specifiche da porre in

atto per il raggiungimento degli obiettivi indicati dalla direttiva comunitaria. Tali azioni riguardano, in particolare, la formazione degli utilizzatori professionali, dei rivenditori e dei consulenti; la tutela dell'ambiente acquatico e dell'acqua potabile e nuovi criteri di utilizzo dei prodotti fitosanitari in aree specifiche che comprendono aree extra-agricole (rete ferroviaria e stradale e aree frequentate dalla popolazione) e aree naturali nelle quali è presente un'attività agricola (siti Natura 2000 e aree naturali protette).

Nel PAN vengono inoltre declinate altre misure che riguardano: l'attuazione della difesa integrata obbligatoria, entrata in vigore il 1 gennaio 2014, ai sensi del Decreto Legislativo n. 150 del 2012, e della difesa integrata su base volontaria (secondo disciplinari di produzione), la promozione dei metodi di difesa alternativi ai prodotti fitosanitari, il controllo funzionale obbligatorio delle macchine

irroratrici e l'applicazione di norme specifiche sullo stoccaggio aziendale dei prodotti fitosanitari.

Il PAN è stato elaborato dal Consiglio tecnico-scientifico sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, istituito il 22 luglio 2013 ai sensi del Decreto Legislativo 150 del 2012, del quale fanno parte l'ENEA, con ISPRA e CNR, i rappresentanti dei Ministeri delle Politiche agricole, alimentari e forestali, dell'Ambiente e della tutela del territorio e del mare, della Salute, dello Sviluppo economico, nonché degli Assessorati agricoltura e ambiente delle Regioni. Ad esso è anche affidata la programmazione e l'elaborazione di linee guida per l'applicazione ed il controllo delle misure previste dal PAN.

*Per approfondimenti:* [mariarita.rapagnani@enea.it](mailto:mariarita.rapagnani@enea.it)

**Maria Rita Rapagnani, Massimo Cristofaro, Agostino Letardi**  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agroindustriale, Laboratorio Gestione Sostenibile degli Agroecosistemi



# Le risorse genetiche vegetali per la sostenibilità delle produzioni agroindustriali

L. Bacchetta, A. Del Fiore, B. Di Giovanni, L. M. Padovani, C. Santi, V. Tolaini, C. Tronci

La conoscenza della diversità genetica nelle specie coltivate, intesa anche in termini di variabilità intra-specifica, riveste un ruolo cruciale per la sostenibilità dei sistemi agricoli. Cultivars/varietà adattate all'ambiente di coltivazione, soprattutto in aziende ad alto grado di diversificazione colturale, consentono un utilizzo razionale ed ottimale delle risorse disponibili, richiedendo notoriamente minori input chimici. L'interesse europeo verso le 'crop wild relatives' ossia i progenitori selvatici delle specie coltivate che hanno un'utilità derivata dalle loro relazioni filogenetiche, nasce proprio per le potenzialità che offrono al miglioramento genetico in risposta alle emergenze dovute a stress biotici e abiotici, ma anche alle richieste di ampliamento del patrimonio varietale. Nelle specie frutticole, inoltre, la selezione clonale consente di valorizzare la variabilità intra-specifica che contraddistingue le varietà-popolazione, ben adattate all'ambiente di coltivazione. In tale contesto, l'accesso ai dati relativi alla caratterizzazione biochimica e alle caratteristiche nutraceutiche delle specie coltivate può meglio indirizzare le scelte varietali, incontrando la sensibilità dei consumatori e dell'industria di trasformazione verso cibi funzionali che coniugano la funzione nutritiva agli effetti benefici sulla salute. Su queste tematiche l'ENEA è impegnata da diversi anni nello sviluppo di metodologie volte alla valorizzazione del germoplasma locale che possono di essere di ausilio per le scelte colturali, per l'innovazione dei sistemi produttivi tradizionali e per un miglior utilizzo del prodotto finale. *In particolare, il recupero, la caratterizzazione e conservazione dell'agrobiodiversità sono obiettivi prioritari dell'Unione europea nell'ambito di strategie volte a preservare le risorse genetiche ritenute fondamentali per lo sviluppo sostenibile, il sostegno della comunità, per incoraggiare una equilibrata crescita economica* (Bacchetta et al. 2009). Attraverso una ricerca presso le aziende corilicole in aree tradizionali europee di produzione, è stato possibile selezionare ecotipi conservati 'on farm' adatti al consumo fresco e all'industria dolciaria, o anche genotipi in grado di anticipare la maturazione.

La Figura 1 mostra il numero di genotipi pre-selezionati e il numero di nuovi genotipi ottenuti dalla valutazione con marcatori molecolari che possono rappresentare una valida alternativa per gli impianti a livello locale.

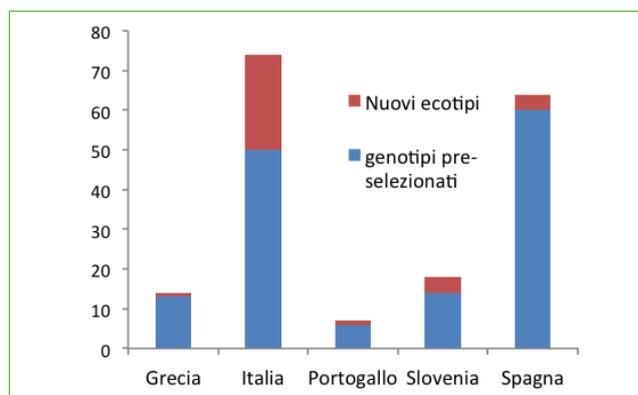


Figura 1  
Nuovi 'ecotipi' di nocciolo valutati con marcatori molecolari SSR. Progetto Europeo AGRI GEN RES SAFENUT

La Figura 2 mostra ecotipi reperiti nel Lazio. Nell'ambito della frutta secca, la nocciola riveste un ruolo importante per la nutrizione e la salute umana grazie alla sua favorevole composizione in nutrienti e nutraceutici. I dati nutrizionali del nocciolo ci indicano che questo alimento è un cibo altamente energetico, ricco in grassi monoinsaturi e proteine che rappresentano una valida sorgente di fibra, di fito-nutrienti e di antiossidanti come la vitamina E.



Figura 2  
Nocciola Lunga di Ronciglione e Nocciola precoce selezionate nella Regione Lazio

La Figura 3 mostra la variabilità del contenuto in acidi grassi totali, in acido oleico e Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferolo) di un campione di 75 varietà europee di nocciolo. Particolarmente benefica per la nostra salute appare la componente antiossidante della nocciola (polifenoli e fitoestrogeni), in grado di contrastare disordini cardiovascolari e infiammazioni.

l'implementazione di attività relative alla conservazione, l'uso sostenibile e la condivisione di benefici derivati dal loro utilizzo.

Il database realizzato è accessibile agli interessati tramite il portale <http://safenut.casaccia.enea.it/db/>. Tale metodologia è stata applicata anche ad altre colture di importanza economica come il mandorlo, diverse specie di

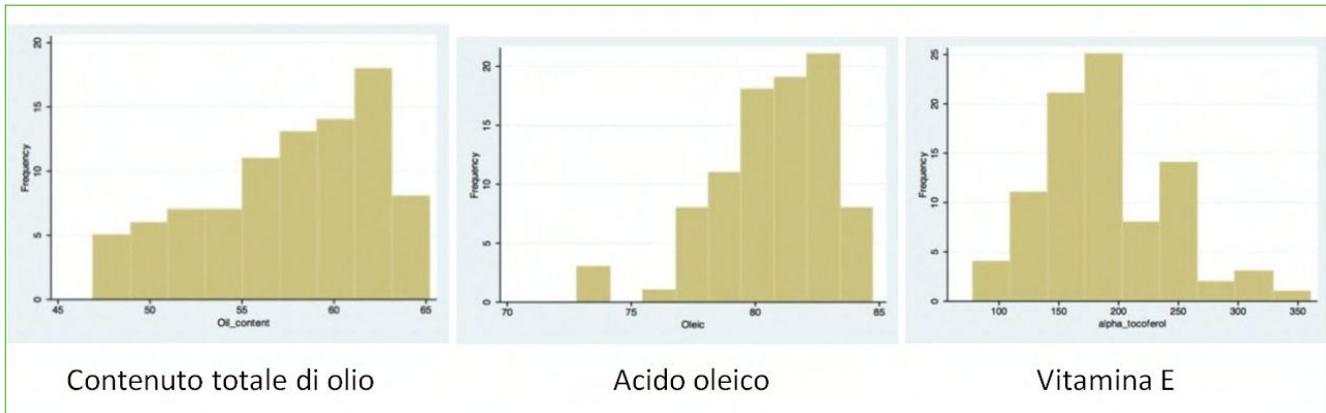


Figura 3  
Variabilità del contenuto totale di acidi grassi, acido oleico e vitamina E in 75 varietà europee di nocciolo

Un recente studio ENEA, in collaborazione con l'Università degli Studi di Roma di Tor Vergata, ha valutato l'effetto di una dieta arricchita di nocciole sul metabolismo umano. Le analisi statistiche sui dati ematici di 24 volontari sani che hanno assunto 40 g di nocciole al giorno per 6 settimane, hanno confermato una chiara variazione del profilo lipidico con diminuzione significativa della componente LDL, senza un incremento del peso corporeo. La necessità di rendere fruibili le informazioni ottenute da tali attività di ricerca, è specificamente riconosciuta nella Convenzione sulla Diversità Biologica (articoli 7d e 17). A tal fine, quindi, l'ENEA ha coordinato lo sviluppo di un database per la diffusione dei dati agli utenti e per promuovere la pianificazione e

*Brassica* e, di recente, a specie fitoalimurgiche. Una strategia olistica e integrata può creare quindi le condizioni più propizie per recuperare, mantenere ed utilizzare, in modo sostenibile e secondo modelli di economia circolare e di innovazione continua, le potenzialità di sistemi vegetali (anche sottoprodotti e scarti) per lo sviluppo di nuove filiere di interesse economico e sociale attraverso processi innovativi e a basso impatto ambientale, in linea con la strategia europea al 2020 che conferisce un ruolo prioritario allo sviluppo della bio-economia.

Per approfondimenti: [loretta.bacchetta@enea.it](mailto:loretta.bacchetta@enea.it)

Loretta Bacchetta, Antonella Del Fiore, Barbara Di Giovanni, Laura Maria Padovani, Chiara Santi, Valentina Tolaini, Carlo Tronci  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agroindustriale

# Acqua e agricoltura: un rapporto che deve cambiare

R. Farina

Nella classifica dei primi dieci rischi globali in termini di impatto analizzati dal *Global Risks Report 2015* del World Economic Forum, la “crisi dell’acqua” è al primo posto come intensità di impatto: ciò è comprensibile in quanto dall’acqua dipendono non solo gran parte della vita sulla Terra, ma anche molte delle attività economiche. Per questo motivo è indispensabile tutelarla e utilizzarla in modo sempre più efficiente e sostenibile.

La domanda di acqua può essere suddivisa in quattro grandi settori: agricoltura, industria, energia e urbano.

L’agricoltura rappresenta nel mondo il primo utilizzatore di acqua, con un consumo di circa il 70% del totale prelevato. In Europa, con molte distinzioni tra i Paesi del Mediterraneo e quelli del Nord Europa, la situazione è differente, in quanto l’agricoltura pesa “solo” per il 40% dei prelievi totali. Questo è dovuto non solo alle condizioni climatiche più favorevoli rispetto ad altre aree geografiche, ma anche ad una maggiore incidenza dei consumi di acqua per gli altri settori economici.

Queste grandi richieste dell’agricoltura sono legate alla necessità di irrigazione delle coltivazioni per l’alimentazione umana, ma soprattutto per quella animale. Le previsioni per il futuro indicano come nel 2050 ci sarà una maggiore domanda di cibo del 70%, che richiederà almeno un eguale incremento dei consumi idrici.

Questo trend dei consumi si potrà forse sostenere per il 2050, ma non sicuramente per il 2100. Tutte le proiezioni demografiche indicano inoltre che, grazie alla meccanizzazione agricola e ai miglioramenti delle tecniche agronomiche e di selezione delle sementi, la richiesta di lavoratori in quelle aree sarà sempre minore, mentre aumenterà considerevolmente la domanda di energia. Questo determinerà uno spostamento delle popolazioni rurali verso le città. Nel 2007, per la prima volta nella storia, gli abitanti delle città hanno superato quelli delle campagne.

Questa urbanizzazione creerà il problema di una maggiore concentrazione di richieste, sia per i fabbisogni umani sia per quelli agricoli, al quale si andrà ad aggiungere quello della gestione dei reflui. Ciò comporterà che le acque dovranno essere prelevate da falde profonde, o portate da lontano, con un ulteriore incremento dei costi energetici per il loro pompaggio.

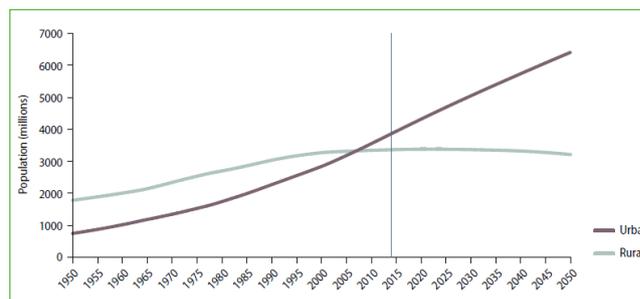


Figura 1

Previsione dell’andamento della popolazione urbana e rurale fino al 2050  
Fonte: UN World Urbanization Prospects, 2014 Revision

È indispensabile perciò trovare delle soluzioni che siano ambientalmente e socialmente sostenibili.

È necessario rivedere il ciclo “antropico” delle acque rendendolo più efficiente e passare da un approccio del *prelievo-uso-scarico* ad uno di chiusura del ciclo, dove l’acqua viene usata più volte e magari da più utilizzatori prima di essere rilasciata nuovamente nell’ambiente, dopo adeguati trattamenti depurativi.

Fino ad oggi l’obiettivo che ci si prefiggeva nel trattamento delle acque era quello di rimuovere gli inquinanti per la maggior parte possibile, al fine di prevenire quei fenomeni di inquinamento quali, ad esempio, l’eutrofizzazione, che in Italia hanno avuto grande impatto durante gli anni 80 e 90 del secolo scorso, e che oggi sono quasi scomparsi dalle nostre acque naturali. Questi fenomeni erano legati al rilascio di sostanze nutritive liberate in ambiente in maniera incontrollata che, invece, nelle dovute quantità e nel dovuto tempo, rappresentano un ottimo sostituto dei fertilizzanti agricoli. In questo modo si possono ridurre i prelievi di fosforo dalle miniere, che le ultime proiezioni statistiche danno in esaurimento nei prossimi 20-30 anni, e di azoto che, pur essendo abbondante in atmosfera, richiede per la sua trasformazione in fertilizzante una quantità di energia estremamente elevata. L’approccio alla risoluzione di questi problemi è legato alla peculiarità delle aree e dei sistemi nei quali si opera. Intervenire nel mondo occidentale è abbastanza semplice: qui il limite è dato dalla disponibilità di tecnologie e dai conti economici. Operare, invece, in altre realtà quali le cit-

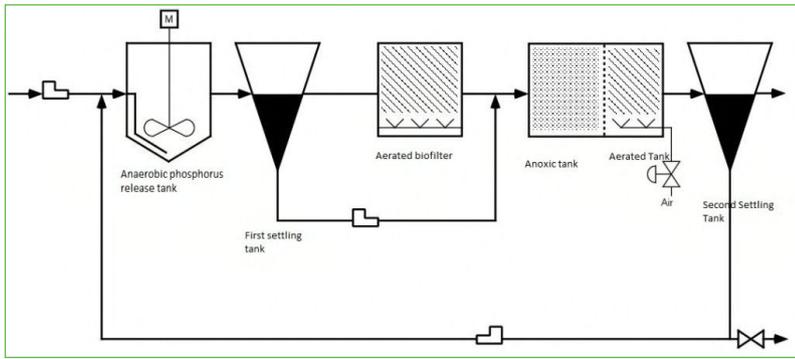


Figura 2

Schema di processo Dephanox per il recupero biologico del fosforo

Fonte: <http://act-clean.eu/index.php/DEPHANOX-a-process-for-the-contemporary-biol/100.457/1>

tà dell’Africa, del Medio Oriente o dell’America latina, dove la disponibilità di energia può essere limitata a poche ore al giorno, dove non esistono adeguati sistemi di trattamento delle acque reflue e dove i fiumi hanno un regime torrentizio e nel periodo secco sono alimentati solo dai reflui urbani spesso non trattati delle città, richiede soluzioni completamente diverse.

L’Unità Tecnica Modelli, Metodi e Tecnologie per le Valutazioni Ambientali dell’ENEA opera, da diversi anni, nel settore della gestione della risorsa idrica, studiando tecnologie di gestione e trattamento a fine depurativo adeguate alle normative e sempre più efficienti, con lo scopo di rendere le acque trattate più direttamente utilizzabili in agricoltura, sia nei Paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo.

Per questo motivo, l’ENEA sta promuovendo, insieme ad altri enti di ricerca europei, un modello di integrazione tra le acque reflue trattate di origine urbana e il mondo dell’agricoltura che permetta, da un lato di renderle riutilizzabili in agricoltura per la crescita delle piante che serviranno per produzioni *food* e *non-food*, foraggi e usi agricoli vari, dall’altro di effettuare un “servizio ecosistemico”, cioè un ulteriore finissaggio dell’acqua, prima che questa venga rilasciata in ambiente o utilizzata per la ricarica naturale delle falde.

È in questo ambito che l’ENEA ha brevettato un sistema biologico per la rimozione del fosforo dalle acque reflue, il cui ciclo viene presentato schematicamente in Figura 2.

Durante le fasi di sperimentazione di questa tecnologia, adatta a tutti quei reflui civili o industriali che richiedono la rimozione di questo elemento, i ricercatori dell’ENEA hanno identificato alcuni batteri in grado di accumulare fosforo al loro interno e di produrre una categoria di molecole – i polioidrossialcanoati – di grande interesse per la produzione delle bioplastiche.

Questo tipo di tecnologia però è applicabile in situazioni dove il processo può essere mantenuto in condizioni opera-

tive costanti e ben controllate, quali quelle di un impianto di depurazione europeo. In situazioni particolari, però, dove l’energia non è sempre disponibile, e dove il processo non è facilmente controllabile, le tecniche sono diverse, più semplici, ma ugualmente efficaci.

Nell’ambito del programma europeo SWIM (Sustainable Water Integrated Management), indirizzato alla gestione sostenibile delle acque nei Paesi del Medio Oriente e del Nord Africa, l’ENEA, in collaborazione con il GIZ che coordina il

progetto Sustain Water Med, sta partecipando a un sistema



Figura 3

Esempio di *diverting toilet*, modello indiano installato in Marocco

Fonte: foto dell’autore

di gestione integrata delle acque reflue di origine civile in piccoli villaggi rurali del Marocco, dove nelle abitazioni sono state installate delle *diverting toilettes*, un particolare tipo di WC che permette di raccogliere separatamente feci e urine. In questi bagni, le feci sono lasciate maturare per almeno sei mesi, per essere poi utilizzate come ammendante in campo. Le urine, invece, opportunamente raccolte e lasciate maturare, vengono utilizzate anch’esse in campo come concime fosfo-azotato. I risultati sono stati così incoraggianti che è stata realizzata una piccola fabbrica per la produzione delle *toilettes*, e l’eccesso di fertilizzante viene venduto a chi non ancora dispone di questa tecnologia.

In altri casi, soprattutto in presenza di animali stabulati, le deiezioni animali e gli scarti alimentari e agricoli vengono avviati ad un semplice digestore anaerobico di tipo cinese, dal quale si può raccogliere quotidianamente una quantità di gas sufficiente per la cottura del cibo.

Per approfondimenti: roberto.farina@enea.it

Roberto Farina

ENEA, Unità Tecnica Modelli, Metodi e Tecnologie per le Valutazioni Ambientali



# L'utilizzo della pollina per la riduzione dell'impatto ambientale

A. Dall'Ara, S. Sangiorgi, M. T. la Peruta

L'utilizzo di sottoprodotti di allevamenti come la pollina, ottenuta dalle deiezioni degli allevamenti avicoli, in sostituzione di formulati chimici, genera benefici di natura economica ma soprattutto di impatto ambientale. Oggetto di questo contributo è l'utilizzo della pollina nel ciclo della concia delle pelli e in quello della produzione di fertilizzanti.

Le normative ambientali di riferimento in materia di industria conciaria in Europa comprendono la Prevenzione e riduzione integrate dell'inquinamento (IPPC) (96/61/CE), la direttiva quadro sulle acque (2000/60/CE) e il regolamento REACH. Al fine di mantenere la competitività nel mercato globale, i produttori di cuoio europei devono sfruttare le materie prime in modo più efficiente ed eliminare dai processi industriali gli impatti negativi dei rifiuti. Le materie prime necessarie per i processi di conceria generano rifiuti che attualmente hanno un notevole impatto ambientale ed economico. L'impatto del settore conciario è considerevole. Si stima che la protezione dell'ambiente costi all'industria circa il 5% di tutti i costi operativi. Per questo, in conformità con i piani di gestione dei bacini idrografici della direttiva quadro sulle acque, le aziende conciarie devono tenere in considerazione misure per ridurre l'inquinamento delle acque e adottare azioni concrete per mantenere il buono stato ecologico dei corsi.

Parallelamente, gli allevamenti avicoli intensivi hanno problemi di impatto ambientale legato ai rifiuti prodotti, in modo particolare alla gestione e allo smaltimento della pollina.

Il progetto PODEBA, coordinato dall'Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali Faenza dell'ENEA, si rivolge alle concerie europee e agli allevamenti intensivi di galline ovaiole.

Il progetto, che dimostra l'uso di una tecnologia innovativa nella fase di macerazione del ciclo di concia, è stato cofinanziato dall'Unione europea nell'ambito del programma Life+, il principale strumento finanziario dell'Unione per l'ambiente. Partner del progetto sono le aziende italiane Colortex SpA e AMEK Scrl, e la spagnola INESCOP.

PODEBA ha avuto come obiettivo la dimostrazione dell'uso di un materiale innovativo, un prodotto tecnico ottenuto da un rifiuto riciclato (pollina) per la fase di macerazione del processo di concia delle pelli, per la produzione di nuovi prodotti in pelle caratterizzati da un profilo di eco-sostenibilità significativamente superiore. Il prodotto tecnico PODEBA è naturale e sostenibile ed è in grado di fornire gli stessi risultati delle tecniche tradizionali di macerazione, e allo stesso tempo abbattere l'impatto ambientale delle concerie e ridurre gli input chimici ed energetici.

Le deiezioni di uccelli sono state storicamente utilizzate durante la fase di macerazione di pellami per renderli morbidi e adatti al successivo processo di concia; le pelli grezze venivano immerse in una sospensione calda di queste deiezioni, che erano presenti in cumuli nelle concerie, causando emissioni maleodoranti. L'efficacia di tali deiezioni animali deriva da enzimi proteolitici ivi contenuti.

Il carattere innovativo del prodotto tecnico sviluppato nell'ambito del progetto PODEBA è collegato ad un trattamento con una miscela di principi attivi vegetali (VAP, tutelato da brevetto europeo) che ha permesso l'eliminazione del cattivo odore.

I formulati chimici per la macerazione sono largamente usati, principalmente per la loro stabilità chimica, i bassi costi e la buona riuscita del prodotto, ma il loro impiego desta crescenti preoccupazioni a causa dell'elevato contenuto di ammonio e della scarsa biodegradabilità. Infatti, la fase di macerazione del cuoio grezzo è quella che genera la maggior parte del carico di ammonio presente nei reflui della lavorazione delle pelli.

I risultati del lavoro del nuovo agente macerante hanno soddisfatto le aspettative iniziali.

Il prodotto tecnico ottenuto ha mostrato una buona efficacia come agente macerante, con un'attività proteolitica congrua allo standard necessario durante la macerazione delle pelli. Sia a livello di laboratorio che semi-industriale, il progetto ha mostrato l'applicabilità di questa tecnica, in termini di qualità del

prodotto finale e di riduzione dell'impatto ambientale: le pelli finite non presentano alcun odore e appaiono del tutto simili a quelle ottenute con metodi tradizionali.

All'inizio del progetto è stato condotto uno studio sulle caratteristiche enzimatiche delle deiezioni avicole, adatte alla specifica applicazione innovativa alla fase di concia, ed è stato dimostrato un trattamento innovativo in grado di deodorare le deiezioni avicole e accelerare il processo di maturazione del materiale di scarto. Sono state inoltre effettuate caratterizzazioni chimico-fisiche e test microbiologici per accertare l'assenza di rischio biologico per gli operatori.

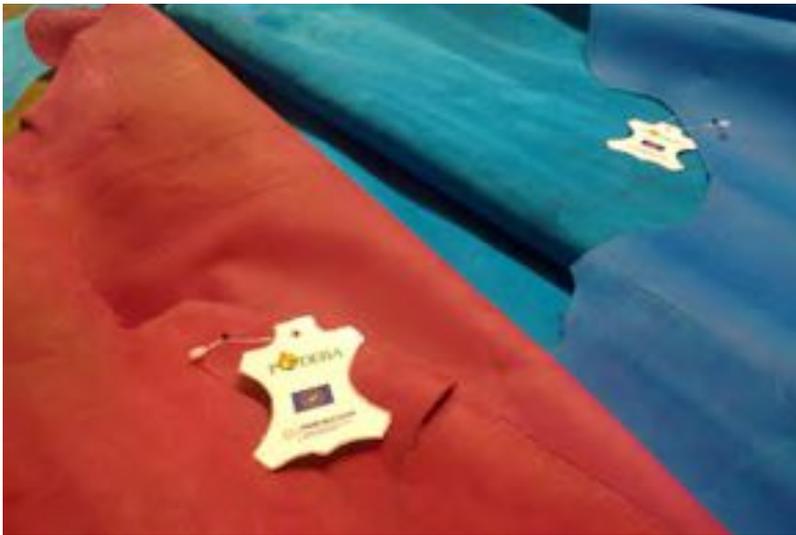


Figura 1  
Campioni di pelli prodotte con il metodo PODEBA

Oltre a rappresentare un caso di simbiosi industriale (rifiuto di un settore che diventa risorsa per un altro), questo nuovo procedimento genera benefici sia economici che per l'ambiente:

- per l'allevatore di polli: la pollina diventa risorsa

da vendere piuttosto che scarto da smaltire, con conseguente guadagno economico (risparmio sui costi di smaltimento e aumento dei ricavi dalla vendita delle deiezioni alle concerie);

- per la conceria: risparmio sul costo dell'agente macerante (circa il 30% in meno) e sul costo del trattamento delle acque reflue (40% in meno di azotati e 80% in meno di solfuri);
- per i produttori di manufatti in pelle: possibilità di ampliare i loro mercati con prodotti "green";
- per i consumatori: minor impiego di sostanze tossiche nei prodotti acquistati.

Test di laboratorio e prove pre-industriali sulla caratterizzazione tecnica e fisica delle pelli macerate col metodo PODEBA hanno dimostrato che la loro qualità è conforme ai valori consigliati per la produzione di calzature, indumenti, accessori, arredi e agli standard Eco-Label per la produzione di calzature. I campioni ottenuti hanno un aspetto adeguato, pienezza e fermezza. La qualità delle pelli prodotte è notevole e esattamente paragonabile ai tradizionali articoli prodotti con processi standard, anche superiori nel caso di pelli particolarmente delicate. Sempre nel campo dello smaltimento delle eccedenze di pollina negli allevamenti avicoli, un contributo innovativo viene dal progetto FERPODE

(cofinanziato dall'Unione Europea nell'ambito di "Progetti pilota e progetti di prima applicazione commerciale nel campo dell'innovazione e dell'eco-innovazione" - Cip Eco-innovation), nato allo scopo di porre sul mercato un nuovo fertilizzante organico di alta qualità, ottenuto da un uso combinato di deiezioni avicole - appunto la pollina di ovaiole - e principi attivi vegetali (PAV, brevetto europeo di un'azienda italiana).

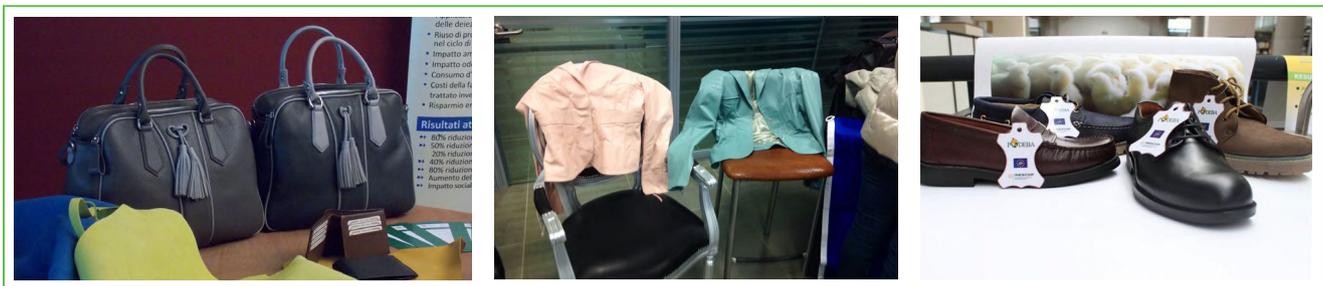


Figure 2-3-4  
Articoli in pelle realizzati con il metodo PODEBA



Figura 5  
Peperoni concimati col fertilizzante FERPODE (sinistra) e convenzionale (destra)

Partner del progetto FERPODE sono le aziende italiane AMEK Scrl, CGS di Coluccia Michele & C. Sas e Fattoria Soldano di Maurizio Soldano, con le spagnole Automatica y Control Numerico S.L. e Proyeccion Europlan XXI S.L. L'Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali Faenza ha contribuito in questo ambito alla realizzazione dell'impianto pilota e alla definizione del suo piano di monitoraggio.

L'innovazione di questa tecnologia sta principalmente nell'aggiunta di estratti vegetali (del tutto naturali) ad un sottoprodotto d'allevamento, la pollina e in un trattamento semplificato, che può essere realizzato anche presso l'allevamento, con tutti i vantaggi che ne conseguono. Le caratteristiche peculiari del "nuovo" fertilizzante sono: tenore di carbonio organico elevato, ridotta salinità, azoto (N) a lento rilascio e conferimento ai suoli di elevata ritenzione idrica. Questo fa sì che possa essere utilizzato anche per suoli poveri di sostanza organica e consente di ridurre i consumi di acqua. Contenendo anche fosforo, riduce la necessità di apporti da fertilizzanti fosfatici, spesso ottenuti da risorse naturali non rinnovabili e limitate.

Globalmente, considerando le fasi di produzione e

di uso, i benefici ambientali del nuovo fertilizzante, rispetto alla fertilizzazione minerale, sono riconducibili: alla riduzione del potenziale di riscaldamento globale (40-60% GWP), all'attenuazione del potenziale di assottigliamento dello strato di ozono (73% ODP), alla riduzione dei potenziali di acidificazione (40-55% AP) e di eutrofizzazione (30% EP); questo ultimo include gli impatti dovuti all'aumento della concentrazione di nutrienti nell'ambiente.

Le prove agronomiche condotte con il nuovo fertilizzante su orticole (peperone, patata, pomodoro) e melone, cocomero e agrumi hanno mostrato:

- rese produttive e qualità dei prodotti almeno pari a quelle ottenute con la migliore fertilizzazione minerale e organo minerale;
- effetti sul suolo, con incremento della sostanza organica e della disponibilità dei nutrienti (in particolare, fosforo e potassio).

Per approfondimenti: [alice.dallara@enea.it](mailto:alice.dallara@enea.it)

Alice Dall'Ara, Sergio Sangiorgi  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali Faenza

Maria Teresa la Peruta  
AMEK Scrl



# Frazionamento sostenibile di biomolecole per usi alimentari, cosmetici e farmaceutici: estrazione a fluidi supercritici

G. P. Leone, D. Ferri

Da anni il Laboratorio di Innovazione Agro-industriale (UTAGRI-INN) dell'ENEA propone attività di ricerca e sviluppo di processi estrattivi con fluidi supercritici (SFE, Supercritical Fluid Extraction), puntando sulle caratteristiche di sostenibilità del processo. La tecnica, infatti, non fa uso di solventi organici, ha ridotti consumi energetici e richiede un numero di step di processo inferiori rispetto alle estrazioni tradizionali. Il processo risponde, inoltre, ai requisiti imposti dalla normativa per gli usi alimentari, cosmetici e farmaceutici degli estratti.

Le estrazioni SFE si basano sull'uso come solvente di un gas in condizioni di pressione e temperature superiori ai rispettivi valori critici: nello stato supercritico il fluido esibisce elevata densità e bassa compressibilità, proprie di un classico solvente liquido, elevata diffusività e bassa viscosità, tipiche di un gas. In termini di potere di solvatazione, essendo questa caratteristica direttamente dipendente dalla densità, accade che, per soluti di simile polarità molecolare, il fluido supercritico possa essere considerato un ottimo solvente, capace di sciogliere quantità di sostanza paragonabili a quelle ottenute con eguali quantità di solventi organici. Allo stesso tempo, le ottime capacità di trasporto rendono possibile una più facile penetrazione all'interno delle matrici, consentendo l'estrazione di soluti posti anche ad una certa distanza dalla superficie, con vantaggi in termini di alte rese estrattive e tempi di estrazione ridotti.

Benché siano molte le specie che possono essere spinte in condizioni supercritiche, nella prassi il fluido più comunemente impiegato è il biossido di carbonio ( $\text{SC-CO}_2$ ), poiché esso ha un punto critico ( $T_c = 31,08 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $P_c = 73,8 \text{ bar}$ ) che consente di lavorare con temperature e pressioni relativamente blande, come quelle comunemente utilizzate nei normali impianti industriali, e ciò risulta particolarmente utile sia in termini energetici che per la possibilità di ridurre la degradazione nel caso di estrazione di sostanze termolabili. Inoltre, nella fase di separazione è possibile riportare l'anidride carbonica in condizioni gassose, consentendo il rilascio totale di tale gas da

parte dell'estratto, che dunque risulterà esente dalla presenza di residui di qualsiasi natura. Infine, il biossido di carbonio è atossico, inerte chimicamente, non infiammabile, non esplosivo e poco costoso.

Il frazionamento di liquidi e solidi tramite SFE può essere ottenuto se i costituenti della matrice da frazionare differiscono per volatilità (sono più solubili i composti con più alta tensione di vapore), massa (la pressione necessaria per l'estrazione aumenta con il peso molecolare dei composti) e polarità (un fluido supercritico apolare come l'anidride carbonica è in grado di solubilizzare solo composti apolari): in base a queste considerazioni, attraverso la fase sperimentale è possibile individuare condizioni operative che saranno reputate ottimali in quanto in grado di privilegiare l'estrazione delle molecole di interesse. Questo consente una maggiore purezza dell'estratto ottenuto e, in ultima analisi, una riduzione dei costi e dei tempi di lavorazione, evitando di dover procedere alla purificazione di un estratto grezzo. Lo stesso obiettivo (maggiore purezza dell'estratto) può essere inoltre perseguito attraverso l'impiego di impianti pilota dotati di una sezione di separazione costituita da più vessel estrattivi in serie, dal momento che essi, posti in condizioni di pressione e temperatura differenti, consentono un rilascio frazionato (separazione frazionata) dei costituenti dell'estratto.

In conclusione la SFE costituisce un'alternativa importante ai tradizionali processi di estrazione da matrice solida e liquida come la distillazione frazionata, la distillazione in corrente di vapore, l'estrazione con solventi organici.

All'interno della Hall Tecnologica UTAGRI-INN (Figura 1) del Centro Ricerche ENEA Casaccia sono presenti due impianti che consentono processi estrattivi su scala pilota di matrici solide (vessel: 700 ml - 4 litri) e matrici liquide (colonna piatti forati: 13 litri), sfruttando anche le potenzialità della separazione frazionata. In collaborazione con il Centro di Innovazione Integrato Agrobiopolis del Centro Ricerche ENEA La Trisaia (Rotondella, MT) è possibi-



Figura 1  
HALL Tecnologica UTAGRI-INN

le, inoltre, accrescere la scala estrattiva sino a quella pre-industriale.

Tra le attività realizzate nel Laboratorio UTAGRI INN può essere annoverata l'estrazione di olio arricchito in  $\alpha$ -tocoferolo a partire da *vinaccioli* essiccati, scarto dell'industria vinicola (Figura 2). L' $\alpha$ -tocoferolo si caratterizza per l'elevato potere antiossidante, inibendo stress ossidativi coinvolti nell'invecchiamento, e per gli effetti protettivi nei confronti delle malattie coronariche inibendo l'ossidazione LDL: essendo una molecola liposolubile, essa risulta facilmente estraibile con SC-CO<sub>2</sub> in alternativa all'estrazione con esano, rappresentando di fatto un prodotto in grado di avere un intrinseco valore commerciale nel settore nutraceutico e/o cosmetico. I tocoferoli, infatti, possono essere aggiunti agli alimenti per la stabilizzazione degli acidi grassi polinsaturi. L'aggiunta di tocoferoli in forma di miscele è un modo efficace per migliorare la stabilità ossidativa degli oli, perché nelle miscele essi si proteggono e si rigenerano l'un l'altro. L'integrazione di  $\alpha$ -tocoferolo è particolarmente adatta a gruppi di soggetti a rischio di stress ossidativi (es. fumatori, pazienti diabetici, atleti).

Nella stessa ottica vanno annoverate le campagne esplorative volte allo studio del processo di estrazione di olio da *semi di canapa*: da tali semi si estrae un olio caratterizzato da un elevato contenuto in acidi grassi polinsaturi (PUFA), tra i quali alcuni acidi gras-

si essenziali come l'acido linoleico e  $\alpha$ -linolenico che non possono essere sintetizzati dai mammiferi e devono essere introdotti attraverso la dieta. Gli acidi grassi essenziali sono materie prime dei lipidi strutturali e sono precursori di sostanze biochimiche che regolano molte funzioni del corpo. Recenti ricerche hanno infatti evidenziato che i PUFA, con diversi meccanismi, svolgono funzioni metaboliche indispensabili, consentendo la formazione di molecole che intervengono positivamente nei processi infiammatori. Oltre ad avere effetti positivi sulle sindromi carenziali, si è dimostrato che i PUFA hanno un'attività più ampia, che comprende funzioni plastiche, strutturali, funzionali.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) da anni raccomanda l'assunzione di omega 6 e omega 3 in rapporto da 3:1 a 5:1. L'olio di semi di canapa, come l'olio di pesce, contiene naturalmente omega 6 e omega 3 nel rapporto ottimale di 3:1 e la sua assunzione non ha controindicazioni. L'olio di canapa contiene, inoltre, tocoferoli ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocoferolo e plastochromanolo-8 (P-8), un derivato di  $\gamma$ -tocotrienolo), sostanze ad attività antiossidante che agiscono impedendo l'ossidazione degli acidi grassi insaturi e che riducono il rischio di malattie cardiovascolari. L'estrazione di olio dai semi di *Cannabis sativa* è generalmente eseguita con sistemi di spremitura a freddo o impiegando solventi organici con fattori limitanti, legati sia al recupero della frazione oleosa che alla sostenibilità ambientale. In tal senso, il Laboratorio UTAGRI-INN ha svolto lavori di ricerca e sviluppo sull'estrazione di tali oli con SFE, dimostrando che tale tecnica estrattiva le ha rese comparabili con le tecniche tradizionali e, a determinate condizioni operative, prodotti finali con maggiore stabilità ossidativa.



Figura 2  
Vinaccioli essiccati



Figura 3  
Impianto pilota Luwar

L'uso dell'impianto pilota Luwar (Figura 3), dotato di tre separatori in serie, ha inoltre permesso di arrivare ad una formulazione maggiormente pura dell'estratto finale grazie alla separazione della frazione oleosa dalla frazione cerosa co-estratta.

Il *narciso* è una pianta erbacea bulbosa della famiglia delle amarillidacee dai cui fiori (Figura 4) è possibile ricavare un olio essenziale impiegato nell'industria profumiera, per il suo caratteristico bouquet, che ne permette l'utilizzo nelle note di testa di molti profumi. Allo scopo di perseguire un'innovazione di processo/prodotto e al contempo di valorizzare una coltura locale (*Narcissus poeticus* di Rocca di Mezzo), sono state poste in essere delle campagne sperimentali di estrazione di tale olio attraverso tecniche tradizionali e tecniche SFE, arrivando a dimostrare che in quest'ultimo caso le rese estrattive sono comparabili con quelle ottenute con solvente organico. L'adozione di un primo separatore a  $-15^{\circ}\text{C}$ , ha permesso di ottenere un prodotto finale privo di cere, eliminando così la necessità di successive separazioni con solventi.

La caratterizzazione dell'estratto SFE, effettuata con analisi GC/MS, ha dimostrato infine che gli estratti SFE contengono tutti i principali composti trovati nel caso di estrazioni con esano. La maggiore sostenibilità ambientale del processo supercritico ci consente di valutare positivamente l'adozione di tale tecnica al fine della valorizzazione del narciso di Rocca di Mezzo.

Sempre relativamente alla pianta di narciso, ma con attenzione al suo bulbo (Figura 5), sono state effettuate campagne di ricerca volte all'uso comparato di

SFE e altre tecniche tradizionali ai fini dell'estrazione di molecole di interesse farmacologico, tra cui la galantamina, considerata un importante agente terapeutico per il trattamento sintomatico del morbo di Alzheimer. Le attività di ricerca dell'ENEA si pongono in questo senso il duplice obiettivo di rispondere alla domanda crescente di principi attivi da matrici vegetali e di arrivare a prodotti innovativi, basati su una miscela di estratti vegetali che, grazie alla loro azione sinergica, spesso risultano avere un'azione farmacologica più efficace e duratura nei confronti delle monoterapie.

Molecole di forte interesse possono essere contenute anche in scarti agro-industriali quali *bucce e semi di pomodoro* (Figura 6) da cui si può estrarre il licopene, un carotenoide che mostra un elevato potere antiossidante, in virtù della sua struttura achilica, del numero di doppi legami coniugati e della sua elevata idrofobicità. In generale i carotenoidi sono efficaci antiossidanti, grazie alla loro azione di *scavenger* di radicali liberi. Tra i carotenoidi il licopene sembra essere il più efficiente *oxygen quencher*, grazie alla presenza di due ulteriori doppi legami rispetto alla struttura degli altri carotenoidi. Il licopene, come altri carotenoidi, ha attività di prevenzione dei tumori, in particolare quello della prostata. Da una semplice estrazione SFE, senza dover ne-



Figura 4  
Narciso



Figura 5  
Bulbo del narciso

cessariamente fare ricorso ad una separazione frazionata, si ottiene una miscela di composti naturali in cui, oltre al licopene, sono presenti antiossidanti, vitamine, amminoacidi ed altre sostanze, molto importanti per la salute umana.

Possibili future attività del Laboratorio UTAGRI-INN nel campo dell'estrazione di biomolecole di interesse, potranno riguardare l'estrazione di astaxantina dall'*Haematococcus pluvialis*, una microalga verde appartenente alla classe Cloroficeae. L'*Haematococcus pluvialis*



Figura 6  
Bucce e semi di pomodoro

in condizioni di stress accumula grandi quantitativi di astaxantina nel citosol. Questo aspetto risulta di grande interesse in quanto il potere ossidante dell'astaxantina è parecchie volte più forte di quello di qualsiasi altro carotenoide, come zeaxantina, cantaxantina,  $\beta$ -carotene, luteina e fino a 500 volte più forte della vitamina E. Inoltre, ha un'attività contro l'infiammazione, il cancro, l'invecchiamento e le malattie legate all'età, e rafforza l'apparato immunitario. L'astaxantina appartiene ai carotenoidi, la sua molecola ha una forma estesa con una struttura polare (idrofila) ad entrambe le estremità e una zona non polare (idrofobica/lipidica) nel centro, e per le sue caratteristiche è solubile in SC-CO<sub>2</sub>.

Per approfondimenti: [gianpaolo.leone@enea.it](mailto:gianpaolo.leone@enea.it) - [donatella.ferri@enea.it](mailto:donatella.ferri@enea.it)

**Gian Paolo Leone, Donatella Ferri**  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile e Innovazione del Sistema  
Agroindustriale, Laboratorio Innovazione Agro-Industriale



# ridurre gli input chimici ed energetici in agricoltura mediante tecniche agronomiche innovative

S. Arnone, S. Musmeci, P. Nobili, R. Sasso, M. Cristofaro, A. Letardi

Applicare conoscenze e tecnologie innovative in agricoltura può contribuire notevolmente a mitigare i possibili effetti ambientali negativi del comparto primario, riducendo l'uso di acqua e sostanze chimiche, chiudendo i cicli di energia e materia riutilizzando gli scarti. Tali effetti sono ulteriormente incentivati in agricoltura biologica, in particolare mediante l'applicazione di pratiche di lotta biologica nel settore primario. Tra i più recenti esempi di tali innovazioni tecnologiche, alle quali il laboratorio Gestione Sostenibile degli Agroecosistemi dell'Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del

Sistema Agroindustriale dell'ENEA ha contribuito, segnaliamo la validazione in campo di un semplice sistema per la concentrazione di predatori presso focolai di fitofagi in colture arboree; in collaborazione con il dipartimento di Chimica dell'Università di Camerino e con il Centro di ricerca per la frutticoltura di Roma sono state individuate varietà di pesco con promettenti capacità difensive nei confronti dell' "insetto patogeno chiave" di questa coltura (la mosca mediterranea della frutta *Ceratitis capitata*); analoghi risultati, nel recente passato, sono stati raggiunti anche per varietà di patata con resistenza alla tignola di questa solanacea, *Phthorimaea operculella*.

Di particolare interesse, come esempio di "risposta integrata" ad un fitopatologia emergente dovuta ad un insetto "alieno" recentemente introdotto in Italia, è l'applicazione di una tecnologia come quella dell'insetto sterile (o SIT, ovvero Sterile Insect Technique), storicamente molto sviluppata ed utilizzata per diverse azioni di ricerca e trasferimento tecnologico in ENEA, al problema causato dal punteruolo rosso delle palme, *Rhynchophorus ferrugineus*, un coleottero proveniente dall'area subtropicale melanesiana, in grado di danneggiare pesantemente diverse specie di alberi, in particolare del gruppo delle palme. Svitati aspetti di tale applicazione tecnologica

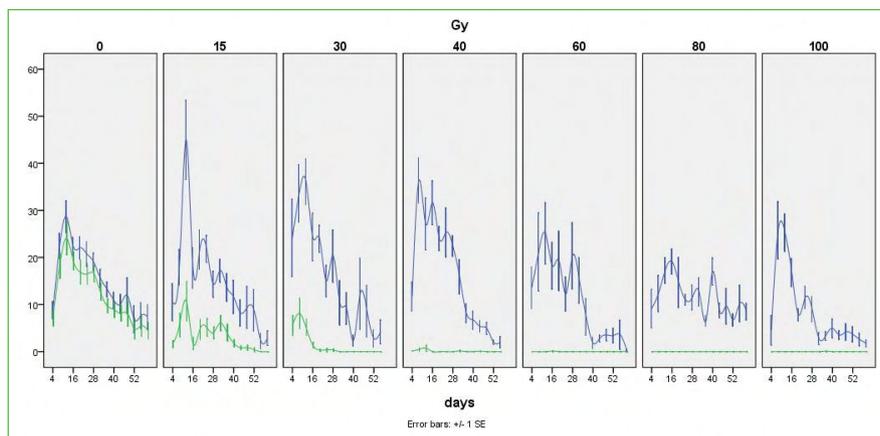


Figura 1  
Risultati dei test di sterilità femminile dopo l'accoppiamento con maschi di ceppo selvatico e maschi irradiati con diverse dosi di raggi  $\gamma$   
N.B.: le linee blu rappresentano il numero di uova (fecondità), quelle verdi il numero di uova che si schiudono (fertilità)



Figura 2  
Supporto mobile di concentrazione delle ovo deposizioni di un predatore di fitofagi di colture arboree

sono stati messi a punto negli ultimi anni nei nostri laboratori, dimostrando come tale approccio possa essere efficace per il controllo del danno provocato da tale insetto e come ciò possa essere trasferito alla gestione preventiva del danno provocato da altri organismi animali e vegetali che, provenendo da altre zone del mondo, colonizzano il territorio nazionale senza trovare antagonisti naturali, in programmi di gestione ad ampio raggio (area-wide program).

Per approfondimenti:  
agostino.letardi@enea.it

Silvia Arnone, Sergio Musmeci, Paola Nobili, Raffaele Sasso,  
Massimo Cristofaro, Agostino Letardi  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agroindustriale,  
Laboratorio Gestione Sostenibile degli Agroecosistemi

# Tecnologie di filtrazione tangenziale a membrana e applicazioni per l'industria agro-alimentare

G. P. Leone, C. Russo

Le tecnologie di filtrazione tangenziale a membrana sono tecniche separative basate sull'impiego di filtri semipermeabili attraverso i quali, sotto una forza spingente, è possibile ottenere la separazione di componenti sospese o in soluzione in funzione delle loro caratteristiche dimensionali e/o chimico-fisiche.

In Figura 1 è riportata una rappresentazione esemplificativa del meccanismo di trasporto e della capacità selettiva nei processi a membrana.

La forza spingente in grado di generare le separazioni attraverso la membrana può essere una pressione idraulica, un potenziale chimico (osmosi), un gradiente di concentrazione (dialisi), una differenza di temperatura (pervaporazione), un potenziale elettrico (elettrodialisi).

I processi più diffusi sono quelli che utilizzano la pressione idraulica come forza spingente, e le tecnologie di membrana prendono il nome di Microfiltrazione (MF), Ultrafiltrazione (UF), Nanofiltrazione (NF) ed Osmosi Inversa (OI).

Queste quattro tecnologie si differenziano fra loro sia per le specifiche tecniche delle membrane impiegate, sia per le condizioni di processo da applicare.

In estrema sintesi: la MF trattiene particolato, molecole grasse, batteri con dimensioni dell'ordine del micron; l'UF trattiene macromolecole come proteine, colloidali fino ad una dimensione molecolare di circa 1 kDalton; la NF trattiene molecole organiche e inorganiche con peso molecolare superiore a circa 200 Dalton (zuccheri e sali bi e trivalenti); l'OI trattiene anche gli ioni monovalenti e lascia passare solo la molecola dell'acqua. Sfruttando le diverse capacità selettive, è possibile operare con le varie tecnologie di membrana in successione al fine di frazionare una matrice nelle sue componenti e permettere un riutilizzo specifico.

Le tecnologie di membrana sono tecniche separative

pulite e a basso consumo energetico, particolarmente indicate per applicazioni nel settore agro-alimentare. Nei processi separativi a membrana non viene impiegato calore: la filtrazione può avvenire anche a basse temperature in modo da non danneggiare molecole termolabili. I processi a membrana utilizzano soltanto energia elettrica per il funzionamento delle pompe e non richiedono l'utilizzo di solventi o sostanze chimiche per operare le separazioni richieste.

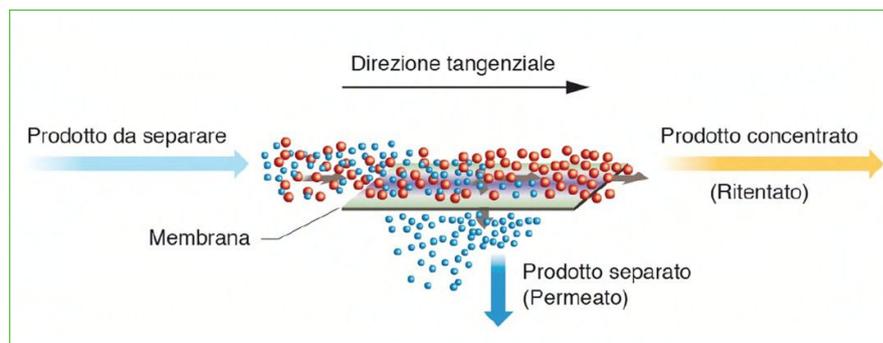


Figura 1  
Schema generale del meccanismo separativo nei processi a membrana

Le tecnologie di filtrazione tangenziale a membrana sono inoltre di semplice utilizzo, modulari e facilmente scalabili favorendo così il trasferimento tecnologico a livello industriale.

In ENEA le prove sperimentali sono realizzate presso la Hall Tecnologica dell'Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile e Innovazione del Sistema Agroindustriale – Laboratorio Innovazione Agro-Industriale (UTAGRI-INN) della Casaccia, con impianti pilota operanti in condizione batch (raccolta della frazione permeata e ricircolo della frazione concentrata nel serbatoio di alimentazione), in grado di trattare dalle centinaia a circa mille litri al giorno.

Lo studio di un processo di filtrazione a membrana è finalizzato alla sua ottimizzazione. La ricerca sperimentale comporta l'individuazione della membrana (conformazione, materiale, taglio molecolare) necessa-

ria per realizzare le separazioni desiderate e dei vari parametri di processo (pressione di trans-membrana, velocità di scorrimento sulla superficie di membrana, rapporto volumetrico di concentrazione ecc.) al fine di aumentare la produttività e ridurre lo sporcamento di membrana.

### Attività sperimentali ENEA

Presso i laboratori del Centro Ricerche ENEA della Casaccia, nell'ambito delle attività programmatiche dell'Unità UTAGRI, sono stati studiati e messi a punto diversi processi di filtrazione a membrana nel settore agro-alimentare.

Le problematiche sono state studiate seguendo una visione sostenibile d'insieme, cercando sempre di accoppiare il trattamento depurativo a quello di recupero e riutilizzo di acqua e componenti ad alto valore aggiunto. Fine ultimo delle attività di ricerca condotte è chiudere il ciclo di una filiera produttiva, garantendo uno scarico zero e trasformando di fatto un così detto scarto in materia prima, dalla quale ottenere nuovi prodotti.

Di seguito sono descritti alcuni esempi di processi studiati e messi a punto in ENEA, suddivisi per settori di intervento.



Figura 2  
Hall Tecnologica UTAGRI-INN presso il Centro Ricerche Casaccia dell'ENEA

### Settore lattiero-caseario

Le tecnologie di membrana sono impiegate nel settore lattiero-caseario da decenni con molteplici finalità.

L'ENEA ha sviluppato ed ottimizzato processi specifici per la produzione di lattici speciali e il trattamento degli effluenti prodotti nel processo di caseificazione, siero di latte e scotta.

Relativamente alla produzione di lattici speciali, in crescita a fronte di un continuo calo di vendite di latte fresco, la capacità selettiva delle tecnologie di membrana permette di frazionare il latte e di intervenire in maniera mirata per arricchirlo o privarlo di componenti, facendo fronte così alle diverse esigenze dei consumatori.

In relazione agli effluenti prodotti nel processo di caseificazione, siero di latte e scotta sono difficilmente smaltibili per l'elevato carico inquinante (COD - Domanda Chimica di Ossigeno - di circa 60 g/L di O<sub>2</sub>) e la difficile degradazione del lattosio. A volte il siero di latte è destinato all'alimentazione animale, più spesso deve essere smaltito con notevoli problemi ambientali.

L'ENEA ha ottimizzato un processo con tecnologie di membrana di frazionamento del siero di latte/scotta nelle loro principali componenti: sieroproteine/peptidi, lattosio, sali minerali ed acqua.

Le sieroproteine possono essere riutilizzate nell'industria alimentare o come integratore proteico, altrimenti possono essere idrolizzate per produrre peptidi bioattivi; il lattosio può essere trasformato per via enzimatica in galatto-oligosaccaridi (GOS), per via chimica o enzimatica in lattulosio, per ossidazione o a seguito di processi fermentativi in acido lattobionico o alcol etilico, tutte molecole con proprietà bioattive o di interesse commerciale; l'acqua pura recuperata può essere riutilizzata come base per la formulazione di nuove bevande con notevole ritorno economico.

### Acque di vegetazione olearie

Le acque di vegetazione (AV) sono i reflui originati dal processo di molitura delle olive in frantoi operanti a tre fasi, ossia con la produzione di olio, sanse ed AV.

Lo smaltimento delle AV è uno dei maggiori problemi dell'agro-industria. Le AV hanno un COD di circa 100 g/L di O<sub>2</sub>, pH acido ed un elevato contenuto in polifenoli, molecole anti-ossidanti fitotossiche e batteriostatiche.

Tali caratteristiche rendono particolarmente difficoltoso lo spargimento delle AV sui terreni agricoli, con rischi di desertificazione ed inquinamento di falde acquifere.

D'altra parte i polifenoli delle olive, l'idrossitirosole, oleuropeina, verbascoside ecc., sono molecole con spiccate proprietà bio-attive sulla salute umana.

L'ENEA ha brevettato un processo di trattamento (WO2005123603A1), incentrato sul frazionamento delle AV con tecnologie di membrane, al fine di recuperare e riutilizzare separatamente la componente polifenolica, il resto della sostanza organica e l'acqua derivante dalle olive.

La sostanza organica impoverita o priva del contenuto

polifenolico può essere impiegata per la produzione di biogas in processi di fermentazione anaerobica.

I polifenoli possono essere impiegati come conservanti naturali nell'industria alimentare, antibiotici naturali per la mangimistica o nel settore farmaceutico come farmaco naturale.

L'acqua "vegetale" recuperata dalle olive può essere reimpiegata come base per la formulazione di bevande.

### Vinacce/vinaccioli

La vinaccia è lo scarto di vinificazione costituita principalmente dalle bucce e dai vinaccioli dell'uva. Le vinacce generalmente si usano come materia prima per la produzione della grappa.

Un alternativo e vantaggioso riutilizzo riguarda in particolare i vinaccioli, ancora integri e non sfruttati nel processo fermentativo. Le bucce della vinaccia possono essere reimpiegate come fonte di fibra nel settore alimentare o nella mangimistica; dai vinaccioli è possibile estrarre attraverso processi meccanici l'olio costituito principalmente di acido linoleico ed oleico e contenente tocoferoli e polifenoli; dal pannello esausto rimanente dopo l'estrazione dell'olio è possibile, con tecnologie di membrana, concentrare e purificare i polifenoli presenti.

I polifenoli contenuti nei vinaccioli (flavanoli, tra i quali (+)-catechina e (-)-epicatechina e i loro polimeri proantocianidine) sono largamente utilizzati nel settore alimentare e cosmetico per le spiccate proprietà bioattive, garantendo notevoli ritorni economici da una matrice altrimenti non sfruttata.

L'estratto acquoso del pannello esausto ottenuto a seguito dell'estrazione dell'olio, dopo un eventuale processo di centrifugazione per recuperare le frazioni di olio rimanenti, può essere chiarificato in MF e concentrato in OI. Per purificare i polifenoli presenti e aumentarne il titolo nei semi-lavorati prodotti con le tecnologie di membrana, è possibile operare in UF ed in NF come stadi intermedi prima della concentrazione in OI.

### Estrazione, concentrazione e purificazione di steviol-glicosidi da foglie di *Stevia Rebaudiana Bertoni*

La *Stevia Rebaudiana Bertoni* è una pianta originaria del

Sud America contenente nelle sue foglie steviol-glicosidi, composti estremamente dolci e non calorici. Tra questi i più abbondanti sono stevioside e rebaudioside A. Il rebaudioside A è più dolce dello stevioside, con un potere dolcificante circa 300 volte superiore a quello del glucosio e senza il caratteristico retrogusto amaro tipico dello stevioside.

L'interesse per gli steviol-glicosidi è in continua crescita a livello internazionale, per il loro uso come sostituti degli attuali dolcificanti di sintesi, soprattutto per consumatori affetti da particolari patologie.

Le tecnologie di membrana, a partire da estratti acquosi di foglie di Stevia, permettono di concentrare e purificare gli steviolglicosidi dalle restanti componenti organiche, comunque di interesse commerciale.

L'estratto acquoso delle foglie di Stevia è chiarificato in MF per rimuovere i solidi sospesi; il permeato di MF è trattato in UF per rimuovere macromolecole ed in particolare il contenuto proteico; gli steviol-glicosidi recuperati nel permeato di UF sono purificati del contenuto polifenolo e salino operando in NF; in OI è possibile concentrare i polifenoli permeati in NF.

I solidi sospesi rimossi nel concentrato di MF possono essere destinati al compostaggio o alla produzione di biogas; il contenuto proteico recuperato come concentrato di UF e quello polifenolico ottenuto come concentrato di OI possono essere reimpiegati nel settore alimentare; gli steviol-glicosidi concentrati in NF sono destinati a sostituire i dolcificanti di sintesi.

Per aumentare le possibili applicazioni alimentari degli steviol-glicosidi è importante ridurre il retrogusto amaro. Attualmente la separazione di stevioside da rebaudioside A, privo del retrogusto amaro, avviene per cristallizzazione o per cromatografia. Ricerche in corso in ENEA stanno valutando la possibilità di separare con tecnologie di membrana gli steviol-glicosidi fra loro.

*Per approfondimenti:* gianpaolo.leone@enea.it - claudio.russo@enea.it

**Gian Paolo Leone,**  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile e Innovazione del Sistema Agroindustriale,  
Laboratorio Innovazione Agro-Industriale

**Claudio Russo**  
ENEA, Unità Tecnica Modelli, Metodi e Tecnologie per le Valutazioni Ambientali



# Controllo biologico delle specie aliene invasive in agricoltura

di G. Calvitti, R. Moretti, E. Lampazzi

## Introduzione

La produzione agricola in Europa deve affrontare diverse sfide tra le quali una limitata disponibilità d'acqua, di azoto in ingresso e di combustibili fossili. Si rende necessario, pertanto, individuare metodi di produzione e nuove tecnologie in grado di aumentare l'efficienza dei sistemi primari, garantendo quantità di cibo, qualità, sicurezza ed eco-sostenibilità.

Uno degli aspetti più importanti, anche se spesso sottovalutato in rapporto all'intera filiera agro-alimentare, è la gestione delle avversità biologiche delle colture agricole dovute a fitofagi, fitomizi o patogeni con potenzialità invasive già presenti sul territorio o di recente origine aliena. In questo ambito, due principali obiettivi devono essere realizzati allo stesso tempo: ridurre le perdite produttive e tutelare l'agro-ecosistema.

Per soddisfare queste aspettative, a partire dal primo gennaio 2015 tutte le aziende agricole dei Paesi dell'Unione Europea sono vincolate all'applicazione dei principi della Difesa Integrata, come indicato dalla direttiva sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (128/09/Ce). A fronte delle restrizioni nell'uso di pesticidi che conseguono all'applicazione di questa direttiva, la messa a punto di efficienti metodi di difesa delle colture assume maggior rilievo rispetto agli ultimi decenni. Questa rinnovata importanza rende necessario un approccio moderno, innovativo, basato oltre che sui principi tradizionali della Lotta Integrata, così come enunciati nell'allegato III della direttiva (128/09/Ce), anche sull'applicazione di tecnologie classiche di eradicazione-soppressione (SIT) implementate da nuove acquisizioni in ambito biotecnologico, informatico-modellistico e del telerilevamento.

Tra gli esempi più eclatanti di questa nuova realtà dobbiamo citare la ripresa di infestazioni assai gravi della mosca mediterranea della frutta *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), con perdite che in taluni casi ammontano a più del 50% della produzione di frutti come pesche, albicocche e kiwi (comunicazione personale, presidente FRU.CA.R 2000, Frutticoltori Castelli Romani).

Non meno preoccupante è anche il comportamento di un altro dittero tefritide: la mosca dell'olivo *Bactrocera*

*oleae*. Il 2014 è stato infatti definito l'anno nero dell'olio italiano a causa di forti infestazioni di questa mosca, in buona parte imputabili alle particolari circostanze climatiche caratterizzate da un'estate molto piovosa. Inoltre è ancora piena l'emergenza per una nuova grave fitopatologia degli olivi descritta come "Complesso del Disseccamento Rapido dell'olivo" (CoDiRo), segnalata dal 2013 in Puglia e attribuita primariamente a *Xylella fastidiosa*, temuto batterio fitopatogeno trasmesso da insetti. Tale batterio non era mai stato segnalato prima nella regione euro-mediterranea e costituisce una minaccia per l'intero patrimonio olivicolo nazionale e mediterraneo.

A queste emergenze, che riguardano direttamente le filiere agro-alimentari, dobbiamo aggiungere il diffondersi, in buona parte associato anche al cambiamento climatico, di organismi vettori il cui trattamento chimico estensivo inevitabilmente contamina l'ambiente, le catene produttive alimentari e quindi la nostra salute.

Negli ultimi 20 anni abbiamo assistito al caso esemplare di *Aedes albopictus* (zanzara tigre), originaria del Sud-Est asiatico ma ora presente sia nel Nord America che in Europa. In Italia, la specie ha già raggiunto la sua massima espansione verso nord raggiungendo le regioni alpine, e nel 2007 è stata responsabile della prima epidemia di Chikungunya in Europa (207 casi) nell'area riminese. L'epidemia è stata debellata mediante un trattamento insetticida estensivo, che non ha certo risparmiato anche territori a vocazione agricola.

## Il contributo della ricerca in ENEA

In risposta a questa ed altre nuove emergenze entomologiche di carattere fitosanitario e medico-veterinario, ricercatori entomologi del "Laboratorio gestione sostenibile degli Agro-Ecosistemi" dell'ENEA hanno indirizzato le proprie ricerche verso lo sviluppo di sistemi innovativi per il controllo ecosostenibile di specie di insetti invasive sia in ambito agrario che sanitario.

È innegabile che, con i moderni mezzi di monitoraggio ed analisi di cui disponiamo oggi (GIS, modellistica, telerilevamento), lo sviluppo di programmi territoriali di controllo ed eradicazione dei più importanti insetti pa-

rassiti stia andando incontro ad un forte rilancio in tutto il mondo, in molti casi con il coordinamento dell'Agazia Internazionale per l'Energia Atomica (IAEA).

In questo contesto l'ENEA riveste una posizione di rilievo per la sua indiscussa esperienza. Infatti, va ricordato che negli anni 70 è stato sviluppato, presso il Centro Ricerche Casaccia, uno dei progetti europei più importanti di "lotta col maschio sterile" contro *C. capitata*, culminato con la realizzazione di una vera e propria biofabbrica per la produzione di maschi (all'incirca un milione a settimana), sterilizzati tramite irraggiamento e poi rilasciati in campo per verificarne la capacità di sterilizzare le femmine selvatiche della specie (sperimentazione condotta nell'isola di Procida).

Le tecniche di eradicazione che a quel tempo furono consolidate dalla ricerca ENEA e basate sull'impiego di radiazioni nucleari ionizzanti per la sterilizzazione dei maschi, sono state recentemente implementate da nuovi approcci biotecnologici. Ad esempio, l'Incompatibilità Citoplasmatica (IC) indotta dal batterio simbiotico *Wolbachia*, naturalmente presente in molte specie di insetti, può consentire di produrre maschi sterili per l'applicazione di strategie di lotta autocida nell'ambito della *Incompatible Insect Technique* (IIT). Questo batterio infatti è in grado di indurre sterilità negli accoppiamenti tra maschi e femmine della stessa specie, determinando la morte embrionale in progenie nata da

incroci tra individui con un differente status infettivo. La possibilità di modificare artificialmente la simbiosi insetto-batterio, attraverso il trasferimento di quest'ultimo da una specie di insetto all'altra, ha permesso ai ricercatori ENEA di ottenere una linea di zanzara tigre (insetto utilizzato come modello) i cui maschi risultano sterili quando si accoppiano con le femmine selvatiche. Tale ceppo di zanzara è oggi in corso di sperimentazione in diversi Centri di ricerca del mondo nell'ambito dei programmi di sviluppo di strategie di lotta autocida a questo temibile vettore di malattie.

I risultati ottenuti sull'insetto modello *Aedes albopictus* permettono di auspicare una simile applicazione su insetti di rilevante importanza agronomica, primo tra tutti la mosca mediterranea della frutta che, come già detto, insieme alla mosca dell'olivo, sta tornando ad essere un vero e proprio flagello per la nostra frutticoltura. Inoltre, nelle prospettive di ricerca ENEA, un ruolo primario avrà anche la possibilità di utilizzare il batterio comune *Wolbachia* per tentare di inibire la capacità vettoriale di specie di insetti che trasmettono fitopatogeni, come ad esempio *Phylloxera vitifoliae*, potenziale vettore di *Xylella fastidiosa*.

Per approfondimenti: [maurizio.calvitti@enea.it](mailto:maurizio.calvitti@enea.it)

**Maurizio Calvitti, Riccardo Moretti, Elena Lampazzi**  
ENEA, Unità Tecnica Sviluppo Sostenibile e Innovazione del Sistema  
Agroindustriale, Laboratorio Gestione Sostenibile degli Agroecosistemi





## Agricoltura sostenibile: fertilizzazione del "neem cake"

Mariani

Il "neem cake" è lo scarto di lavorazione della filiera industriale che produce olio di neem e azadiractina.

L'Unità Tecnica Ambiente Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale dell'ENEA ha sviluppato una promettente sperimentazione per promuovere l'uso del neem cake come insetticida e fertilizzante di basso costo in agricoltura sostenibile.

Nel 2006 l'ENEA, in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma, con l'Università di Sassari e con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, ha partecipato al progetto finanziato dalla Regione Lazio "Bluetongue Biocontrol: controllo delle popolazioni di *Culicoides spp.* mediante uso di prodotti naturali ad azione bioinsetticida", il cui obiettivo generale era lo studio delle potenzialità di applicazione di prodotti a base di neem.

La sperimentazione, *in vitro* ed *in campo*, condotta presso il Centro Ricerche Casaccia dell'ENEA ha dimostrato che il neem cake è una matrice naturale, fonte di molecole e fitoestratti biologicamente attivi, che rappresentano una valida alternativa all'azadiractina, molecola costosa, che si denatura velocemente. I risultati dello studio sono stati pubblicati su riviste internazionali e nazionali e diffusi mediante partecipazione a convegni e al Salone internazionale del biologico e del naturale (SANA) di Bologna.

Conseguentemente, i nostri esperti hanno promosso l'uso del neem cake in:

- terreni acquitrinosi e contenitori di acqua occasionali per il controllo biologico dei siti riproduttivi di larve di zanzare, ed in particolare della *Aedes albopictus*, insetto di origine asiatica, che attualmente è divenuto cosmopolita. Questa pratica di controllo mediante neem cake permette di non inquinare le falde acquifere con residui di pericolosi insetticidi chimici, contaminanti l'acqua e, di conseguenza, l'intera filiera alimentare.

I ricercatori del Centro Ricerche Casaccia dell'ENEA, in collaborazione con l'Università Sapienza di Roma, Dipartimento di Botanica Farmaceutica, hanno isolato da estratti di neem cake la molecola attiva e hanno identificato il *finger print* di riferimento del

fitoestratto ad attività fortemente insetticida, caratterizzato chimicamente mediante la tecnica della HPTLC, verificandone l'attività su larve di *Aedes albopictus*;

- terreni acquitrinosi presenti negli allevamenti ovis, nel fango presente intorno a stalle e abbeveratoi per il controllo biologico di larve di *Culicoides imicola*, insetto originario del continente africano, che costituisce il principale vettore in Africa e, dal 2000, anche in Europa, del virus della lingua blu delle pecore.

Questa buona pratica di zootecnia sostenibile, condotta in collaborazione con la Facoltà di Agraria, Dipartimento di Entomologia dell'Università degli Studi di Sassari, ha fornito risultati paragonabili e superiori a quelli ottenuti utilizzando l'insetticida di sintesi più efficace, che, in seguito alla Direttiva 98/8/CE ("Direttiva Biocidi"), recepita in Italia dal D.Lgs. 25 febbraio 2000, n. 174, non è più commercializzabile dal 1° settembre 2006. La sperimentazione è stata condotta dall'Università di Sassari "*in campo*" su larve di *Culicoides imicola*, ed in parallelo *in vitro* presso il Centro Ricerche Casaccia su larve di *Aedes albopictus*. I risultati dei test condotti in parallelo sui due insetti hanno permesso di stabilire la metodologia di uso del neem cake e del fitoestratto utile per il controllo dell'insetto vettore.

Secondo la tradizione indiana, la principale destinazione d'uso del neem cake è la fertilizzazione del terreno agricolo; pertanto, i ricercatori ENEA hanno sviluppato una stabile collaborazione con l'Università Sapienza di Roma e con il Dipartimento di Scienze Agrarie, dell'Università di Bologna, per lo studio del neem cake come fertilizzante biologico.

Sono state condotte ricerche parallele per identificare le potenzialità di differenti tipologie di neem cake per fertilizzazione e pest management in orticoltura e frutticoltura. In particolare, l'Università di Bologna ha approfondito lo studio della biodiversità indotta nella microflora del terreno, che ha permesso di evidenziare un aumento della biomassa microbica associato a decremento dei processi di denitrificazione. In conclu-

sione, si è evidenziato che l'aumento della fertilità del suolo prodotta dal neem cake deriva da un complesso processo di stimolazione della biodiversità microbica del terreno.

Questa attività ha dato origine al progetto Neemagrimed al quale hanno preso parte anche la FAO, l'Università di Sassari e la piccola/media impresa "I consigli dell'Esperto Srl" (<http://iconsigliidellesperto.wix.com/iconsigliidellesperto>), con cui l'ENEA ha rapporti di collaborazione da circa 20 anni. Questa azienda che, nel corso del progetto, ha fornito campioni di prodotto, si è in seguito notevolmente sviluppata dal punto di vista commerciale, grazie proprio all'utilizzo del neem cake. I suoi prodotti, per uso fertilizzante, nematocida ed insetticida, vengono ora utilizzati da aziende biologiche riconosciute.

Il progetto Neemagrimed ha concorso al bando internazionale sulle migliori pratiche "Feeding Knowledge" EXPO 2015 (The International Call for Best Sustainable Practices on Food Security - [https://www.feedingknowledge.net/02-search/-/bsdip/9737/it\\_IT](https://www.feedingknowledge.net/02-search/-/bsdip/9737/it_IT)). Il progetto Neemagrimed ha concorso al bando internazionale sulle migliori pratiche "Feeding Knowledge" EXPO 2015 (The International Call for Best Sustainable Practices on Food Security) e nella competizione "Organic Contest" promossa da TP Organics. In questa competizione Neemagrimed si è classificato come uno dei due progetti vincitori.

Per approfondimenti: [susanna.mariani@enea.it](mailto:susanna.mariani@enea.it)

**Susanna Mariani**  
ENEA, Unità Tecnica Ambiente Sviluppo Sostenibile ed Innovazione del Sistema Agro-Industriale - Laboratorio Innovazione Agro-Industriale

# Progetto NeemAgrimed

[https://www.feedingknowledge.net/02-search/-/bsdip/9737/it\\_IT](https://www.feedingknowledge.net/02-search/-/bsdip/9737/it_IT)

EXPO 2015 – Feeding Knowledge  
SPECIAL AWARDS FOR ORGANIC BEST PRACTICES





**ENEA** per **EXPO**  
2015

# L'importanza industriale delle nanotecnologie e dei nanomateriali

L'articolo è strutturato in quattro parti: un breve riassunto della politica UE per le nanotecnologie e per le Tecnologie Chiave Abilitanti; un quadro generale informativo, comprendente le definizioni, i settori di applicazione, dati sulla produzione e sul mercato; un esame generale degli attori e delle aree di applicazione in Italia; conclusioni.

Le nanotecnologie, insieme con altre cinque Tecnologie Chiave Abilitanti (KETs), sono state identificate come dei motori per la crescita industriale in Europa all'interno del programma Horizon 2020 e di altre iniziative UE. Queste tecnologie promettono di avere un impatto crescente su materiali, strumenti e processi attraverso una estrema varietà di settori industriali, importanti per l'economia italiana e per quella europea.

Le nanotecnologie sono ancora in gran parte ad una fase di ricerca e sviluppo e diverse sfide sono ancora da risolvere per una loro piena valorizzazione. L'Innovazione e la Ricerca Responsabile sono tra queste sfide e sono fondamentale per il loro successo

DOI 10.12910/EAI2015-027

■ A. Porcari, E. Mantovani

## Le nanotecnologie nel contesto delle strategie europee per l'innovazione

Le nanotecnologie sono una delle sei tecnologie chiave abilitanti (Key Enabling Technologies -KETs), considerate strumento fondamentale del programma *Horizon 2020* della Commissione Europea, appena avviato per stimolare la crescita e la competitività industriale del prossimo futuro. Le sei KET sono:

1. nanotecnologie
2. micro/nanoelettronica
3. fotonica
4. materiali avanzati
5. biotecnologie industriali
6. tecnologie di produzione avanzate (AMS, Advanced Manufacturing Systems).

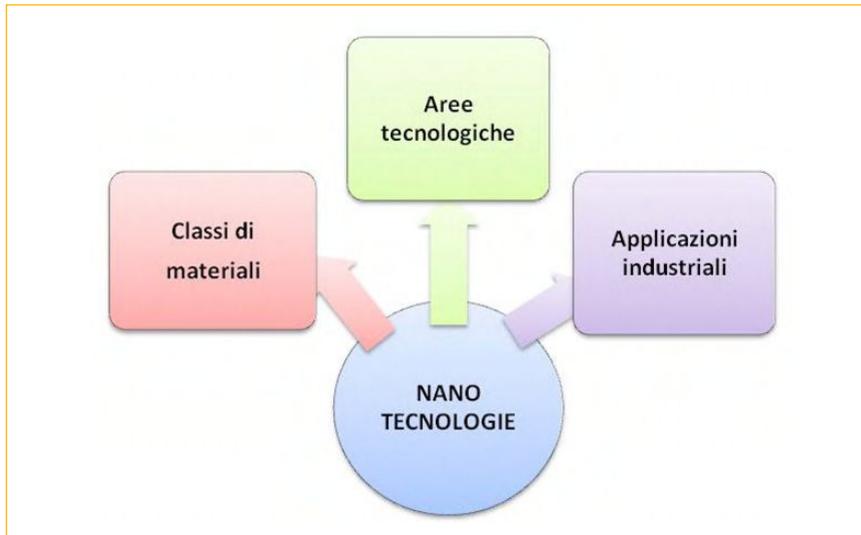
Nell'ambito dell'area prioritaria *Leadership in Industrial Technolo-*

*gies (LEIT)*, *Horizon 2020* prevede uno stanziamento di circa 6,7 miliardi di euro esplicitamente dedicati alle KETs. Di questi, circa un terzo verranno indirizzati verso progetti che affrontano queste tecnologie in una ottica integrata/trasversale (*cross-cutting KETs*), cioè a ricerca ed innovazione che utilizzino in maniera congiunta e sinergica più KETs insieme. A tali fondi si aggiungono quelli che ricadono in altre aree e programmi di finanziamento, per attività che vedono comunque un contributo delle KETs (ad esempio un progetto nell'area *societal challenges*, con oggetto una applicazione realizzata mediante le KETs). Inoltre, è importante ricordare che i finanziamenti H2020 potranno essere integrati con i fondi strutturali nazionali e regionali (la cosiddetta *Smart Specialization Strategy* europea).

Le nanotecnologie sono trasversali alle altre KETs ed in considerazione del loro carattere abilitante e pervasivo, possono avere un impatto su tutte le aree del processo di innovazione e praticamente in tutti i settori industriali, lungo l'intera catena di valore (Figura 1). In termini estremamente semplificati, le nanotecnologie possono essere definite come un approccio radicalmente nuovo di produrre.

Il finanziamento pubblico rimane una leva fondamentale per lo sviluppo di queste tecnologie, come indicato dalle ingenti risorse previste in *Horizon 2020* e dai prece-

Contact person: Andrea Porcari  
porcari@nanotec.it



**FIGURA 1** Le nanotecnologie hanno un impatto trasversale su un ampio spettro di materiali, tecnologie ed applicazioni industriali  
Fonte: AIRI

## Nanotecnologie e nanomateriali

Una definizione generale di nanoscienze, nanotecnologie e nanomateriali redatta sulla base di alcune delle più note definizioni disponibili nell'ambito delle iniziative istituzionali sulle nanotecnologie in Europa e negli Stati Uniti, è riportata nel riquadro. Definizioni più specifiche, basate sulla distribuzione dimensionale, l'area superficiale ed altri parametri fisici, utili per una classificazione oggettiva dei nanomateriali e dei nanoprodotti a fini tecnici e normativi, sono state recentemente pubblicate da parte della International Standard Organization - ISO (Comitato Tecnico Nanotecnologie) e della Commissione Europea [3,4].

A causa delle loro caratteristiche peculiari, unite ad una maturità tecnologica in evoluzione, le nanotecnologie non sono associabili ad una tipologia specifica di industria (come invece avviene con le altre

denti programmi quadro. Negli ultimi anni sono, comunque, progressivamente cresciuti anche gli investimenti privati.

Una valutazione fatta nel 2010 ha stimato in circa 20 miliardi di dollari l'ammontare dell'inve-

stimento globale per R&S nelle nanotecnologie, suddiviso indicativamente in parti uguali tra pubblico e privato. In alcuni paesi, come USA e Giappone, i finanziamenti privati sopravanzavano ormai quelli pubblici [1,2].

### Definizione generale di nanoscienze, nanotecnologie e nanomateriali

**Nanoscienze:** Con il termine "Nanoscienze" si intende l'insieme delle competenze derivanti da discipline diverse che vanno dalla fisica quantistica, alla chimica supramolecolare, alla biologia molecolare, alla scienza dei materiali, utilizzate con il fine di studiare i fenomeni e la manipolazione di materiali alla scala atomica e molecolare, dove caratteristiche e proprietà differiscono significativamente da quelle osservate alla macroscale.

**Nanotecnologie:** un processo o un prodotto che rispetti le seguenti condizioni: sviluppo di ricerca e tecnologia in una scala dimensionale da circa 1 a 100 nanometri; creazione ed utilizzo di strutture, dispositivi e sistemi che abbiano proprietà e funzioni innovative dovute alla loro grandezza; capacità di controllare o manipolare la materia alla scala atomica.

**Nanomateriali ingegnerizzati (o nanomateriali di sintesi):** Il termine nanomateriali ingegnerizzati (o nanomateriali di sintesi) si riferisce ai materiali alla nanoscala, intenzionalmente prodotti in laboratorio o a livello industriale. Non si applica al particolato nella scala dimensionale compresa tra 1 e 100 nm, esistente in natura o proveniente in modo casuale da attività dell'uomo, come per esempio quello derivante da combustione.

KETs) ed è difficile quantificare in maniera puntuale il loro attuale valore di mercato ed il potenziale impatto economico e sociale.

Il numero di imprese con attività specifiche di R&S o produzione nell'ambito delle nanotecnologie presenti in Europa è stimato (dati 2011) in circa 1500-2000 [6]. Non vi sono ad oggi dati precisi riguardo agli utilizzatori finali, quindi aziende che, pur non avendo una attività diretta di R&S specifica in questo campo, utilizzano nanomateriali, componenti e dispositivi basati sulle nanotecnologie per i loro prodotti. Considerata l'attività in corso sulle nanotecnologie ed il livello di produzione dei nanomateriali, sembra ragionevole supporre che il loro numero sia aumentato rispetto al dato suddetto.

Una visione ormai ampiamente accettata sulla progressione dello sviluppo delle nanotecnologie le associa con un susseguirsi di generazioni di prodotti e processi, con caratteristiche di complessità crescente, come mostrato in Figura 2 [5].

Già oggi diversi prodotti che si riferiscono a quelli della cosiddetta prima generazione, ed alcuni prototipi e prodotti relativi alla seconda, sono presenti sul mercato, ma lo sviluppo di prodotti/applicazioni relative alle altre generazioni va visto in un'ottica di medio/lungo periodo.

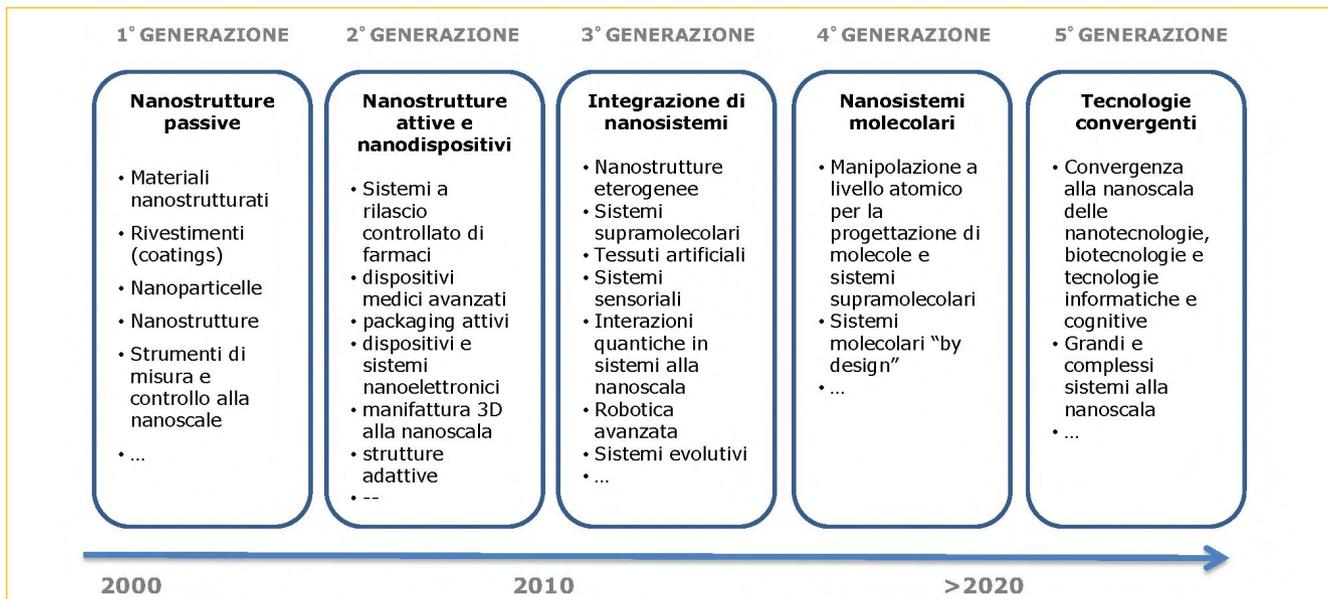
Come già detto, praticamente tutti i principali settori industriali possono trarre vantaggio dalle nanotecnologie. In particolare: chimica e materiali (prodotti e processi), cura della salute e dispositivi me-

dicali, elettronica, ICT, trasporti, energia (immagazzinamento, produzione, trasporto), ambiente.

Una stima qualitativa del mercato globale legato ai prodotti realizzati mediante le nanotecnologie, al 2015, fornisce un'indicazione dei settori principali ai quali essi fanno riferimento [1]:

- materiali: 31%
- elettronica: 28%
- farmaceutica: 17%
- chimica e processi: 9%
- aerospazio: 6%
- altri: 9%

Per quanto riguarda i nanomateriali, solo alcuni di essi vengono già prodotti su scala industriale e venduti sul mercato. I dati disponibili riguardo alla produzione di nanomateriali sono molto variabili. Uno studio del 2012 della



**FIGURA 2** Una visione ormai ampiamente accettata dello sviluppo delle nanotecnologie considera diverse generazioni, con caratteristiche di complessità crescente  
 Fonte: M.C.Roco, 2001 e 2011 [5]

Commissione Europea riporta un consumo globale di nanomateriali di circa 11,5 milioni di tonnellate annue [7]. La grande maggioranza (>95%) è dovuta al “carbon black” e al silicio amorfo (usati principalmente dall’industria degli pneumatici, nell’elettronica e come *filler* nella produzione di polimeri). Del rimanente 5%, quelli prodotti in maggiore quantità risultano essere l’ossido di alluminio, il titanato di bario, il biossido di titanio, l’ossido di cerio, l’ossido di zinco, seguiti in quantità ancora minori dal nanoargento, e dai composti del carbonio quali i nanotubi di carbonio. A questi va poi aggiunta una molteplicità di altri nanomateriali utilizzati per applicazioni molto specifiche o per attività di prototipazione o sperimentali che sono, tuttavia, prodotti in quantitativi estremamente limitati.

Diversi prodotti di consumo sono interessati all’uso di nanomateriali/nanotecnologie (nel breve-medio termine). Tra questi sono i cosmetici ed i prodotti per la cura della persona, prodotti del tessile e dell’abbigliamento, elettrodomestici, prodotti del confezionamento (alimentare).

Ancorché, come indicato sopra, siano disponibili alcuni dati circa l’impatto delle nanotecnologie, date le loro caratteristiche e trasversalità di utilizzo quantificare il peso e l’impatto delle nanotecnologie nei diversi settori industriali rimane un esercizio complesso. Anche solo considerando un nanomateriale specifico si identificano attività di Ricerca e Sviluppo (R&S) legate ad una molteplicità di possibili applicazioni, prodotti e settori di mercato. Per esempio, nel caso del nanoargento, che può conferire proprietà antibatteriche, si stimano essere presenti ad oggi più di 300 prodotti al consumo a livello globale, suddivisi in almeno una decina di ambiti applicativi, con un utilizzo estremamente diversificato del materiale in termini quantitativi e di tipologia (disperso in matrice, sotto forma di nanoparticelle, rivestimenti ecc.).

### Lo scenario nazionale

L’attività nel campo delle nanotecnologie in Italia è piuttosto intensa, con competenze, collaborazioni, finanziamenti ed opportunità di business che sono cresciute nel

corso degli ultimi anni. Attività sulle nanotecnologie sono presenti nelle maggiori università e centri di ricerca pubblici, presso i grandi gruppi industriali e in diverse PMI ad alta specializzazione tecnologica.

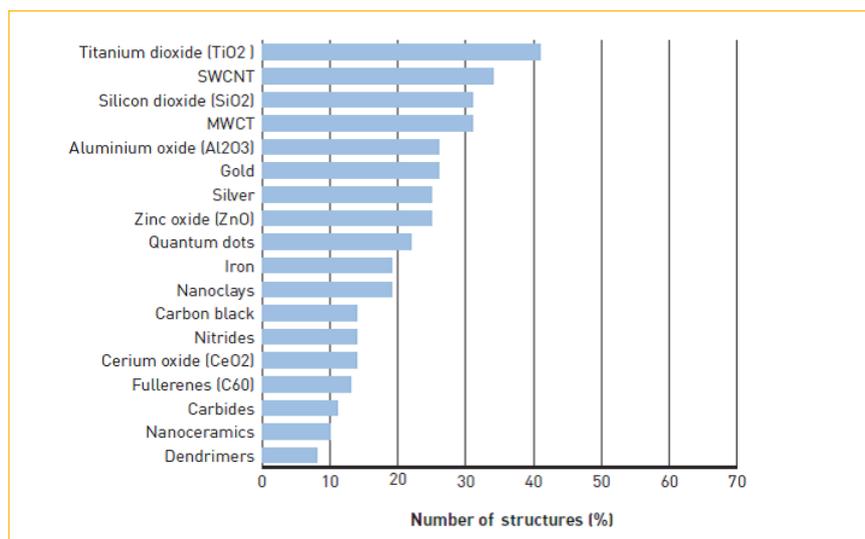
Il crescente impegno a livello pubblico e privato ha permesso lo sviluppo di diverse aggregazioni rilevanti, quali cluster regionali e centri di riferimento universitari. AIRI/Nanotec IT conduce in maniera regolare un Censimento delle iniziative sulle nanotecnologie nel Paese (l’ultima edizione è stata pubblicata nel 2011 [9]). Il documento mostra la presenza di più di 200 strutture con attività di R&S in questo ambito. Di queste, il 55% afferisce alla ricerca pubblica, mentre il restante 45% ad organizzazioni private. Circa due terzi delle strutture private sono PMI, spesso micro (al di sotto di 10 addetti) o piccole imprese, il restante è costituito da grandi imprese, alcune delle quali a carattere multinazionale. Le PMI sono state le principali responsabili della crescita costante del numero di strutture attive in questo campo osservata negli ultimi 6-8 anni.

### Le nanotecnologie in Italia in sintesi

- Buon livello di attività di R&S
- Tutte le principali istituzioni di ricerca pubbliche sono coinvolte
- Crescita costante dell’impegno industriale (grandi industrie e PMI)
- Attività in settori chiave di applicazione: ICT & Elettronica, Trasporti, Farma & Bio, Chimica
- Potenziale di innovazione in settori tipici del Made in Italy
- Crescente presenza sul mercato di prodotti basati sulle nanotecnologie

Le aree verso le quali si rivolgono le attività di R&S sulle nanotecnologie sono numerose, senza sostanziali differenze tra strutture pubbliche e private. La maggior parte di queste attività sono dedicate a materiali strutturali e funzionali, nanomedicina e nanobioteconologie, nanoelettronica ed optoelettronica. Importante, anche se più circoscritta, è anche l'attività nei settori della strumentazione, dei processi e prodotti chimici, dell'energia e dell'ambiente. Notevole attenzione è dedicata alla ricerca di base, anche se, ovviamente, con rilevanza e finalità diverse tra attori pubblici e privati ed alla valutazione dell'impatto delle nanotecnologie sulla salute dell'uomo e sull'ambiente.

La grande maggioranza delle strutture considerate risulta avere attività significative di R&S sui nanomateriali. La Figura 3 mostra in dettaglio la tipologia dei nanomateriali presi in considerazione, in relazione al numero di strutture (in percentuale) nelle quali è svolta tale attività (è importante sottolineare che gli istogrammi non riflettono le quantità dei singoli nanomateriali, ma il numero di strutture impegnate su di essi). Come si può vedere, l'attività riguarda uno spettro di nanomateriali piuttosto ampio, che include diversi composti del carbonio, ossidi di metallo e metalli. Una situazione in buona parte corrispondente con i dati sulla produzione a livello internazionale precedentemente citati. Dai risultati del Censimento, le principali tipologie di utilizzo di tali nanomateriali risul-



**FIGURA 3** Tipologie di nanomateriali in funzione del numero (percentuale) di strutture nazionali con attività di R&S su di essi

Fonte: Third Italian Nanotechnology Census, AIRI, 2011

tano essere in forma di *coatings* e film sottili, nanocompositi, nanoparticelle e materiali nanostrutturati (quali, ad esempio, materiali nanoporosi).

Una valutazione dell'impatto dei nanomateriali e delle nanotecnologie sul sistema industriale italiano è fornita dall'analisi dello studio che AIRI conduce da diversi anni sulle Tecnologie Prioritarie per l'Industria Nazionale [10,11], al quale collaborano oltre cento ricercatori dei più importanti gruppi industriali ed enti pubblici di ricerca italiani.

L'ottava edizione del rapporto, pubblicata a fine 2012, individua 84 tecnologie prioritarie in 8 settori industriali, sulle quali le industrie italiane investono risorse economiche ed intellettuali significative a sostegno del loro impegno di innovazione in un'ottica di breve-medio termine.

Le nanotecnologie ed i nanomateriali interessano tutti gli 8 settori industriali considerati e sono indicate in circa il 50% del totale delle tecnologie prioritarie dello studio AIRI.

L'intero settore della microelettronica e dei semiconduttori fa uso, ormai da diversi anni, di tecniche su scala nanometrica per la realizzazione di dispositivi e sistemi integrati su silicio (componentistica). Tra le tecnologie prioritarie specifiche di questo settore connesse alle nanotecnologie, si possono citare le tecniche di integrazione eterogenea ed il *3D packaging*, la *silicon photonics* e le tecnologie per sensori. Nel settore energia il contributo delle nanotecnologie è fondamentale per il fotovoltaico avanzato. La sinergia tra nanotecnologie, materiali avanzati e sistemi di produzione avanzata consente un incremento delle pre-

## Ricerca ed Innovazione Responsabile nelle Nanotecnologie

Il progetto NanoDiode, avviato nel 2013 nell'ambito del programma NMP del Settimo Programma Quadro (7° PQ) ha l'obiettivo di realizzare un nuovo e coordinato programma di dialogo, coinvolgimento e comunicazione, tra ricercatori, industria, parti sociali, cittadini, in grado di supportare una Ricerca ed Innovazione Responsabile delle nanotecnologie in Europa.



[www.nanodiode.eu](http://www.nanodiode.eu)

stazioni in impianti di produzione dell'energia (quali, per esempio, i cicli combinati a gas naturale) e in diverse tecnologie di separazione, confinamento geologico e riutilizzo della CO<sub>2</sub>.

Nella chimica, le nanotecnologie hanno un ruolo importante nella catalisi di processi chimici (nanocatalizzatori), per applicazioni nel settore ambientale (membrane, filtrazione), per diverse applicazioni relative all'industria manifatturiera, quali per esempio quelle relative a materiali da costruzione ed imballaggi.

Nei settori dell'aeronautica e dei trasporti, nanomateriali e nanotecnologie trovano spazio crescente per applicazioni strutturali e funzionali, al fine di migliorare le prestazioni, l'efficienza energetica, l'impatto ambientale di materiali, strutture e processi. Trattamenti superficiali e nanocompositi sono esempi già oggi ampiamente considerati in questi settori.

Nel settore della cura della salute, le nanotecnologie e le nanobiotecnologie promettono, in un'ottica di medio - lungo periodo, di portare una vera e propria rivoluzione in ambiti quali diagnostica,

farmaceutica e *drug delivery*, tecnologie mini-invasive, ingegneria tissutale.

Nel settore dei beni strumentali (meccanica e strumentazione), le nanotecnologie hanno un ruolo importante nella realizzazione di sensori e componenti meccatronici ad alte prestazioni, nei (nano) materiali strutturali per componenti, macchine e sistemi che migliorino prestazioni, consumi ed impatto ambientale.

### Conclusioni

Le nanotecnologie, in sinergia con le altre Key Enabling Technologies, sono ritenute dall'Europa, come anche dalle altre principali economie mondiali, fondamentali per sostenere i processi di innovazione e di sviluppo e favorire la competitività dell'industria manifatturiera del prossimo futuro, consentendo la realizzazione di prodotti e processi migliorati o del tutto innovativi, ad alto valore aggiunto.

Anche se le realizzazioni più rivoluzionarie debbono essere viste in un orizzonte di lungo periodo, già nel breve-medio periodo le nano-

tecnologie possono contribuire in maniera rilevante a realizzare e migliorare prodotti, componenti e sistemi in settori industriali di grande rilievo per l'economia nazionale.

I problemi da superare sono, tuttavia, ancora molti e richiedono un impegno di ricerca rilevante e continuo. Anche nel caso di applicazioni a breve termine, rimangono da risolvere sia aspetti conoscitivi di base che tecnico-scientifici, quali *scaling-up*, ingegnerizzazione, ottimizzazione di processo, sia questioni legate alla commercializzazione, quali la corretta individuazione di tutte le opportunità di mercato e delle strategie di commercializzazione, la competizione da parte delle tecnologie esistenti (rapporto costi-benefici) e la gestione del rischio.

Il problema della sicurezza e quello di una ricerca ed innovazione responsabili sono fattori chiave da affrontare nello sviluppo di queste tecnologie, se si vuole che le aspettative riposte in esse si realizzino appieno. Le caratteristiche di complessità, l'atteso impatto economico, l'attenzione da parte della società per le potenziali im-

plicazioni etico-sociali che hanno affiancato le nanotecnologie sin dalle prime fasi del loro sviluppo, fanno del raggiungimento di questo obiettivo una sfida ardua da affrontare.

Questo rende indispensabile un processo interattivo di dialogo,

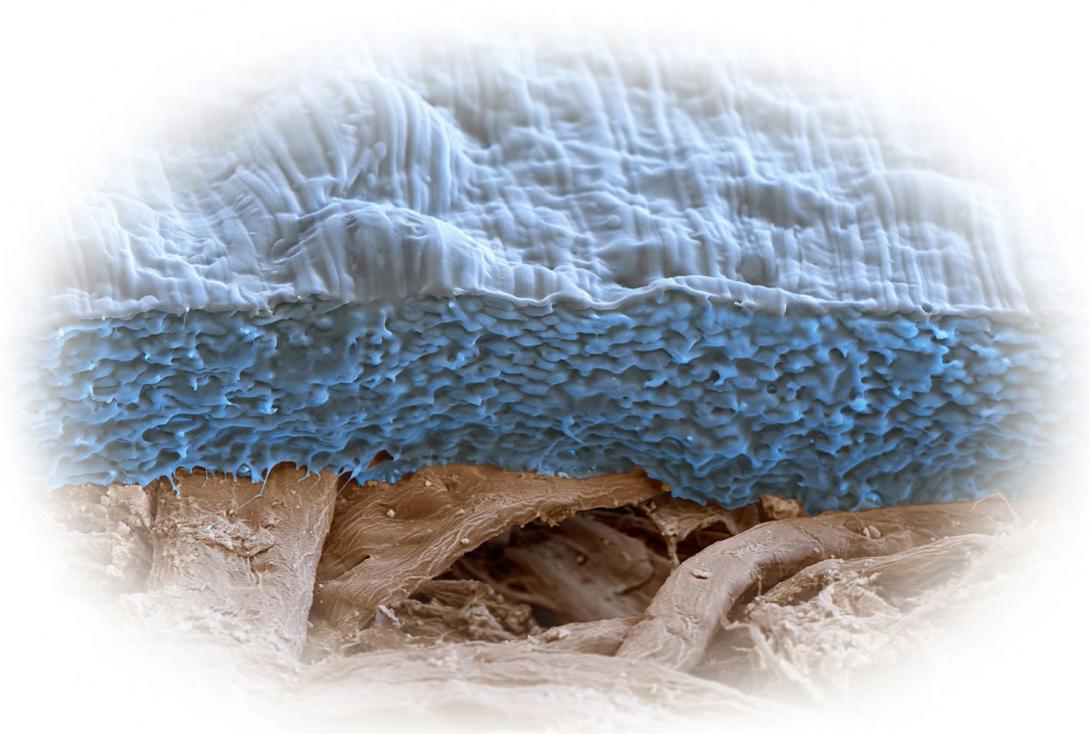
trasparente e costante, tra tutti gli *stakeholder* coinvolti (innovatori e parti sociali) per promuovere una innovazione che sia sicura, eticamente accettabile e rispondente a bisogni reali della società. Il dibattito su questi temi è intenso e al suo sostegno c'è un forte impegno

anche da parte della Commissione Europea. Ricerca e Innovazione Responsabile, per uno sviluppo sostenibile, è obiettivo centrale di Horizon 2020. ●

Andrea Porcari, Elvio Mantovani  
Associazione Italiana  
per la Ricerca Industriale (AIRI) - Roma

#### bibliografia

- [1] Klotz Gernot, *Nanotechnology: a sustainable basis for competitiveness and growth in Europe*, High Level Group on Key Enabling Technologies, December 2010
- [2] Lux Research, *Global Nanotech Spending*, presentato alla Conferenza EuroNanoForum 2011, 30 maggio 2011
- [3] International Standards Organization – Technical Committee on Nanotechnologies (ISO TC 229), *Nanotechnologies business plan, gennaio 2011*
- [4] Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee, *Definition of Nanomaterials*, October 2011
- [5] M. C. Roco et al, US Nanotechnology initiative, *Nanotechnology research directions for societal needs in 2020, Retrospective and outlook summary*, 2011
- [6] The ObservatoryNano Project, *European Nanotechnology Landscape Report*, 2012
- [7] Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee, *Second Regulatory Review on Nanomaterials*, COM(2012) 572 final, October 2012
- [8] INAIL, *Libro Bianco: esposizione a nanomateriali ingegnerizzati ed effetti sulla salute e sicurezza nei luoghi di lavoro*, 2011
- [9] Associazione Italiana per la Ricerca Industriale (AIRI), *Third Italian Nanotechnology Census*, Giugno 2011
- [10] Associazione Italiana per la Ricerca Industriale (AIRI), *Tecnologie Prioritarie per l'Industria Italiana: Innovazioni per il prossimo futuro*, dicembre 2012
- [11] Associazione Italiana per la Ricerca Industriale (AIRI), *Key Enabling Technologies: their role in the priority technologies for the Italian industry*, Apr 2013



# Nanotecnologie e nanomateriali: opportunità di green innovation

Le nanotecnologie stanno diffondendosi sempre più e rientrano nel panel delle tecnologie per la *green innovation* offrendo un vasto potenziale di applicazioni per il supporto della *green growth* e grandi opportunità di sviluppo sociale ed economico in vari settori. Rimangono tuttavia molte questioni aperte riguardo i loro effetti su salute umana e ambiente. Viene pertanto richiesto alla comunità scientifica un lavoro di ricerca multidisciplinare sia per supportare le azioni di regolamentazione sia per fornire utili indicazioni alle aziende nelle fasi di sviluppo, produzione, uso e smaltimento di prodotti appartenenti a tale categoria e di poter bilanciare i benefici e i potenziali rischi dell'innovazione. Questo articolo illustra le principali caratteristiche delle nanotecnologie, la diffusione, alcune delle principali problematiche correlate e riporta l'attività ENEA nell'ambito del progetto europeo NANoREG in supporto alla regolamentazione dei nanomateriali

DOI 10.12910/EAI2015-028

■ G. Barberio, C. Brunori, R. Morabito

## Introduzione

Le tecnologie emergenti ed innovative hanno la possibilità di penetrare nel mercato e modificare profondamente le sue dinamiche. Accade spesso che le innovazioni portino con sé cambiamenti che si ripercuotono innanzi tutto sul sistema produttivo locale (isola di sostenibilità, come definita da Wallner et al, 1996) e successivamente influenzino il sistema a carattere globale con implicazioni di tipo economico, ambientale e sociale. Questo proprio perché le innovazioni possono avere carattere incrementale, e quindi

apportare variazioni graduali, o radicali causando così vere e proprie trasformazioni. L'innovazione radicale è non solo innovazione di prodotto/processo ma innovazione trasversale e macro-organizzativa, perché include diversi settori e differenti *stakeholder* e ha ricadute anche sugli stili di vita e sui comportamenti. Decisori politici, legislatori, istituzioni hanno la necessità di valutare correttamente gli impatti che le innovazioni possono avere sulla società e guidare quindi i cambiamenti. Supporto in tal senso può e deve giungere dal mondo della ricerca in collaborazione con le aziende, perché si possano promuovere le giuste direzioni da seguire. Per indirizzare tali cambiamenti una spinta è fornita dalla *green innovation* quale strumento per volgere verso la *green growth* (OECD n. 5, 2013). I

lavori dell'OECD mostrano che le strategie di *green growth* possono costituire opportunità di crescita economica e maggiore benessere grazie all'obiettivo di aumentare la produttività attraverso una maggiore efficienza nell'uso di energia e risorse naturali, e possono contribuire al consolidamento fiscale e a creare nuove opportunità di lavoro. Le tecnologie emergenti possono, appunto, costituire un modo eco-innovativo di produrre giungendo a prodotti più sostenibili e occorrono anche strumenti di valutazione e mitigazione dei rischi cui il prodotto può dare origine durante il suo ciclo di vita. Molteplici sono gli strumenti che si stanno diffondendo per la valutazione della sostenibilità e dell'eco-innovazione stessa e sono basati su un approccio ciclo di vita o *life cycle thinking*, sulle valutazioni di catene del va-

Contact person: Grazia Barberio  
grazia.barberio@enea.it



lore (Value chain case studies), sui potenziali rischi come il Risk Assessment.

Questo articolo analizza una delle tecnologie emergenti ed innovative, le nanotecnologie (NT), che stanno diffondendosi sempre più e rientrano nel panel delle tecnologie per la *green innovation* offrendo un vasto potenziale di applicazioni per il supporto della *green growth* e grandi opportunità di sviluppo sociale ed economico in vari settori. D'altro canto rimangono ancora molte questioni aperte sul loro attuale e futuro potenziale con particolare riguardo agli effetti sulla salute umana, anche in ambito strettamente occupazionale, e l'ambiente (Som et al., 2013). Nonostante la comunità scientifica abbia concentrato i propri sforzi per colmare le lacune nelle conoscenze tenendo in considerazione i rischi potenziali delle nanotecnologie, siamo ancora lontani da un approccio condiviso. Pertanto viene richiesto alla comunità scientifica un lavoro di ricerca multidisciplinare sia per supportare le azioni di regolamentazione sia per fornire utili indicazioni alle aziende al fine di poterle supportare nelle fasi di sviluppo, produzione, uso e smaltimento di prodotti appartenenti a tale categoria e di poter bilanciare i benefici e i potenziali rischi dell'innovazione.

Di seguito sono illustrate le principali caratteristiche e la diffusione delle NT e alcune delle principali problematiche correlate e viene descritta l'attività ENEA entro il progetto europeo NANoREG in supporto alla regolamentazione della produzione e dell'uso dei nanomateriali.

## Nanotecnologie e nanomateriali: caratteristiche, applicazione e mercato

Le NT fanno riferimento ad un insieme di tecnologie, tecniche e processi che richiedono un approccio multidisciplinare e consentono la creazione e l'utilizzo di materiali, dispositivi e sistemi con dimensioni a livello nanometrico; si tratta di un settore emergente in continua espansione su cui si sta investendo molto in termini di ricerca, economici e di aspettative. Il mondo delle NT è quello compreso tra 1 e 100 nanometri e i "nanomateriali" (NM), secondo la Raccomandazione della Commissione Europea del 18/10/2011, sono definiti materiali contenenti particelle allo stato libero, aggregato o agglomerato e in cui, per almeno il 50% della distribuzione dimensionale numerica, una o più dimensioni esterne sono comprese tra 1 e 100 nm (superficie specifica in volume  $> 60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$ ).

Le NT hanno molteplici applicazioni e portano allo sviluppo di nuovi prodotti o prodotti aventi stessa funzione di quelli già esistenti ma migliori prestazioni, grazie alle proprietà derivanti dall'utilizzo di NT nella loro produzione. Le NT hanno origine dalle idee di un noto scienziato, Richard Feynman, che nel 1959 tenne una conferenza dal titolo "C'è un sacco di spazio laggiù" in cui avanzò l'ipotesi che dal mondo dell'ultra-piccolo sarebbero potuti arrivare grandi cambiamenti a livello macroscopico. Di seguito è riportata la definizione di nanotecnologie fornita da Janez Potočnik, commissario Europeo all'ambiente nel periodo 2010-2014:

*"Nanotechnology is an area which has highly promising prospects for turning fundamental research into successful innovations. Not only to boost the competitiveness of our industry but also to create new products that will make positive changes in the lives of our citizens, be it in medicine, environment, electronics or any other field."*

Il comportamento dei NM viene influenzato dalla dimensione ma anche dalla morfologia, che ne influenza solubilità, mobilità e stabilità. Minore dimensione significa maggiore rapporto superficie/volume quindi maggior numero di particelle disponibili sulla superficie che porta quindi ad una maggiore reattività e infine modificazione delle proprietà chimiche e biologiche. Questa capacità di accelerare le reazioni chimiche viene sfruttata in alcuni processi tecnologici (p. es. nei catalizzatori). Le particolari caratteristiche di efficienza e le innovative proprietà ottiche, meccaniche, elettriche, catalitiche hanno reso molto vantaggioso l'utilizzo dei NM (Tabella 1) in applicazioni quali: sensori di gas; catalizzatori; celle a combustibile; dispositivi biomedicali; utensili da taglio, e altri.

Dall'inizio del 21° secolo le nanotecnologie si sono sviluppate in modo esponenziale. Il volume globale del mercato dei NM è stimato pari a 11 milioni di tonnellate per un valore di mercato 20 milioni di € e si stima possa arrivare a 2 miliardi di € nel 2015. L'ILO (International Labour Organization) prevede che entro il 2020 il 20% circa di tutti i prodotti fabbricati nel mondo impiegheranno una certa quota di nanotecnologie. Le applicazioni di utilizzo dei NM possono cre-

Settore	Utilizzo	Caratteristiche NM
Automotive	Additivi nel combustibile per ottenere una maggiore efficienza di combustione e minori emissioni; additivi per la lubrificazione di motori e su sistemi di raffreddamento	Elevato rapporto superficiale che migliora la reattività e l'efficacia come catalizzatori; possibilità di facilitare la miscelazione di aria e combustibile, assicurando una più completa combustione
Agricoltura	Fertilizzanti, ammendanti e leganti per il suolo	Dimensione che favorisce una migliore distribuzione ed efficacia
Energia	Film fotovoltaici e celle solari; celle a combustibile; batterie eco-compatibili	Ampla finestra di cattura dello spettro solare, maggiore efficienza di conversione di fotoni in energia elettrica, migliore isolamento termico, ottimi come catalizzatori
Elettronica	Fluidi refrigeranti	Maggiori capacità di scambio termico
Packaging	Colle, film di plastica	Proprietà antimicrobiche
Cosmetica	Creme solari	Schermo per raggi UV
Abbigliamento	Tessuti high-tech	Proprietà antimicrobiche, termoregolatrici e antistatiche
Medicina	NP antitumorali NP per diagnosi e terapia dell'Alzheimer	NP lipidiche: trasporto del farmaco nella massa tumorale. NP magnetiche: diagnosi e terapia attraverso l'individuazione delle cellule tumorali. Possibile attraversamento della barriera emato-encefalica con diagnosi e terapia degli aggregati di proteine depositati nel cervello
Bonifiche ambientali	Utilizzo per depurazione di acqua. Utilizzo in filtri per depurazione aria	Nanofiltrazione, separazione magnetica; efficace catalizzazione

**TABELLA 1** Settori di applicazione dei nanomateriali in virtù delle loro caratteristiche

are delle vere svolte tecnologiche e pertanto sono stati identificati come “key enabling technology”, ovvero tecnologie a carattere abilitante. Dal punto di vista strettamente economico, il settore dell'elettronica (European Strategic Research Agenda on Nanoelectronics) ha attualmente la parte del leone e, insieme ai materiali, rimarrà al top anche in futuro. L'impatto delle NT nel campo della farmaceutica e, più in generale, della cura della salute oltre che dal punto di vista economico sarà rilevante anche dal punto di vista dell'impatto sociale. La “nanomedicina” promette infatti di rivoluzionare letteralmente la pratica medica mettendo a disposizione nuovi e più efficaci strumenti diagnostici e sistemi di cura innovativi, che possono favorire l'introduzione di terapie personalizzate (European Strategic Research Agenda on Nanomedicine). Altrettanto importanti possono essere le ricadute positive delle NT per l'ambiente. Il loro apporto può essere infatti determinante per lo sviluppo di processi produttivi più efficienti, meno inquinanti, con minor consumo di materie prime, per la realizzazione di nuovi sistemi energetici, o di disinquinamento, in una parola, le na-

notecnologie possono contribuire in maniera decisiva alla promozione di uno sviluppo sostenibile.

A livello internazionale, in diversi Paesi sono state condotte ricerche di mercato per individuare quali NM sono presenti in quali prodotti. I risultati sono raccolti in banche dati (DB) accessibili:

- *Wissensplattform DaNa*: (in tedesco o inglese) – Dati e conoscenze sui NM, curata dall'Istituto di tecnologia di Karlsruhe. La banca dati contiene informazioni sui prodotti e sugli impieghi dei NM (<http://nanopartikel.info/cms>).
- *Project on Emerging Nanotechnologies: Consumer Products* (in inglese) – Banche dati dei prodotti curate dal Woodrow Wilson International Centers for Scholars su numerosi prodotti riconducibili all'utilizzo delle nanotecnologie sono già disponibili sul o in procinto di esserlo. Questo inventario non vuole essere esaustivo ma rende disponibili 1,600 produttori correlate a produzione di prodotti basati su nanotecnologie (<http://www.nanotechproject.org/cpi>).
- *Nanotechnology Products data-*

*base* (in inglese) – Banca dati del portale Internet Nanowerk sui NM e i loro fornitori. Lo scopo di questo DB è fornire un'idea su come e dove sono utilizzati strumenti/materiali/strutture basati su processi di nanoscala. (ad es si elenca Intel's nanostructured Core Processor ma non computer come Apple's MacBooks, che possono contenere questi chips (<http://www.nanowerk.com/products/products.php>).

Inoltre vi è un database sui NM in Europa pubblicato dal RIVM olandese (2010) “Nanomaterials in consumer products”, in cui è stato effettuato un censimento dei prodotti da consumo che contengono NM. Il primo censimento era stato fatto nel 2007 e nel 2010 è stato fatto un aggiornamento. I risultati ottenuti nel 2010 rivelano un aumento di sei volte (da 143 prodotti nel 2007 a 858 prodotti nel 2010). L'obiettivo è quello di fornire un DB, in virtù del quale poter stimare l'esposizione dei consumatori ai NM (step utile per la valutazione di rischio) e per far questo il DB offre la possibilità di conoscere sia quali prodotti contengono NM sia le ulte-

riori caratteristiche dei NM (come forma, concentrazione, localizzazione) ma anche il numero di persone che utilizzano quei prodotti, il tipo di utilizzo (all'aperto o in casa) e la frequenza.

### Potenziati problematiche dei nanomateriali

Ciò che occorre sottolineare è che lo schema regolatorio vigente non garantisce la tracciabilità del mercato e ad oggi non c'è obbligo di registrazione o di indicazione di presenza di NM su etichette, con l'unica eccezione del settore dei cosmetici (più dettagli nell'articolo "Strumenti di valutazione impatto ambientale di nanomateriali", che chiude la rubrica Spazio aperto in questo fascicolo).

A seconda del tipo, i NM o le nanoparticelle (NP) di cui sono costituiti, possono essere rilasciate in atmosfera, nonché nel suolo e nelle acque superficiali, sotto forma di aerosol. Possono essere immesse nell'ambiente come NP nude, funzionalizzate, aggregate, o incorporate in una matrice. Possono persistere nell'ambiente per lungo tempo o essere assorbite da organismi. Possono costituire rischio ecotossicologico, biodegradarsi o bioaccumularsi nella catena alimentare. Gli esseri umani possono assorbire le NP tramite inalazione, ingestione o attraverso la pelle.

Alcune delle proprietà che rendono i NM così unici per le applicazioni tecnologiche (forma, piccole dimensioni, composizione chimica, struttura e maggiore area superficiale) possono invece mettere in

pericolo la salute umana attraverso l'induzione di effetti sulle cellule, tessuti, organi. Possono provocare stress ossidativi e infiammazioni, penetrano le barriere biologiche provocando danni ai tessuti, con i conseguenti effetti sistemici, interagiscono con macromolecole biologiche e possono essere trasportate attraverso il flusso sanguigno ad altri organi vitali dove si possono causare complicanze cardiovascolari o extrapolmonare (Arvidsson, 2012). Più piccole sono le particelle, più ampia è l'area superficiale per unità di massa, il che rende i NM molto reattivi. Una maggiore mobilità ed interazione nei comparti ambientali e con organismi, può generare potenziali uptake, bioaccumulo e tossicità e quindi danni per la salute umana e l'ambiente.

La valutazione di rischio per queste sostanze si rende necessarie e citando SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), gennaio 2009, *"Non c'è un paradigma applicabile alla identificazione dei pericoli dei nanomateriali, quindi si raccomanda un approccio caso per caso per la loro valutazione del rischio .....aspetti specifici legati alle peculiarità dei nanomateriali richiedono ulteriori approfondimenti."*

Vi sono ancora dei gap di conoscenza sia per la valutazione dell'esposizione che della tossicità. Come si legge in un estratto dallo Staff Working Paper della Commissione Europea - Ottobre 2012, per quanto riguarda il pericolo dei NM la conoscenza della tossicologia dei NM è in continua evoluzione, i dati sperimentali disponibili sono stati generati con dosi molto elevate, gli

effetti più comunemente osservati sono stress ossidativo, risposta infiammatoria, effetti genotossici, tumori. Invece a basse dosi, molti NM mostrano effetti contenuti. Pertanto, le conclusioni sulla pericolosità dipendono strettamente dalla significatività della dose (rappresentativa di condizioni di esposizione reali). In merito all'esposizione ai NM si evidenzia che: pochi dati e modelli di esposizione sono disponibili; è difficile distinguere tra NP prodotte incidentalmente o ingegnerizzate; aspetti legati all'esposizione possono essere affrontati con considerazioni generali ed assunzioni; infine vi sono lacune sul destino ambientale. L'approccio suggerito per la valutazione di sicurezza e sostenibilità di nanotecnologie e NM include studi di analisi di rischio (RA) lungo tutto il ciclo di vita dei prodotti basati su NM e nanotecnologie, e quindi studi di LCA. Secondo l'opinione emersa in SCENIHR (2007), le correnti metodologie descritte nella guida per l'analisi di rischio delle sostanze chimiche, il Technical Guidance Document (TGD, 2003) possono essere il punto di partenza per le valutazioni di rischio dei NM ma richiedono modifiche per la valutazione dei danni alla salute umana e all'ambiente.

Tuttavia, ad oggi, molti aspetti richiedono ulteriori approfondimenti, principalmente a causa di questioni relative a: numero limitato degli studi, periodi di esposizione brevi, composizione differente delle NP testate. Bisogna prestare particolare attenzione sugli aspetti metrologici poiché, nonostante sia stato trovato che diversi parametri possono contribuire alla pericolosità delle NP

(quali dimensioni, massa, composizione chimica, area superficiale, concentrazione, stato di aggregazione e di agglomerazione, solubilità in acqua e chimica superficiale, struttura morfologica), allo stato attuale non c'è consenso sulle specifiche relazioni con gli effetti tossici.

## NANoREG

Il Progetto NANoREG nasce come proposta in risposta alla call del Settimo Programma Quadro della Commissione Europea NMP.2012.1.3-3 Regulatory testing of nanomaterials. Il progetto "NANoREG - A common European approach to the regulatory testing of nanomaterials", che ha una durata di 42 mesi ed è partito a marzo 2013, è relativo alla definizione di test e procedure per la regolamentazione dell'utilizzo dei NM in Europa, per i quali, nonostante siano già ampiamente commercializzati, non esistono approcci sistematici di caratterizzazione e di definizione del rischio associato al loro utilizzo. Il progetto riveste una grande importanza dal punto di vista strategico, sia in ambito nazionale che internazionale, per molteplici ragioni:

- il consorzio progettuale comprende le più significative competenze nel campo della "safety" dei nano materiali dei maggiori Paesi Europei;
- dai risultati del progetto scaturiranno le regole di progettazione e utilizzo dei nano materiali in Europa con impatto trasversale su tutte le attività di ricerca e sul mercato dei prodotti e delle nuove tecnologie basati sull'utilizzo di nano materiali;

- il progetto avrà pesanti ricadute sul mondo della ricerca e sul tessuto produttivo Europeo in quanto i risultati impatteranno sul futuro utilizzo dei nano materiali in Europa.

Il progetto è stato fortemente voluto dalla Commissione Europea, che auspica l'attiva collaborazione tra le maggiori competenze Europee nel campo dei nano materiali finalizzata all'armonizzazione delle procedure di caratterizzazione e alla regolamentazione condivisa del loro utilizzo e della definizione della loro eventuale pericolosità, con approccio analogo e conforme a quello già esistente a livello europeo per le sostanze chimiche (regolamento REACH). Vista l'importanza strategica del progetto per il sistema Europa, la Commissione ha previsto per questo progetto il coinvolgimento attivo dei Paesi membri, sia richiedendo un co-finanziamento nazionale pari a 4-5 volte il finanziamento della Commissione Europea, sia con la presenza di coordinatori nazionali che abbiano capacità di intervenire sulla normativa per le sostanze chimiche; in Italia, il ruolo di coordinatore nazionale è svolto dal Ministero della Salute. Al progetto partecipano 59 partner da 15 Paesi Europei (Austria, Belgio, Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Irlanda, Italia, Norvegia, Paesi Bassi, Portogallo, Regno Unito, Spagna, Svezia, Svizzera); il coordinamento generale di progetto è svolto dal Ministero dell'Ambiente Olandese.

I partner italiani sono cinque: l'ENEA, l'ISS, il CNR, l'IIT e Veneto Nanotech.

L'ENEA, tramite l'Unità Tecnica Tecnologie Ambientali, coordina la par-

tecipazione al progetto di cinque Unità Tecniche ENEA con competenze complementari sulla tematica della "nanosafety": Unità Tecnica Radiobiologia e salute umana, Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali, Unità Tecnica Modelli, metodi e tecnologie per la valutazione ambientale e Unità Tecnica per lo sviluppo tecnologico - Portici.

Il progetto NANoREG è suddiviso in 6 workpackage (WP) scientifici oltre a due WP di disseminazione e di gestione del progetto stesso. Nella Tabella 2 è riportata la lista dei WP e task di progetto, in grassetto sono evidenziati i task in cui è attiva la partecipazione ENEA.

Si tratta di un progetto molto complesso i cui obiettivi principali consistono in:

- fornire risposte e soluzioni a partire dai dati esistenti, se necessario integrati con nuove informazioni ricercate ad hoc nell'ambito del progetto;
- fornire un toolbox di strumenti utili per la definizione del rischio, la caratterizzazione, i test tossicologici e la misura dell'esposizione dei NM;
- sviluppare, nel lungo termine, nuove strategie di testing adatte alle esigenze di innovazione
- stabilire una stretta collaborazione tra autorità, industria e scienza per una gestione del rischio per NM e prodotti che li contengono, secondo approcci efficaci e applicabili.

L'approccio interdisciplinare che vede il coinvolgimento dei maggiori stakeholder tra regolatori, ricercatori e industria si auspica contribuisca significativamente alla riduzione dei rischi derivanti dall'u-

	Workpackage	Task
Project drive	WP1 Scientific answers to regulatory issues	1.1 Refinement of problem identification and formulation of questions, , including interaction with stakeholders.
		1.2 GAP analysis
		1.3 Interaction with WP 2-6 on the scientific answers to the issues/questions related to regulatory needs for nanomaterials safety assessment and management
		1.4 Framework development
		1.5 Data platform and data management
		1.6 Working Groups (addressing Value Chain Case Studies and other R&D related activities)
		1.7 NANoREG Instruments Toolbox for regulators and legislators
Giving credibility to the regulatory context	WP2 Synthesis, supplying and characterization	2.1 MNM synthesis and procurement
		2.2 Identification of MNM according to the EC regulatory definition
		2.3 MNM characterization SOPs for regulatory purposes
		2.4 Test item preparation, exposure, dose and fate for regulatory purposes and toxicology
	WP3 Exposure through life cycle analysis	3.1 Identification and elaboration of exposure scenarios
		3.2 Release of MNM
		3.3 Measurement of exposure
		3.4 Exposure modelling
		3.5 Effectiveness of risk management measures
	WP4 Biokinetics and Toxicity testing in vivo	4.1 Inhalation: Nano In Vivo: chronic and carcinogenicity study testing GBP nanomaterials
		4.2 Long term effects of nanomaterials: systemic toxicity (histopathological evaluation)
		4.3 Organ burden quantification
		4.4 Pattern of particle distribution in organs
4.5 Other biokinetic and oral, dermal, inhalation toxicity studies in vivo		
4.6 Kinetics and toxicity in aquatic organisms		
Accelerating the regulatory process	WP5 Advancement of Regulatory Risk Assessment and Testing	5.1 Develop criteria for categorization, read-across, and extra-/intra-polation
		5.2 Develop solubility testing procedures
		5.3 The relevance of barriers
		5.4 Inhalation toxicity modelling/in vitro
		5.5 In vitro toxicity assays connected to regulatory questions
		5.6 Develop a rapid high throughput screening methodology
		5.7 Develop decision tree for risk assessment
Keeping pace with innovation	WP6 Keeping pace with innovation	6.1 Linking risk analysis into innovation
		6.2 Safe by design: lessons learned from drug development testing
		6.3 Safe by design: practical approach and examples
Dissemination	WP7 Liaisons, Dissemination, Exploitation and Communication	7.1 Liaisons with international organisations
		7.2 Interaction with the NANoREG National Coordinators
		7.3 Transfer of the NANoREG results to the national liaison partners and industry
		7.4 International dissemination and communication
		7.5 IPR management
Management	WP8 Project management	

**TABELLA 2** Lista e definizione dei Workpackage e dei Task del progetto NANoREG

Note: ENEA partecipa alle attività WP 4 "Biokinetics and toxicity testing in vivo", contribuendo alla caratterizzazione della genotossicità di esposizioni inalatorie croniche a CeO<sub>2</sub> in un modello sperimentale di ratto (più dettagli nell'articolo "Stato dell'arte e prospettive della valutazione tossicologica di nanomateriali ingegnerizzati", più avanti in questo fascicolo). Nell'ambito delle attività del WP 6, ENEA partecipa alla definizione di raccomandazioni per l'albero decisionale per la progettazione di NM contenuto nel toolbox NANoREG, mediante la preparazione di un inventario sulla struttura e gli obiettivi degli alberi decisionali attualmente utilizzati dai partner e l'identificazione delle caratteristiche chimico-fisiche rilevanti per la formulazione dell'albero decisionale (più dettagli nell'articolo "I nanomateriali e l'ambiente", più avanti in questo fascicolo).

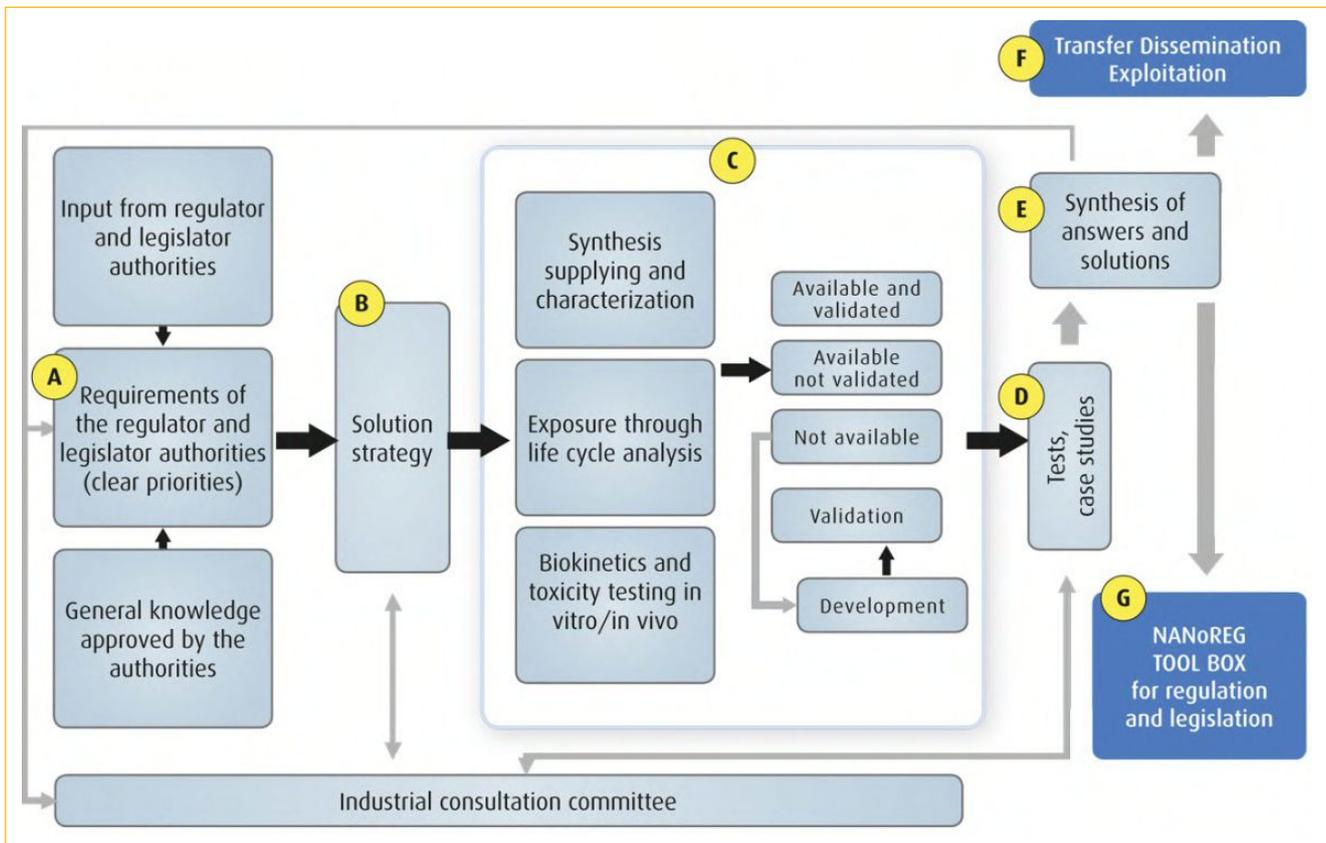


FIGURA 1 Flusso di lavoro del progetto NANoREG (www.nanoreg.eu)

utilizzo di NM nei prodotti industriali e di largo consumo.

Il progetto NANoREG parte dalle conoscenze esistenti e dalla loro integrazione con le maggiori esigenze da parte dei regolatori, con l'identificazione delle principali lacune da colmare. Al fine di identificare le principali esigenze regolatorie nel settore dei NM e al fine di garantire un approccio armonico a livello Europeo e globale, nell'ambito del progetto saranno stabilite interazioni attive con le autorità regolatorie e legislative dei Paesi partner di Progetto, con le industrie e le imprese coinvolte nel settore dei NM, con gli Istituti di standardizza-

zione e di regolazione a livello internazionale.

Il flusso di lavoro all'interno del progetto NANoREG è descritto in Figura 1.

Il WP 1, in cui ENEA partecipa in maniera estesa, riveste particolare importanza, in quanto è al suo interno che vengono definite e coordinate le attività svolte nei workpackage tecnici (WP2-WP6). Gli obiettivi generali del WP1 sono:

- identificare, formulare e definire le priorità per le esigenze/ricieste relative alla regolamentazione della valutazione della sicurezza e della gestione dei

NM, definite dalle autorità e dagli stakeholder rilevanti;

- formulare risposte alle suddette esigenze/ricieste utilizzando le informazioni raccolte nell'ambito dei WP tecnici;
- consolidare le informazioni prodotte nei WP tecnici al fine di sviluppare un quadro generale per approcciare la sicurezza dei NM, applicabile in tutti i tipi di legislazione;
- assicurare uno sviluppo iterativo delle domande e risposte regolatorie.

Sono stati attualmente identificate tre esigenze/lacune prioritarie relative a:

1. *Come identificare i nanomateriali*  
Seguendo l'attuale definizione europea è possibile identificare i NM, ma non i rischi associati. Occorre: procedere con una separazione dell'identificazione dei NM in base allo scopo per cui viene applicata; armonizzare la definizione di NM in diverse legislazioni, mantenendo le informazioni specifiche aggiuntive richieste per i NM nelle diverse legislazioni. Sono inoltre necessarie maggiori informazioni sulle caratteristiche che influenzano il rilascio, il destino, l'esposizione, gli effetti dei NM.
2. *Trasformazione dei nanomateriali*  
Attualmente c'è una limitata conoscenza sui fenomeni di dissoluzione dei NM (circostanze, grado, velocità di dissoluzione). Inoltre c'è una conoscenza limitata circa le condizioni che modificano o non modificano la struttura dei NM. I metodi che distinguono tra le particelle elementari e loro agglomerati e aggregati risultano essenziali nella identificazione dei NM. C'è necessità di standardizzare e convalidare metodi per testare o prevedere l'entità e la velocità della trasformazione dei NM.
3. *Come quantificare le Dose metrics*  
L'informazione sulla dose è necessaria per comparare i rischi dei NM, ma essa varia in funzione della tipologia di NM, delle vie di esposizione, della cinetica e dei recettori finali. Occorrono maggiori informazioni sulle proprietà/caratteristiche dei NM che regolano l'esposizione, la

cinetica e la tossicità, così come maggiori protocolli standardizzati per preparare il campione.

Inoltre sono state identificate altre tematiche che necessitano di essere approfondite per gli aspetti regolatori, ad esempio quali sono le differenze di assimilazione, distribuzione e accumulo per differenti NM e quali sono le caratteristiche critiche dei NM che occorre tenere in considerazione per sviluppare NM più sicuri.

Infine è stato rilevato che la valutazione delle NT dovrebbe essere basata su una prospettiva del ciclo di vita, mediante l'utilizzo del Life Cycle Assessment, così come raccomandato dalla Commissione Europea. In particolare, è stato raccomandato che la valutazione del ciclo di vita venga utilizzata in combinazione con la valutazione del rischio al fine di ottenere risultati più attendibili; in virtù del loro ruolo complementare e per la rilevanza di entrambi ai fini decisionali, occorre sviluppare metodologie per il loro utilizzo combinato che permetta di superare i limiti del loro utilizzo separato (più dettagli nell'articolo "Strumenti di valutazione impatto ambientale di nanomateriali").

Infine, ENEA partecipa e coordina azioni di disseminazione, informazione e coinvolgimento attivo di stakeholder nazionali (imprese soprattutto), mediante interfaccia con MISE e attività ENEA di Helpdesk REACH Nazionale. Tra queste rientra l'organizzazione del Webinar "Attività regolatoria sui nano materiali: punto della situazione e prospettive" del 28/01/2014, che ha

visto coinvolti diversi esperti e ha riscosso un successo di partecipazione (oltre 200 partecipanti, di cui il 30% appartenenti a imprese, il 21% a società di consulenza, il 14% a Università e studenti di Master, il 5% a Ministeri/istituti Governativi e il 25% a Enti di ricerca).

## Conclusioni

Proiezioni a lungo termine suggeriscono che senza cambiamenti di politica, i modelli di sviluppo e la crescita *business as usual* saranno insostenibili (Ronchi et al., 2013). Essi potrebbero determinare un'accresciuta scarsità d'acqua, riduzione di risorse, inquinamento dell'aria e dell'acqua, cambiamenti climatici e perdita di biodiversità che sarebbero irreversibili e imporrebbero costi umani e impedimenti allo sviluppo economico futuro. L'unica strategia attuabile è cambiare il modello di sviluppo e renderlo più green e più inclusivo, trovare nuovi modi di produrre e consumare, ridefinire ciò che si intende per progresso e come lo vogliamo misurare. Questo cambiamento viene indicato come passaggio ad una *green economy* che implica la capacità di innovare non solo cicli produttivi e consumi, ma anche approcci culturali e stili di vita. La realizzazione passa attraverso lo sviluppo e la messa in pratica dell'eco-innovazione, ovvero dell'innovazione che tiene conto non solo del profilo economico, ma anche delle dimensioni sociale e ambientale come componenti imprescindibili dello sviluppo sostenibile. È necessario dunque promuovere uno sviluppo

sostenibile delle nanotecnologie e un approccio responsabile allo sviluppo di questa tecnologia innovativa, come fortemente raccomandato dalla Comunità Europea (“Recommendation on a code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research” C(2008) 424 final).

Le prospettive rivoluzionarie associate alle NT derivano dal fatto che, a questi livelli di dimensioni, comportamenti e caratteristiche della materia cambiano drasticamente e le NT rappresentano un modo radicalmente nuovo di produrre per ottenere materiali, strutture e dispositivi con proprietà e funzionalità grandemente migliorate o del tutto nuove.

Condizione essenziale perché le aspettative riposte nelle nanotecnologie si realizzino veramente, è che

gli eventuali rischi e le implicazioni socio-economiche associati ad esse siano valutati tempestivamente e ridotti al minimo. Ciò richiede, in particolare, la definizione di una terminologia chiara e condivisa, un approccio proattivo alla gestione del rischio, una eventuale revisione e armonizzazione delle legislazioni esistenti, cooperazione e coordinamento tra i vari organismi pubblici, industria e ricerca a livello nazionale ed internazionale. Tutto ciò va completato con una informazione ed un dialogo con il pubblico trasparenti ed affidabili, che rassicurino e prevenivano l'insorgere di pregiudizi.

Nel 7° Programma Quadro, la Commissione Europea, ha posto l'approfondimento degli aspetti legati alla sicurezza ed alle implicazioni sociali, tra le priorità di progetti concer-

nenti le nanotecnologie. Tra questi si annovera il progetto NANOREG che ha come obiettivo principale il raggiungimento di una regolamentazione che possa essere motore per l'innovazione piuttosto che ritardarla, garantendo la sicurezza di esposizione di ambiente e popolazione. I principali attori sono il mondo industriale, i regolatori e il mondo scientifico che devono collaborare strettamente per l'elaborazione di strategie per raggiungere gli obiettivi, attraverso le azioni di: eco-innovazione, comunicazione, elaborazione di metodi e integrazione degli stessi con relativa applicazione per giungere allo sviluppo di database su NM. ●

Grazia Barberio, Claudia Brunori,  
Roberto Morabito  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie Ambientali

## bibliografia

- [1] Avidsson R., Contributions to Emission, Exposure and Risk Assessment of Nanomaterials. Environmental Systems Analysis Energy and Environment, Chalmers University of Technology Gothenburg, ESA report 2012:11, Sweden, ISBN 978-91-7385-737-6. 2012
- [2] OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development. Nanotechnology for Green Innovation. OECD Science, Technology and Industry Policy Papers, No. 5. 2013.
- [3] OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development. Environmentally sustainable use of manufactured nanomaterials. Workshop held on 14 September 2011 in Rome, Italy Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 39, ENV/JM/MONO(2013)17, 06-Aug-2013.
- [4] RIVM - Istituto olandese per la salute pubblica e l'ambiente. Report 340370003/2010
- [5] Ronchi E, Morabito R, Federico T, Barberio G. Un green new deal per l'Italia. Edizioni Ambiente. ISBN 978-88-6627-106-2. 2013.
- [6] Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR). “Risk assessment of products of nanotechnologies”, 2009. “Opinion on the appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the Technical Guidance Documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials”, 2007. European Commission. Health & Consumer Protection DG. Risk assessment. Brussels: Directorate C: Public Health and Risk Assessment, Unit C7.
- [7] Som C, Nowack B, Krug HF and Wick P. Toward the development of decision supporting tools that can be used for safe production and use of nanomaterials, Accounts of chemical research, vol46, n.3, 863-872. 2013.
- [8] Technical guidance Document (TGD) in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. Part I, II, III and IV. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2003.
- [9] Wallner H. P., Narodoslowsky M., Moser F., Islands of sustainability: a bottom-up approach towards sustainable development. in Environment and Planning 28 (10): 1763-1778, 1996.

# Produzione di nanomateriali: tecnologie chimiche e fisiche

Si definiscono nanomateriali quei materiali che hanno almeno una dimensione nell'intervallo compreso tra 1 e 100 nm. Con il termine nanotecnologia si fa riferimento, invece, allo studio dei fenomeni e della manipolazione dei materiali a livello atomico e molecolare. I materiali portati alle dimensioni nanometriche assumono particolari proprietà chimico-fisiche differenti dai corrispondenti macromateriali convenzionali. Intervenendo sulla struttura dei materiali a scala nanometrica è possibile controllarne alcune fondamentali proprietà (ad es. temperatura di fusione, proprietà magnetiche ed elettriche) senza variarne la composizione chimica. In tale ottica sono di fondamentale importanza la conoscenza e il controllo dei processi produttivi al fine di progettare e ottenere il nanomateriale più adatto a una specifica applicazione. A tale scopo vengono descritti una serie di processi di produzione dei nanomateriali con esempi applicativi

DOI 10.12910/EAI2015-029

■ L. Giorgi, E. Salernitano

## Introduzione

L'interesse per i nanomateriali e le nanotecnologie ha assunto negli ultimi anni un livello tale che i due termini sono oramai familiari non solo agli addetti ai lavori, ma anche ad un pubblico più ampio. Si definiscono nanomateriali tutti i materiali caratterizzati dall'aver almeno una delle tre dimensioni spaziali inferiori ai 100 nm. La scala nanometrica rappresenta una zona di confine in cui si attua il passaggio tra il mondo macroscopico, regolato dalle leggi della fisica classica, e la scala atomica, regolata invece dalla meccanica quantistica. Le nanotecnologie presuppongono la capacità di controllare e manipolare la materia su scala nanometrica e hanno come obiettivo lo sfruttamento delle proprietà e dei fenomeni fisici e chimici che si manifestano su tale

scala dove, a causa dell'elevatissimo rapporto superficie/volume, diventano predominanti le proprietà degli atomi di superficie che sono numericamente prevalenti.

Nanomateriali e nanotecnologie si sono sviluppati come conseguenza dei significativi progressi della scienza dei materiali. Sono settori di ricerca altamente interdisciplinari, che riguardano contemporaneamente la fisica, la chimica, la biologia, la scienza dei materiali e tutte le discipline ingegneristiche, rendendoli estremamente ricchi di potenzialità ma, allo stesso tempo, molto complessi da studiare.

I nanomateriali possiedono specifiche proprietà strutturali e funzionali diverse sia da quelle su scala atomica che da quelle di massa [1]. Possono essere prodotti con varie tecnologie ed è da aspettarsi che il

loro impiego avrà un notevole impatto nello sviluppo industriale e nella vita quotidiana, in particolare nei seguenti settori: energia, trasporto, elettronica industriale e di consumo, salute, edilizia ecc.

## Classificazione e proprietà dei nanomateriali

Per comprendere e apprezzare la diversità dei nanomateriali è necessaria una certa categorizzazione e il metodo migliore è quello di classificarli in base alla loro dimensionalità, cioè al numero delle dimensioni che sono confinate nel campo della

Contact person: Leonardo Giorgi  
leonardo\_giorgi@libero.it

nanoscala (<100 nm). Come mostrato in Tabella 1, si distinguono quindi strutture zero-dimensionali (0D, in cui tutte e tre le dimensioni sono su scala nanometrica), mono-dimensionali (1D, in cui solo una delle tre dimensioni è superiore ai 100 nm), bi-dimensionali (2D, in cui solo una delle tre dimensioni è su scala nanometrica) e tri-dimensionali (3D, in cui nessuna delle tre dimensioni è su scala nanometrica). A queste categorie possono poi appartenere materiali amorfi o cristallini, mono o policristallini, costituiti da uno o più elementi chimici, isolati o integrati in una matrice ecc., offrendo quindi una gamma di possibilità e combinazioni molto ampia.

I materiali ridotti a scala nanometrica possono mostrare proprietà differenti rispetto a quelle che esibiscono su scala macroscopica, rendendo possibili applicazioni uniche: materiali opachi diventano trasparenti (rame); materiali chimicamente inerti acquistano proprietà catalitiche (oro, nichel, ferro); materiali stabili diventano combustibili (alluminio); materiali isolanti diventano conduttori (silicio). Tali cambiamenti sono legati a effetti quantistici quali la variazione della struttura elettronica, un elevato numero di atomi superficiali, un aumento dei legami insaturi (dangling bond), le variazioni della banda proibita (band gap).

### Tecnologie per la produzione di nanomateriali

Il controllo del processo di sintesi dei nanomateriali, cioè la capacità di ottenere nanostrutture con

Nanomateriali tipici		Dimensioni	Materiali
(0D)	Nanocristalli, cluster, quantum dots	Diametro 1-10 nm	Metalli, semiconduttori, materiali magnetici
	Altre nanoparticelle	Diametro 1-100 nm	Ossidi ceramici
(1D)	Nanofili	Diametro 1-100 nm	Metalli, semiconduttori, ossidi
	Nanotubi	Diametro 1-100 nm	Carbonio, TiO <sub>2</sub> , ZnO
(2D)	Matrici di nanoparticelle	Svariati nm <sup>2</sup> -µm <sup>2</sup>	Metalli, semiconduttori, materiali magnetici
	Superfici e film sottili	Spessore 1-100 nm	Materiali vari inorganici e organici
(3D)	Strutture tridimensionali	Diversi nm nelle tre dimensioni	Metalli, semiconduttori, materiali magnetici

**TABELLA 1** Classificazione dei nanomateriali

Metodi in fase vapore	Deposizione fisica da fase vapore (PVD)
	Deposizione chimica da fase vapore (CVD) con diversi sistemi di attivazione (T=thermal, PE=plasma enhanced, HF=hot filament, MO=metal organic, MW=micro wave ecc.)
Metodi in fase gas	Pirolisi in fiamma
	Ablazione laser
	Sintesi in plasma con radiofrequenza (RF) e microonde (MW)
	Plasma spray
	Condensazione in gas inerte
Metodi allo stato solido	Espansione in gas inerte (free-jet)
	Alligazione meccanica
	Sintesi meccanochimica
Metodi chimici	Macinazione
	Deposizione sol-gel
	Sintesi idrotermica
	Sintesi organica, inorganica e metallo-organica
	Sintesi elettrochimica
	Elettrodeposizione (ELD)
	Autoassemblaggio
Trattamento sono-chimico	

**TABELLA 2** Tecnologie di sintesi dei nanomateriali

specifiche morfologie, e quindi controllate, è un requisito fondamentale per ottenere il materiale

più adatto ad una specifica applicazione.

Gli approcci utilizzati possono essere di tipo chimico e fisico. L'approccio chimico (detto anche "bottom up") si basa sull'assemblaggio di atomo dopo atomo o molecola dopo molecola, per costruire il nanomateriale. A questo scopo viene sfruttata la capacità che hanno alcuni atomi o molecole di autoassemblarsi in ragione della loro natura e di quella del substrato. L'approccio fisico (detto anche "top down") si basa, invece, sulla creazione di strutture molto piccole partendo da macromateriali, come nel caso dei "microchip" di silicio. Nella pratica, la sintesi dei nanomateriali è effettuata con tecnologie che possono anche combinare l'approccio chimico con quello fisico. Nella Tabella 2 sono riportati alcuni tra i metodi più comunemente utilizzati per la sintesi di nanomateriali, classificati in base alla tipologia. Di seguito saranno descritti alcuni dei metodi più comunemente impiegati, indicando anche il tipo di dimensionalità del nanomateriale che è possibile ottenere. Maggiori dettagli saranno forniti con riferimento in particolare all'elettrodeposizione, alla sintesi chimica di nanotubi e alla deposizione chimica da fase vapore. Di tali tecnologie di sintesi saranno inoltre riportati alcuni esempi dei risultati sperimentali ottenuti.

#### *Condensazione in gas inerte (nanomateriali 0D)*

Un materiale inorganico o organico è vaporizzato in una camera sotto vuoto in cui è immes-

so periodicamente Ar o He. La sorgente del vapore può essere una navicella di evaporazione, un "target" per sputtering o per ablazione laser. Quando gli atomi evaporano, perdono rapidamente energia collidendo con il gas inerte. Il vapore si raffredda rapidamente e supersatura per formare nanoparticelle di dimensioni comprese fra 2 e 100 nm, che sono raccolte su un "dito freddo" raffreddato con N<sub>2</sub> liquido e successivamente raschiate, ancora in atmosfera inerte, per le lavorazioni successive.

Tale tecnologia consente anche la produzione di nanoparticelle di leghe metalliche o compositi metallo/ossido utilizzando sorgenti multiple.

Il problema principale della condensazione in gas inerte è l'agglomerazione delle nanoparticelle, che può essere controllata regolando i parametri di processo e utilizzando un opportuno substrato di deposizione.

#### *Espansione in gas inerte (nanomateriali 0D)*

Il materiale è vaporizzato e gli atomi prodotti sono trasportati da una corrente di elio ad alta pressione che poi si espande attraverso una strozzatura a velocità supersonica in una camera a bassa pressione. L'espansione adiabatica comporta un raffreddamento rapido, così gli atomi vaporizzati condensano formando cluster di pochi nanometri. La dimensione e la distribuzione dimensionale delle particelle sono controllate dalla velocità di vaporizzazione e dal flusso di gas inerte.

#### *Trattamento sono-chimico (nanomateriali 0D)*

Nel processo sono-chimico per nucleare una reazione chimica sono utilizzati gli ultrasuoni, in un campo di frequenza fra 15 kHz e 1 GHz. Un trasduttore magnetostriativo o piezoelettrico genera un'onda ultrasonica in un reattore pieno di liquido che ne consente la trasmissione. Le onde ultrasoniche non sono di dimensioni molecolari, perciò non vi è un accoppiamento diretto del campo acustico con le specie chimiche, ma le reazioni avvengono per cavitazione. La componente elastica delle onde è sufficientemente intensa da espellere il liquido e formare una minuscola cavità. La componente compressiva dell'onda comprime la cavità, ma prima che ciò accada, parte dei reagenti vaporizza al suo interno. La successiva onda elastica espande nuovamente la bolla, il cui volume oscilla alla frequenza dell'onda acustica. Quando la bolla raggiunge una dimensione critica, collassa. Il collassamento è un processo adiabatico, poiché la sua elevata velocità non lascia tempo per un flusso di calore, generando un piccolo "hot spot" localizzato. Le temperature che si raggiungono sono molto alte (fino a 5000 °C, come la superficie del Sole) come pure le pressioni (circa 2000 atm, come le profondità oceaniche), le quali attivano le reazioni di formazione delle nanoparticelle dentro lo "spot". Utilizzando precursori organo-metallici, ceramici e metallici, si possono ottenere nano-

particelle piccole fino a 2 nm. La tecnica sono-chimica può essere utilizzata per produrre elevati volumi di nanomateriali per applicazioni industriali.

#### *Deposizione sol-gel (nanomateriali 0D)*

Mediante tale processo è possibile ottenere particelle ultrafini, nanofilm e membrane nanoporose. Viene preparata, con appropriato solvente, una soluzione di uno o più precursori, in genere sali metallici o composti organo-metallici come gli ioni di alcossidi metallici. I precursori sono sottoposti a una reazione di polimerizzazione per formare una sospensione colloidale (sol) costituita da particelle discrete finemente disperse, che sono mantenute in sospensione aggiungendo un tensioattivo. Il sol può essere trattato per estrarre le particelle o essere colato o depositato mediante rotazione (spin coating) su un substrato. È quindi convertito in un gel mediante un trattamento chimico che produce un "superpolimero", cioè un'enorme molecola sotto forma di un reticolo tridimensionale. La successiva evaporazione del solvente consente di ottenere, in base alla specifica applicazione, un film denso o nanoporoso. La tecnologia sol-gel è utilizzata per la produzione di un'ampia varietà di materiali, incluse vernici, ceramiche, cosmetici, detergenti, materiali tubolari e rivestimenti.

#### *Autoassemblaggio molecolare (nanomateriali 0D/2D)*

Il metodo dell'autoassemblaggio molecolare consiste nell'auto-

organizzazione di molecole organiche e/o inorganiche. L'intero mondo naturale si basa su tale processo. L'esempio più evidente è la cristallizzazione: basta raffreddare una soluzione satura di zucchero o sale da cucina e le molecole si autoassemblano in un cristallo.

A livello di processo di laboratorio o industriale è necessario creare condizioni tali per cui gli atomi o le molecole si autoassemblino in strutture utilizzabili, guidati dalla minimizzazione della loro energia. Il grande vantaggio dell'autoassemblaggio risiede nel fatto che il sistema converge verso una specifica configurazione senza la necessità di un ulteriore controllo. Tipicamente, gli aggregati formati tendono ad essere legati con legami relativamente deboli con energie poco più grandi di  $kT$ /mole. Le molecole autoassemblate formano le micelle, cioè aggregati di molecole con una parte idrofila e una parte idrofoba. Tali aggregati si formano spontaneamente con una dimensione che dipende dalla concentrazione delle molecole anfifiliche in soluzione. Il centro delle micelle agisce come camera di reazione e determina le dimensioni delle nanoparticelle che si generano.

#### *Deposizione fisica da fase vapore (PVD) (nanomateriali 0D/2D)*

Uno strato sottile di materiale è depositato da fase vapore su un substrato da rivestire. Il deposito può essere costituito da nanoparticelle isolate, agglomerati di nanoparticelle o da un film continuo di spessore nanometrico. Il ma-

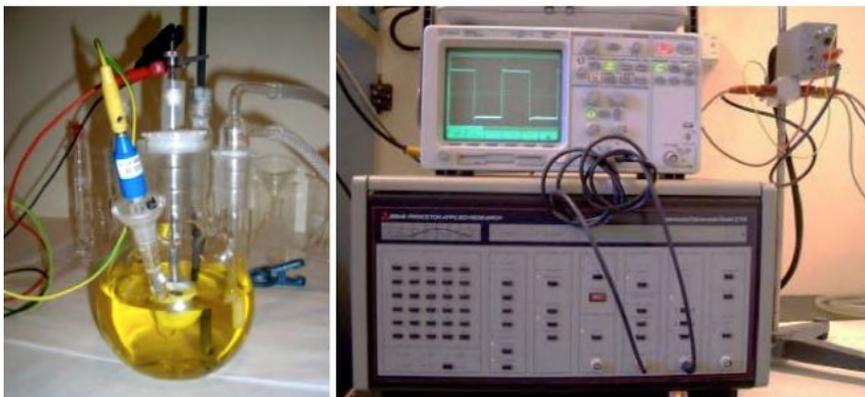
teriale da depositare è evaporato, in una camera sotto vuoto, per riscaldamento diretto o mediante un fascio elettronico per poi condensare sul substrato freddo.

La PVD può essere assistita da "ion plating", in cui il vapore è ionizzato e accelerato da un campo elettrico (la sorgente funziona da catodo e il substrato da anodo). Nella PVD assistita da "sputtering" un campo elettrico accelera degli ioni argon sul target, che emette quindi ioni del materiale da depositare verso il substrato dove vengono neutralizzati. Introducendo un gas reattivo si possono formare composti (ad es.:  $Ti+0.5N_2 \rightarrow TiN$ ).

Pressoché ogni metallo o composto che non decompone chimicamente può essere depositato per "sputtering", rendendo tale processo molto flessibile. I "target" possono essere cambiati durante il processo, consentendo la costruzione di multistrati nanostrutturati. È un processo utilizzabile su scala industriale per rivestimenti protettivi, antiusura e catalitici.

#### *Elettrodeposizione (ELD) (nanomateriali 1D/2D)*

È una tecnica semplice e poco costosa, normalmente utilizzata in ambito industriale per il rivestimento con un metallo di oggetti di forma anche complessa, per scopi protettivi, estetici e funzionali. Consente di depositare nanoparticelle o strati metallici (anche leghe) su un substrato conduttore. Il processo consiste nella riduzione potenziostatica o galvanostatica di ioni metallici presenti in soluzione acquosa sulla super-



**FIGURA 1** Strumentazione utilizzata per l'elettrodeposizione

ficie del substrato. In Figura 1 è mostrata una cella elettrochimica con la relativa strumentazione.

I parametri di processo, cioè la sovratensione applicata, la carica e la durata del processo, determinano la morfologia e la densità dei cluster metallici che costituiscono il deposito. Lo spessore dello strato dipende dalla densità di corrente e dal tempo di elettrolisi. Il deposito può essere anche staccato dal substrato, se quest'ultimo è in qualche modo solubilizzabile. Variando i parametri di elettrodeposizione e applicando la po-

larizzazione in maniera impulsiva è possibile controllare la morfologia del deposito: film compatto nanostrutturato, film nanoporoso, strutture colonnari, nanotubi, nanoparticelle separate fra loro.

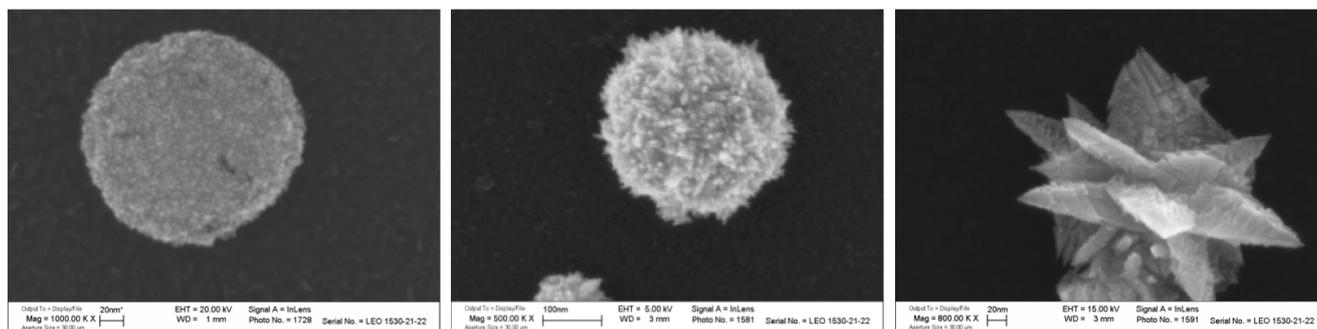
In Figura 2 sono mostrate, ad esempio, tre diverse morfologie di nanoparticelle di Pt elettrodepositate su un substrato di carbone vetrificato.

Il controllo della micro/nanostruttura è cruciale per adeguare il deposito alle specifiche applicazioni. La maggior parte dei depositi cresce in maniera colonnare. Per

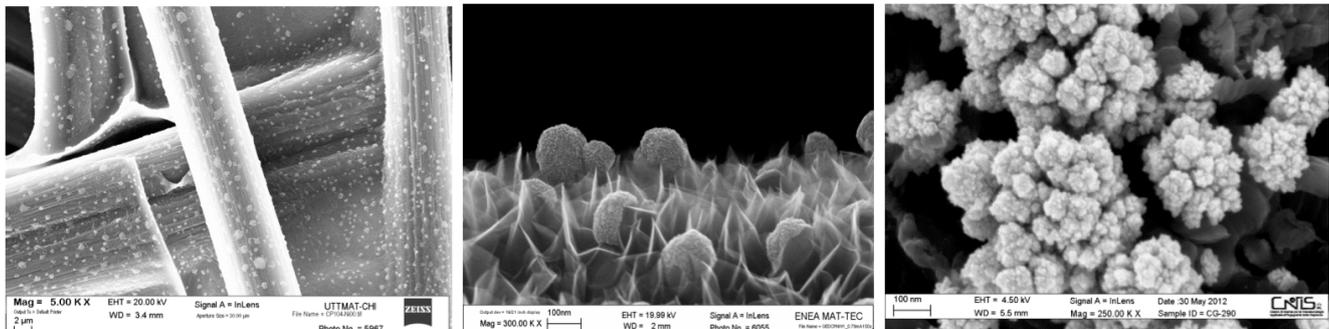
ottenere nanoparticelle è necessario bloccare la crescita dei cristalli quando sono ancora molto piccoli e nuclearne di nuovi. Un metodo è quello di utilizzare una polarizzazione impulsiva combinata con un'elevata densità di corrente. Tale polarizzazione può essere applicata con un controllo del potenziale o della corrente (per un processo industriale è preferibile quest'ultima).

Un'importante applicazione ai nanomateriali è la sintesi di nano-elettrocatalizzatori per celle a combustibile ad elettrolita polimerico. In particolare, l'ELD consente di ridurre notevolmente il carico di catalizzatore (Pt o catalizzatori bimetallici a base di Pt), passando da 0,3 a 0,01 mg cm<sup>-2</sup>, mantenendo però elevate prestazioni catalitiche e aumentando allo stesso tempo la stabilità nel tempo.

In Figura 3 sono riportati alcuni esempi di impiego dell'elettrodeposizione nell'ambito delle celle a combustibile ad elettrolita polimerico: nanoparticelle di Ni elettrodepositate su carta di grafite come catalizzatori per la sintesi di nanofibre



**FIGURA 2** Differenti morfologie di elettrodepositi di platino ottenuti variando i parametri di processo [2]



**FIGURA 3** Nanocompositi nichel/carta di grafite, platino/nanopareti di carbonio, platino-oro/nanofibre di carbonio

di carbonio [3], nanoparticelle di Pt elettrodepositate su nanopareti di carbonio come elettrocatalizzatori per l'ossidazione dell'idrogeno [4,5], nanoparticelle bimetalliche di Pt e Au elettrodepositate su nanofibre di carbonio come elettrocatalizzatori per l'ossidazione del metanolo [6,7].

#### Sintesi elettrochimica di nanotubi (nanomateriali 1D)

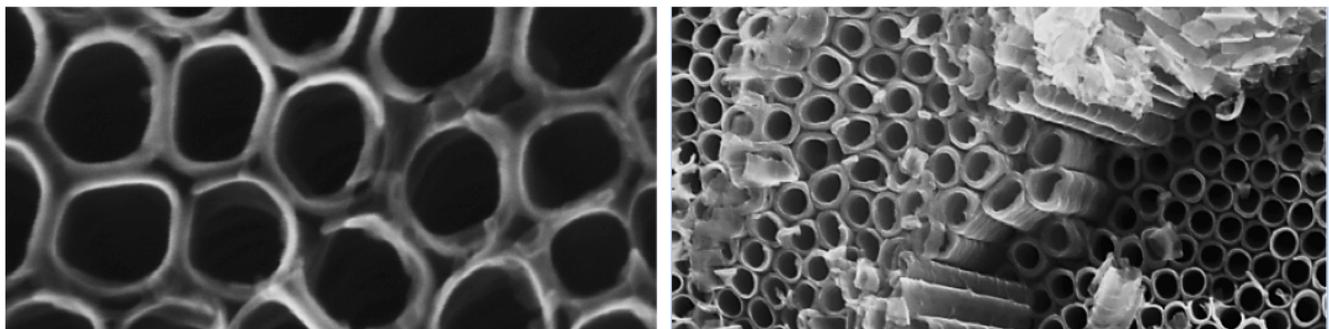
Si tratta di un processo di formazione di nanotubi mediante ossidazione elettrochimica di un metallo in un elettrolita contenente ioni fluoruro. La sintesi consiste in tre fasi: I) crescita anodica di un

ossido compatto sul metallo; II) formazione di un ossido poroso; III) dissoluzione chimica dell'ossido da parte degli ioni  $F^-$ , assistita dal campo elettrico, con formazione di nanotubi.

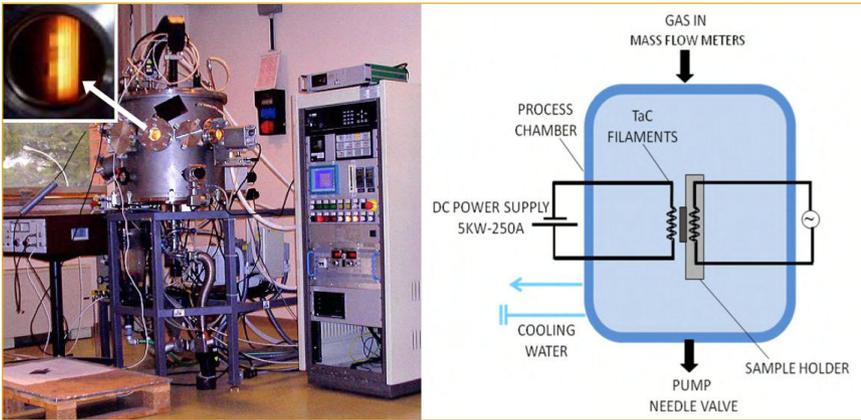
Un esempio interessante è quello della titania ( $TiO_2$ ), nel cui caso si ottiene un *semiconduttore di tipo n* con nanotubi che raggiungono lunghezze di decine di mm e diametro compreso fra 20 e 100 nm (Figura 4). I nanotubi di  $TiO_2$  trovano impiego in molteplici applicazioni: celle solari a sensibilizzante organico, celle a combustibile, sensori di gas, batterie, foto-abbattimento di inquinanti organici.

#### Deposizione chimica da fase vapore (CVD) (nanomateriali 0D, 1D, 2D, 3D)

Tale tecnica si basa sulla dissociazione, in genere catalitica, in fase gassosa delle molecole dei precursori e sulla deposizione degli atomi così ottenuti sulla superficie di un substrato. I catalizzatori nei processi CVD sono riscaldati a temperature comprese tra 500 e 1000 °C, e i precursori gassosi fluiscono nella camera di reazione, dove sia la pressione sia la composizione sono controllate e mantenute costanti. La composizione e la morfologia del catalizzatore e le interazioni



**FIGURA 4** Nanotubi di  $TiO_2$ , ottenuti mediante anodizzazione elettrochimica [8]



**FIGURA 5** Impianto HFCVD dell'ENEA e sua rappresentazione schematica [9]

substrato/catalizzatore sono, pertanto, parametri importanti da considerare nell'ottimizzazione del processo per una produzione di nanostrutture su larga scala e a costi accettabili.

La CVD presenta il vantaggio di essere un metodo continuo o semi-continuo, scalabile fino a livello industriale, che consente la produzione di grandi quantità di nanomateriali di elevata purezza, e permette la sintesi di nanostrutture anche su substrati "patternati".

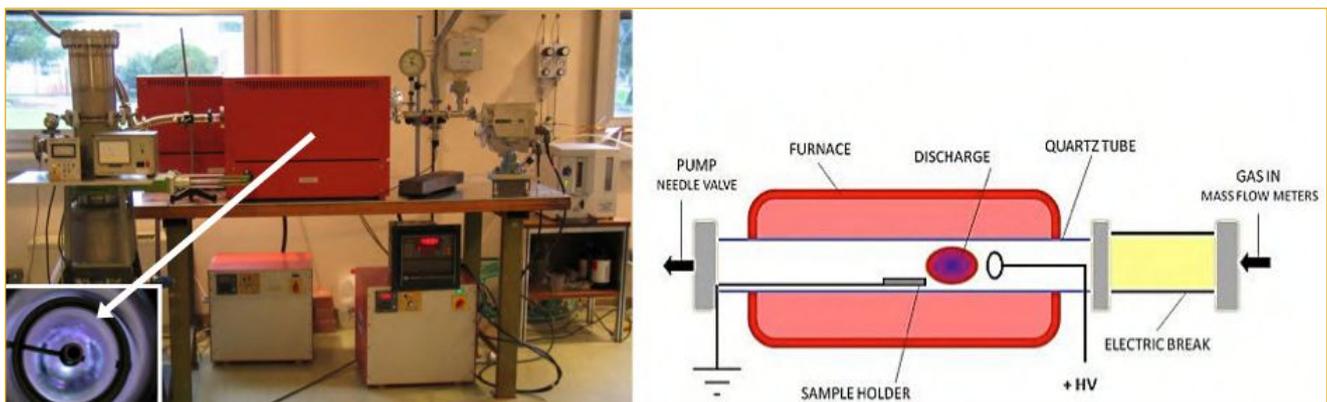
Tutte le tecniche CVD richiedono che la miscela dei gas precursori sia attivata con una sorgente di energia. Le principali tecniche di attivazione sono quella termica (TCVD, Thermal CVD), di cui la più utilizzata fa uso di filamenti caldi (HFCVD, Hot Filaments CVD), quella che utilizza plasmi (PECVD, Plasma Enhanced CVD), di cui la più comune fa uso di microonde (MWCVD, Micro Wave CVD), e quella attivata mediante reazioni di combustione. In una

variante della CVD convenzionale, si utilizzano dei precursori metallo-organici (MOCVD).

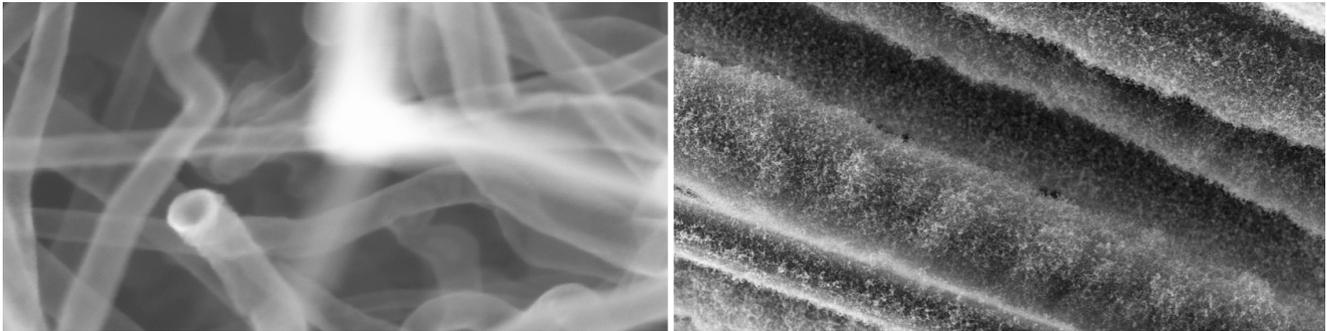
In Figura 5 è rappresentato l'impianto HFCVD presente nei laboratori UTMAT-SUP del centro di ricerca ENEA Casaccia con il relativo schema di processo.

Nell'HFCVD sono presenti dei filamenti, tenuti a massa ad un'estremità, ai cui capi è applicata una tensione per il loro riscaldamento. Il sistema prevede anche la possibilità di applicare una differenza di potenziale fra il substrato e i filamenti e fra i filamenti e una griglia appositamente montata allo scopo di incrementare il flusso di ioni sulla superficie del substrato. Gli elettroni emessi dai filamenti caldi sono così accelerati verso la griglia positiva ionizzando atomi e molecole e creando una regione di scarica. Tale scarica genera un plasma da cui una corrente di ioni positivi può essere estratta verso il substrato, che è così bombardato.

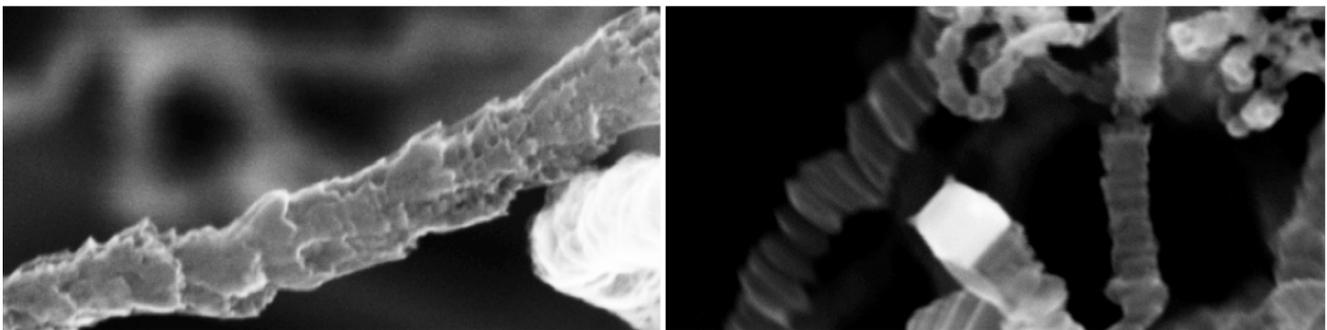
In Figura 6 è rappresentato l'impianto PECVD presente nei labo-



**FIGURA 6** Impianto PECVD dell'ENEA e sua rappresentazione schematica [10]



**FIGURA 7** Nanomateriali di carbonio 1D: nanotubi cresciuti su un substrato piano [11] e su un tessuto tridimensionale di fibre di carbonio [3]



**FIGURA 8** Nanomateriali di carbonio 1D: nanofibre di morfologia non tubolare (herringbone e platelet) [12]

ratori UTTMAT-SUP del centro di ricerca ENEA Casaccia con il relativo schema di processo.

Il sistema prevede, oltre all'attivazione termica dei precursori gassosi, anche la possibilità di attivare le molecole attraverso un plasma generato mediante applicazione di una differenza di potenziale tra due elettrodi. Tale plasma promuove la dissociazione dei gas e la relativa formazione di radicali e specie attive che poi reagiscono dando origine ai nanomateriali sintetizzati. Il principale vantaggio nell'utilizzo di un sistema assistito da plasma risiede nella riduzione dell'ener-

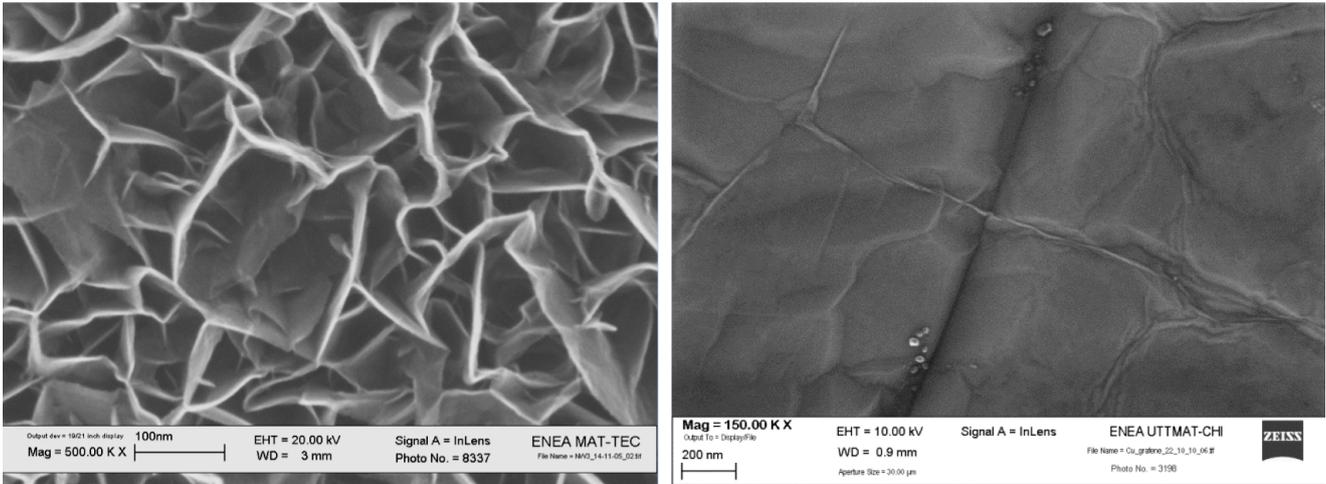
gia di attivazione necessaria per la sintesi delle nanostrutture, e di conseguenza nella possibilità di condurre i processi di crescita a temperature inferiori rispetto al CVD termico.

Tra i nanomateriali prodotti mediante deposizione chimica da fase vapore rivestono notevole interesse le nanostrutture di carbonio di tutte le dimensionalità (nanotubi, nanofibre, grafene, nanopareti, nanodiamante ecc.). Nelle Figure 7, 8, 9 e 10 sono mostrati nanomateriali di carbonio monodimensionali, bidimensionali e tridimensionali prodotti mediante CVD attivato da filamenti caldi o assistito da plasma.

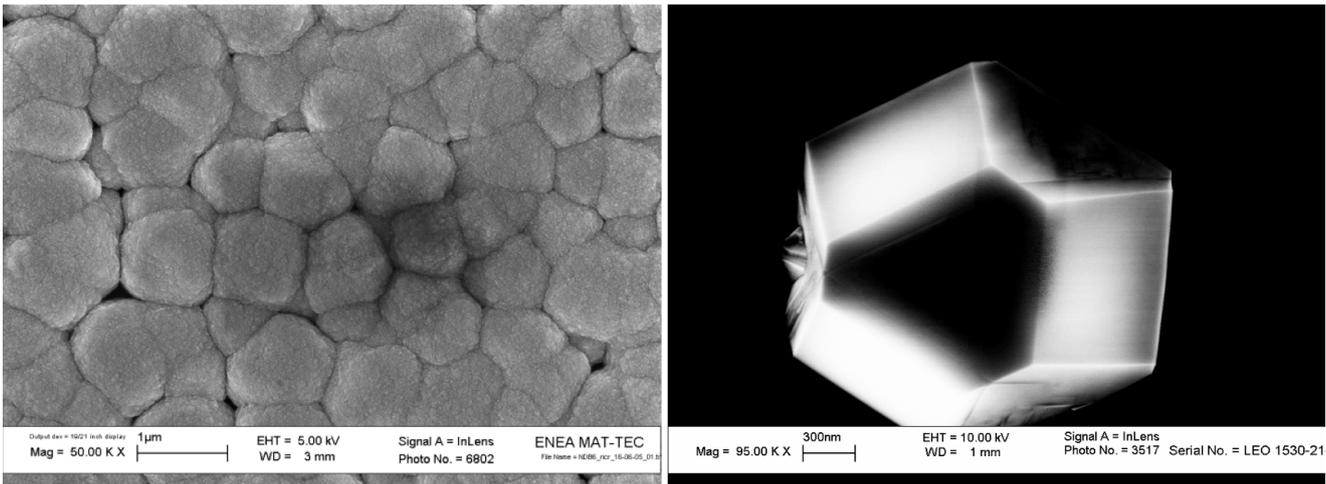
*Macinazione e alligazione meccanica ad alta energia (nanomateriali 3D)*

La macinazione meccanica è una tecnica che combina una deformazione estrema con una alligazione violenta di due materiali. Le particelle dei materiali sono immerse in un mulino a sfere (in genere di acciaio o carburo) ad alta energia di macinazione. I materiali sono intrappolati, schiacciati, appiattiti, fusi e spezzati. Il processo crea particelle meccanicamente alligate altamente deformate, fino alla nanoscala.

Si può utilizzare un gas inerte per evitare l'ossidazione e promuove-



**FIGURA 9** Nanomateriali di carbonio 2D: nanopreti e grafene [9,13]



**FIGURA 10** Nanomateriali di carbonio 3D: film e singolo cristallo di nanodiamante [14,15]

re l'unione delle particelle. Per prevenirne l'ingrossamento si utilizza il "criomilling", cioè un raffreddamento intenso. Il processo consente la produzione di leghe metalliche e composti per varie applicazioni (catalizzatori, materiali per accumulo di idrogeno, pigmenti ecc.).

### Prospettive di applicazione dei nanomateriali

L'ampia gamma di tecnologie di produzione disponibile e di nanomateriali che è possibile sintetizzare, ne consentono l'applicazione in numerosi settori, come quelli riportati di seguito:

- Energetico/Chimico
  - Produzione (nanocatalizzatori, nanoelettrocatalizzatori, purificazione di acqua e aria)
  - Immagazzinamento energia (batterie, supercondensatori, accumulo idrogeno)
  - Risparmio energia (cavi elettrici, isolamento)



- Applicazione energia (celle a combustibile, batterie, celle solari inorganiche e organiche)
- Cosmetici
- Bio-medicale
  - Nanocompositi per rilascio controllato di farmaci (drug delivery)
  - Bio-imaging (visualizzazione cellule, tessuti, organi)
- Ingegneria dei tessuti (impiantologia attiva e passiva)
- Nanocompositi per odontoiatria
- Nanosensori
- Farmaci
- Trasporto e spazio
  - Nanocompositi leggeri e resistenti
  - Nanocompositi polimerici
  - Rivestimenti
- Tecnologia elettronica/ottica
  - Nanomateriali per fotonica ed elettronica
  - Elettronica molecolare ibrida
  - Strutture monodimensionali come nanofili e nanotubi
  - Display.

**Leonardo Giorgi**

Scienza dei Materiali & Elettrochimica – Anzio (Roma)

**Elena Salernitano**

ENEA, Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali, Laboratori di Faenza

bibliografia

- [1] M.F. Ashby, P.J. Ferreira, D.L. Schodek (2009), "Nanomaterials, nanotechnologies and Design-An Introduction for Engineers and Architects", Butterworth-Heinemann, Burlington (USA)
- [2] C. Paoletti, A. Cemmi, L. Giorgi, R. Giorgi, L. Pilloni, E. Serra, M. Pasquali (2009), "Electro-deposition on carbon black and carbon nanotubes of Pt nanostructured catalysts for methanol oxidation", Journal of Power Sources, 183, 84-91
- [3] M.F. De Riccardis, D. Carbone, Th. Dikonimos Makris, R. Giorgi, N. Lisi, E. Salernitano (2006), "Anchorage of carbon nanotubes grown on carbon fibres", Carbon, 44, 671-674
- [4] L. Giorgi, Th. Dikonimos Makris, R. Giorgi, N. Lisi, E. Salernitano (2007), "Electrochemical properties of carbon nanowalls synthesized by HF-CVD", Sensors and Actuators, B Chemical, 126, 144-152
- [5] R. Giorgi, L. Giorgi, S. Gagliardi, E. Salernitano, M. Alvisi, Th. Dikonimos, N. Lisi, D. Valerini, M.F. De Riccardis, E. Serra (2011), "Nanomaterials-based PEM electrodes by combining chemical and physical depositions", Journal of Fuel Cell Science and Technology, 8, 0410041-0410046
- [6] L. Giorgi, E. Salernitano, Th. Dikonimos Makris, S. Gagliardi, V. Contini, M. De Francesco (2014), "Innovative electrodes for direct methanol fuel cells based on carbon nanofibers and bimetallic PtAu nanocatalysts", International Journal of Hydrogen Energy, International Journal of Hydrogen Energy, 39, 21601-21612
- [7] L. Giorgi, R. Giorgi, S. Gagliardi, E. Serra, M. Alvisi, M. A. Signore, E. Piscopiello (2011), "Platinum-Gold Nanoclusters as Catalyst for Direct Methanol Fuel Cells", Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 11, 8804-8811
- [8] L. Giorgi, E. Salernitano, Th. Dikonimos Makri, S. Gagliardi, R. Giorgi, N. Lisi, M. Falconieri, E. Leoni, M.L. Grilli (2014), "Semiconducting properties of titania nanotubes films grown by electrochemical anodization", 11th Symposium of European Vacuum Coaters, Sept.29th Oct.1st, Anzio ( Roma)
- [9] N. Lisi, R. Giorgi, M. Re, T. Dikonimos, L. Giorgi, E. Salernitano, S. Gagliardi, F. Tatti (2011), Carbon nanowalls growth on carbon paper by hot filament chemical vapour deposition and its microstructure, Carbon, 49, 2134-2140
- [10] T. Dikonimos, R. Giorgi, N. Lisi, E. Salernitano (2007), Reattore Termico con Plasma a Corrente Continua per la Deposizione, da Fase Vapore, di Nanotubi, Nanofibre e Nanopareti di Carbonio, e Relativo Procedimento, Brevetto RM2007A000614
- [11] E. Salernitano, L. Giorgi, Th. Dikonimos Makris, R. Giorgi, N. Lisi, V. Contini, M. Falconieri (2007), "Purification of MWCNTs grown on a nanosized unsupported Fe-based powder catalyst", Diamond and related materials, 16 (8), 1565-1570
- [12] L. Giorgi, E. Salernitano, S. Gagliardi, Th. Dikonimos, R. Giorgi, N. Lisi, M.F. De Riccardis, V. Martina (2011), "Electrocatalysts for methanol oxidation based on Platinum/Carbon Nanofibers Nanocomposite", Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 11, 8812-8817
- [13] R. Giorgi, N. Lisi, Th. Dikonimos, M. Falconieri, S. Gagliardi, E. Salernitano, P. Morales, L. Pilloni (2011), "Graphene: large area synthesis by Chemical Vapor Deposition", rivista bimestrale dell'ENEA "Energia, Ambiente e Innovazione" (EA), 3, 68-74
- [14] N. Lisi, R. Giorgi, Th. Dikonimos, E. Salernitano, S. Gagliardi, L. Giorgi, V. Contini, P. Morales (2010), "Graphitized filament plasma enhanced CVD deposition of nanocrystalline diamond", Diamond & Related Materials 19, 1382-1386
- [15] Th. Dikonimos Makris, M. Falconieri, S. Gianoglio, L. Giorgi, R. Giorgi, N. Lisi, E. Salernitano (2006), "Nanocrystalline diamond films by bias enhanced nucleation and argon assisted growth in a HFCVD system", Advances in Science and Technology, 48, 44-49

# Caratterizzazione dei nanomateriali

Il presente lavoro riporta una panoramica delle principali tecniche adottate per la caratterizzazione dei nanomateriali. La conoscenza di alcune caratteristiche basilari, inerenti la morfologia, la microstruttura, la distribuzione di fase e la composizione chimica, è essenziale per valutare le proprietà funzionali dei nanomateriali e fare delle previsioni riguardo al loro comportamento in esercizio. Per la caratterizzazione dei nanomateriali possono essere impiegate sia tecniche di imaging sia tecniche analitiche. Fra le prime trovano larga applicazione la microscopia ottica, la microscopia elettronica a scansione (SEM) e la microscopia elettronica in trasmissione (TEM). Fra le seconde alcuni tipi di spettroscopia e la Diffrazione a raggi X (XRD). Per ogni tipologia di materiale da caratterizzare la scelta della tecnica più appropriata è basata sulla tipologia dei dettagli che si vogliono ricavare e sulla loro scala. Nel presente lavoro sono discussi in dettaglio alcuni esempi e i principali metodi utilizzati per la caratterizzazione dei nanomateriali

DOI 10.12910/EAI2015-030

■ A. Montone, A. Aurora, G. Di Girolamo

## Introduzione

Con il termine nanomateriali si intendono quei materiali che possiedono una o più dimensioni inferiori ai 100 nm, siano essi nanoparticelle, *nanotubi*, *nanocoatings*, *nanofilms* o materiali bulk nanostrutturati. Questi ultimi, sebbene le loro dimensioni non siano nanometriche, possiedono una struttura nanocristallina o sono costituiti, ad esempio, da dispersioni di nanoparticelle, *nanowires* o da multistrati di spessore nanometrico.

Una caratterizzazione esaustiva delle proprietà di un nanomateriale richiede la determinazione di una serie di parametri che variano a seconda dell'applicazione dello stesso e tra i quali vi sono: la forma, la distribuzione dimensionale, lo stato di aggregazione o di agglomerazione, la composizione chimi-

ca, la cristallinità, la solubilità, la presenza di eventuali impurezze, l'area superficiale, la morfologia, la porosità, la composizione superficiale, la carica superficiale, la reattività. Infatti, tali caratteristiche hanno un'influenza significativa sul comportamento macroscopico dello stesso.

Pertanto, il ruolo della caratterizzazione è, principalmente, quello di definire una correlazione tra struttura, forma e composizione chimica dei nanomateriali, e le loro proprietà funzionali. Gli aspetti importanti da tener presenti nella scelta dei metodi di caratterizzazione sono il tipo di informazione che la tecnica può fornire e la risoluzione che essa è in grado di raggiungere<sup>1,2</sup>. Proprio per l'importanza che caratteristiche come la forma, la distribuzione dimensionale e lo stato di aggregazione

hanno sul comportamento macroscopico dei nanomateriali, le tecniche di *imaging* assumono un ruolo pari a quello delle tecniche di caratterizzazione analitica.

Le prime includono le microscopie ottica ed elettronica, mentre con le seconde ci si riferisce principalmente a tecniche spettroscopiche come, ad esempio, la spettrometria a dispersione di energia o le spettroscopie vibrazionali<sup>3,4</sup>.

Questo articolo presenta una panoramica sulle più comuni tecniche di caratterizzazione dei nanomateriali e sul tipo di dettagli ed informazioni che esse consentono di individuare ed analizzare.

Contact person: Annalisa Aurora  
annalisa.aurora@enea.it



## Tecniche di imaging

Le tecniche di *imaging* forniscono informazioni sulla morfologia e sulla micro o nanostruttura dei nanomateriali<sup>5</sup>. Tali tecniche richiedono l'utilizzo di un microscopio, che può essere: *ottico*, e quindi basato sull'osservazione nell'ambito dello spettro elettromagnetico della luce in senso lato; *elettronico*, basato sull'utilizzo di una sorgente di elettroni; a *scansione di sonda*, basato sull'esplorazione della superficie del campione con una sonda, o di altro tipo.

I microscopi ottici hanno una risoluzione molto inferiore rispetto alle altre due classi di microscopi menzionati, tuttavia i microscopi ottici confocale e a scansione in campo vicino (spesso indicato con le sigle NSOM *Near-field scanning optical microscope* o SNOM *Scanning near-field optical microscope*) hanno una risoluzione che li rende interessanti nell'ambito specifico dei nanomateriali, perché consentono in maniera semplice e veloce di ottenere informazioni riguardo la forma, le dimensioni e la topografia superficiale degli stessi nanomateriali<sup>6</sup>. In campo biologico, per esempio, il microscopio ottico confocale consente di costruire un'immagine tridimensionale del campione analizzato senza dover effettuare il sezionamento dello stesso<sup>7</sup>. Infatti, spostando il campione lungo l'asse verticale dopo ogni scansione, è possibile ottenere una serie di immagini successive corrispondenti a piani focali via via più profondi all'interno del medesimo campione. La sovrapposizione ordinata di queste sezioni ottiche, eseguita via

software, consente di ricostruire un'immagine complessiva dell'intero volume scansionato, in cui tutti i piani sono contemporaneamente a fuoco. La possibilità, quindi, di ricostruire un volume in maniera non distruttiva, rende il microscopio ottico confocale uno strumento molto interessante per l'analisi di materiali *bulk* e di *coatings con strutture caratteristiche a livello nanometrico*. Il funzionamento dello SNOM si basa, invece, sullo sfruttamento delle onde evanescenti che permettono di aggirare i limiti di risoluzione imposti dalla diffrazione, ottenendo immagini con una risoluzione molto maggiore di tutti gli altri microscopi ottici. In particolare, è stata dimostrata una risoluzione laterale di 20 nm e verticale di 5 nm.

Il potere di risoluzione del microscopio ottico *tradizionale* è di 0,2 micron perché la luce visibile ha lunghezze d'onda dell'ordine della frazione dei nm, mentre le distanze interatomiche sono più piccole di almeno tre ordini di grandezza. Per la caratterizzazione dei materiali a livello nanometrico è necessario, quindi, l'utilizzo del microscopio elettronico. Gli elettroni, infatti, consentono di generare immagini con una risoluzione superiore a quella ottenuta con i fotoni perché possono arrivare a lunghezze d'onda inferiori, come si deduce dall'equazione di De Broglie:

$$\lambda = 1.22 E^{1/2} \quad [1]$$

Inoltre, gli elettroni interagiscono con la materia in maniera più efficace, consentendo di generare altri tipi di segnali che forniscono informazioni anche diverse da

quelle semplicemente morfologiche, come ad esempio quelle di tipo compositivo. Diversamente dal microscopio ottico, la forte interazione con la materia richiede, naturalmente, che il microscopio elettronico lavori in condizioni di alto vuoto per ridurre l'effetto di *scattering* delle molecole dell'aria sugli elettroni.

Il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM) e il Microscopio Elettronico a Trasmissione (TEM) sono i principali strumenti utilizzati per la caratterizzazione dei materiali nanostrutturati.

### *Microscopio Elettronico a Scansione*

Il Microscopio Elettronico a Scansione (SEM) è spesso impiegato per studiare la morfologia e la microstruttura di nanoparticelle, nanocompositi, film sottili, *coatings* e materiali *bulk*<sup>8</sup>. Tale microscopio, infatti, è ottimale per analizzare dettagli di dimensioni variabili da pochi nanometri fino a 1 mm, fornendo informazioni riguardo la forma, la dimensione, la topografia, la disposizione e l'orientamento dei grani e la loro composizione. L'assenza d'aria, insieme al fatto che gli elettroni sono particelle cariche, comporta che i campioni analizzati subiscano dei forti effetti di caricamento che talora possono alterare il risultato dell'immagine. Per questa ragione i campioni non conduttori vengono generalmente fissati su un supporto metallico e metallizzati, cioè ricoperti con un sottile strato di materiale conduttivo, generalmente di oro o di carbone, a meno che non si utilizzi microscopia a bassa tensione o a basso vuoto.

Gli elettroni sono accelerati appli-

cando un voltaggio generalmente da 1 a 30 kV e focalizzati, attraverso una serie di lenti magnetiche, sul campione. Il fascio di elettroni, detto primario, viene fatto muovere in modo da effettuare una scansione della superficie punto per punto, prendendo in considerazione una zona rettangolare della stessa. Dall'interazione del fascio di elettroni con gli atomi che costituiscono il campione, vengono emessi fotoni ma soprattutto elettroni che possiedono diverse caratteristiche di direzionalità ed energia, a seconda del tipo di interazione che hanno avuto con la materia (Figura 1).

Gli elettroni sono poi catturati da rivelatori speciali e convertiti in impulsi elettrici che sono inviati in tempo reale ad uno schermo (un monitor), dove viene eseguita simultaneamente una scansione analogica. Il risultato è un'immagine in bianco e nero ad elevata risoluzione e grande profondità di campo, che ha caratteristiche simili a quelle di una immagine fotografica.

Ciascun segnale fornisce una serie di informazioni di tipo morfologico

e microstrutturale o composizionale. Per le immagini dei campioni, il SEM utilizza gli elettroni secondari e gli elettroni retrodiffusi. I primi sono elettroni a bassa energia (circa 50 eV) che si generano quando un elettrone del fascio primario scalza un elettrone da un atomo della superficie o sub-superficie del campione. Essi sono utilizzati per ottenere informazioni topografiche ad elevata risoluzione. L'interpretazione delle immagini è resa semplice dal fatto che il contrasto tra luci ed ombre, che si vede nell'immagine SEM – fatto salvo effetti di caricamento e contributi vari che possono alterare il contrasto –, è molto simile a quello che si otterrebbe se il campione fosse illuminato con la luce.

Gli elettroni retrodiffusi, invece, sono elettroni ad alta energia, prossima a quella del fascio primario. Sono generati dallo scattering elastico degli elettroni che rimbalzano indietro dal campione senza attraversarlo e vengono utilizzati quando si vogliono ricavare informazioni sulla densità atomica. La loro resa di emissione, infatti, è sensibile al numero atomi-

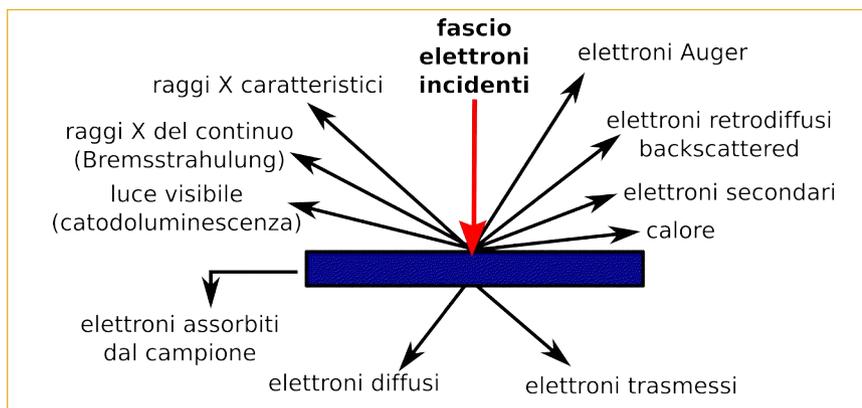
co medio dell'area che attraversano: più è alto il numero atomico medio, più intenso è il segnale.

Nell'immagine al microscopio elettronico, l'alta intensità del segnale si traduce in un'area di gradazione più chiara.

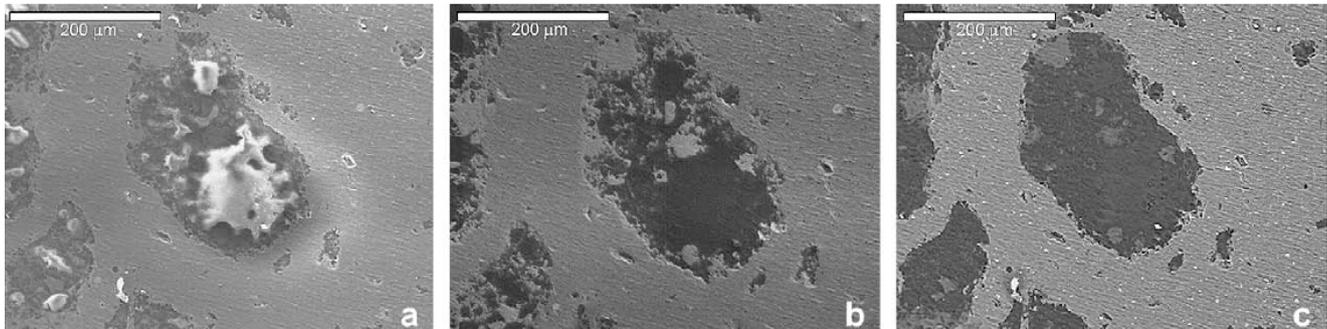
La Figura 2 mostra una serie di immagini raccolte su una stessa superficie, in condizioni di lavoro diverse. La Figura 2(a) è ottenuta con elettroni secondari con accelerazione del fascio primario di 20 kV, in cui si notano molto chiaramente gli effetti del caricamento (la nuvola bianca) prodotti dall'utilizzo di elettroni primari ad alta energia. La Figura 2(b) è stata registrata utilizzando un voltaggio più basso per minimizzare tali effetti, mentre l'immagine generata dagli elettroni retrodiffusi è riportata nella Figura 2(c), in cui le diverse gradazioni di grigio corrispondono ad aree di diversa composizione chimica. È possibile, infatti, distinguere la matrice di Al, mentre all'interno dell'agglomerato sono evidenti la fase Mg (più chiara) e quella  $MgH_2$  (più scura)<sup>9</sup>. La risoluzione di quest'ultima è molto inferiore rispetto alle due precedenti. Nelle prime due immagini il contrasto di colore è dovuto al contributo degli elettroni retrodiffusi che inevitabilmente urtano il rivelatore degli elettroni secondari.

Le immagini ottenute con gli elettroni secondari sono molto utili per la definizione della morfologia dei campioni.

A titolo di esempio, in Figura 3 è riportata l'immagine di elettroni secondari di un particolare superficiale di un campione di  $MgH_2$  che è stato macinato per *ball milling*



**FIGURA 1** Principali segnali ottenuti dall'interazione dell'elettrone primario con la materia



**FIGURA 2** Immagini SEM di un agglomerato costituito da Mg e  $MgH_2$  inglobato in una matrice di Al

con il 10wt.% $Nb_2O_5$  e il 5wt.%ENG (Expanded Natural Graphite) e poi sottoposto a diversi cicli di desorbimento e assorbimento di  $H_2$ . Osservando la figura, si nota come le particelle di  $Nb_2O_5$  siano facilmente identificabili con gli spot bianchi che si trovano sulla superficie delle nanoparticelle di Mg. L'osservazione al SEM consente, inoltre, di evidenziare gli effetti del trattamento di assorbimento e desorbimento di  $H_2$ . La particella indicata con la freccia bianca è "piena", mentre quella identificata con la freccia nera si mostra "svuotata" e costituita da una gabbia di ossido di Mg.

Tra i microscopi a scansione una particolare attenzione merita il microscopio elettronico a emissione di campo, in cui la definizione raggiunta è al livello subnanometrico (*Field Emission Gun SEM-FEG*). Per le sue caratteristiche, questo tipo di microscopio è particolarmente indicato nello studio di materiali per cui sono richiesti alta definizione ed elevati ingrandimenti.

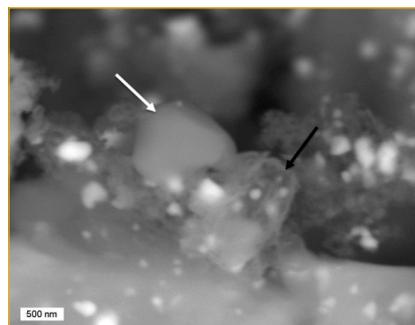
Un'applicazione molto interessante è, per esempio, lo studio della microstruttura di nanocoatings e nanofilms sintetizzati con varie tecniche di deposizione. In Figura 4 è riportata la

morfologia di un film di nanotubi di carbonio depositati mediante elettrodeposizione. Dalla micrografia si può notare che il deposito di Pt è costituito da particelle di dimensioni variabili fra 50 e 150 nm. Superfici di questo tipo sono utilizzate per l'ossidazione catalitica del metanolo. L'analisi al SEM-FEG di questi depositi ha consentito di determinare la forma, la dimensione e la distribuzione dei cluster di Platino sulla superficie del film di nanotubi di carbonio<sup>10</sup>.

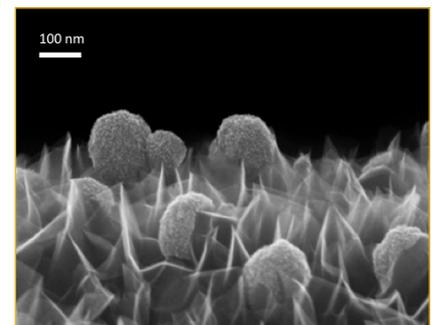
*Microscopio elettronico a trasmissione*  
Nel microscopio elettronico a trasmissione (TEM) gli elettroni sono

accelerati applicando un voltaggio molto alto, che va dai 100 kV ai 3 MV. Questo perché l'immagine si forma raccogliendo gli elettroni trasmessi dal campione e, quindi, gli elettroni devono avere energia a sufficienza per poterlo attraversare. Il campione deve avere spessori inferiori ad 0,1 mm, proprio per consentire la "trasparenza elettronica"<sup>11</sup>.

Il fascio di elettroni è generato da una sorgente che si trova alla testa di una colonna. Una serie di lenti magnetiche consente di ridurre la sezione del fascio di elettroni, di focalizzarlo sul campione e poi, una volta attraversato il campione, di indiriz-



**FIGURA 3** Particelle di  $MgH_2$  di un campione di polvere sottoposto a cicli di assorbimento e desorbimento di idrogeno



**FIGURA 4** Micrografia SEM di un film di platino depositato mediante elettrodeposizione su nanotubi di carbonio

zare gli elettroni su uno schermo fluorescente proiettando su di esso un'immagine reale e fortemente ingrandita della porzione di campione in precedenza attraversata.

Per capire come si forma l'immagine al TEM è necessario richiamare qualche concetto di diffrazione. È noto che in un reticolo cristallino i fasci di elettroni vengono riflessi da ogni piano atomico. Questi fasci interferiscono costruttivamente soltanto se è verificata la legge di Bragg:

$$n\lambda = 2d\sin\vartheta \quad [2]$$

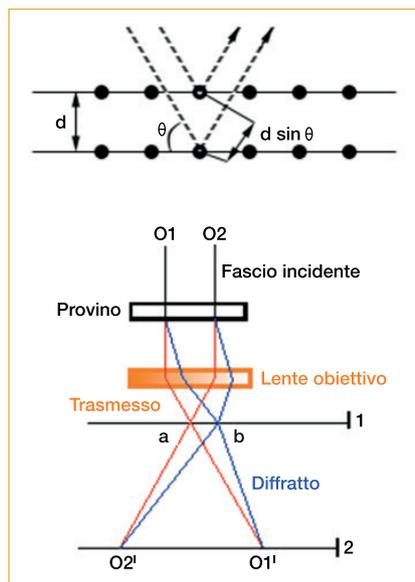
in cui la distanza tra i piani atomici è  $d$ , l'angolo di incidenza e di riflessione è  $\vartheta$  e  $\lambda$  è la lunghezza d'onda associata all'energia dell'elettrone incidente. L'angolo tra il raggio incidente e quello diffratto si chiama angolo di diffrazione e vale  $2\vartheta$ .

Per ritornare al microscopio elettronico, quando il fascio di elettroni incide sul campione, una parte degli elettroni procede senza subire diffrazione e una parte viene invece diffratta (Figura 5). Il raggio trasmesso viene focalizzato dalle lenti obiettivo nel punto  $a$  e prosegue formando l'immagine sul piano  $I2$ . Il raggio diffratto è focalizzato dalle lenti obiettivo e forma uno spot di diffrazione  $b$  sul piano  $I1$ . Proseguendo, questo fascio forma un'immagine sul piano  $I2$  che si sovrappone a quella generata dal fascio diretto. Poiché in un cristallo i piani hanno diverse orientazioni, ogni piano causerà la diffrazione del raggio di elettroni e darà luogo ad uno spot di diffrazione. L'insieme degli spot di diffrazione forma un pattern di diffrazione. Il pattern di diffrazione possiede le stesse simmetrie del

reticolo cristallino e attraverso di esso è possibile risalire alla struttura cristallina del campione e calcolare le distanze interplanari.

Il sistema di lenti permette di visualizzare sullo schermo dello strumento sia il pattern di diffrazione che l'immagine del campione. Per formare l'immagine del campione si può scegliere di utilizzare il fascio trasmesso oppure il fascio diffratto da una famiglia di piani. L'immagine formata dal fascio trasmesso è detta in campo chiaro, mentre quella formata da un fascio diffratto è detta in campo scuro. Il diaframma sul piano  $I1$  ha la funzione di selezionare il fascio utilizzato per formare l'immagine.

La diffrazione di Bragg in sé non produce un'immagine, ma gioca un ruolo fondamentale nel contrasto dell'immagine stessa, cioè nel determinare l'intensità locale, perché



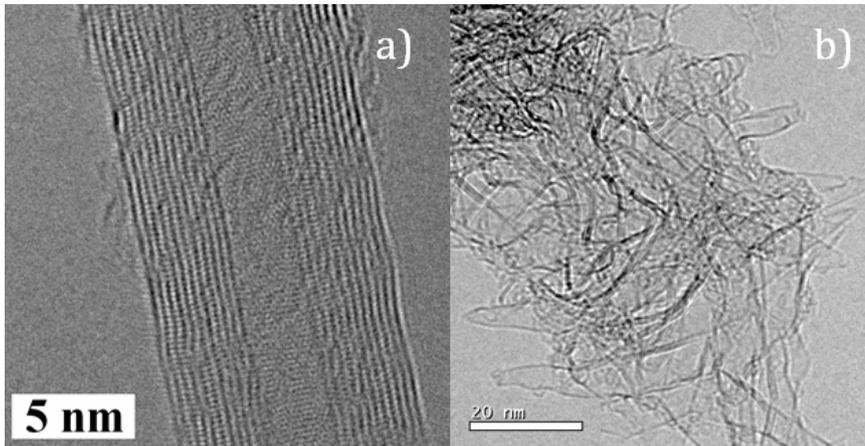
**FIGURA 5** (in alto) Rappresentazione della legge di Bragg; (in basso) Schema di funzionamento del TEM

riduce l'intensità del fascio primario nelle zone che sono orientate in modo corretto per avere diffrazione. Questo tipo di contrasto è chiamato "contrasto di diffrazione". Poiché il contrasto dipende dall'angolo con cui il fascio incide sul campione, il porta-campioni del TEM permette di ruotare il campione per selezionare le diffrazioni e, quindi, evidenziare i particolari che interessano.

L'analisi di un materiale al TEM consente, quindi, di verificare se un campione è a cristallo singolo, policristallino o amorfo. L'altissima risoluzione e capacità di ingrandimento che è possibile raggiungere consentono, inoltre, di visualizzare i dettagli del reticolo e di studiarne le caratteristiche, quali la presenza di dislocazioni, precipitati, bordi grano, così come di distinguere diverse fasi.

In Figura 6 sono riportate le immagini TEM di nanostrutture di carbonio ottenute per scarica ad arco partendo da grafite, usando corrente continua (Figura 6a) o corrente alternata (b). Il TEM ha consentito di osservare che, utilizzando la corrente continua, si producono nanotubi a parete multipla mentre la corrente alternata consente di produrre nanostrutture a parete singola di forma più irregolare (Figura 6b)<sup>12,13</sup>.

Con il TEM, per esempio, è stata studiata nel dettaglio la morfologia e l'aggregazione di nanoparticelle metalliche, come nel caso in Figura 7, in cui delle nanoparticelle di Cu sono precipitate in una matrice di policarbonato per effetto dell'impiantazione di ioni  $\text{Cu}^+$  a bassa energia<sup>14</sup>. Le nanosfere si sono collocate a circa 50 nm al di sotto della superficie del



**FIGURA 6** Immagini TEM di strutture di carbonio ottenute per scarica ad arco da grafite, utilizzando corrente continua (a) e corrente alternata (b)

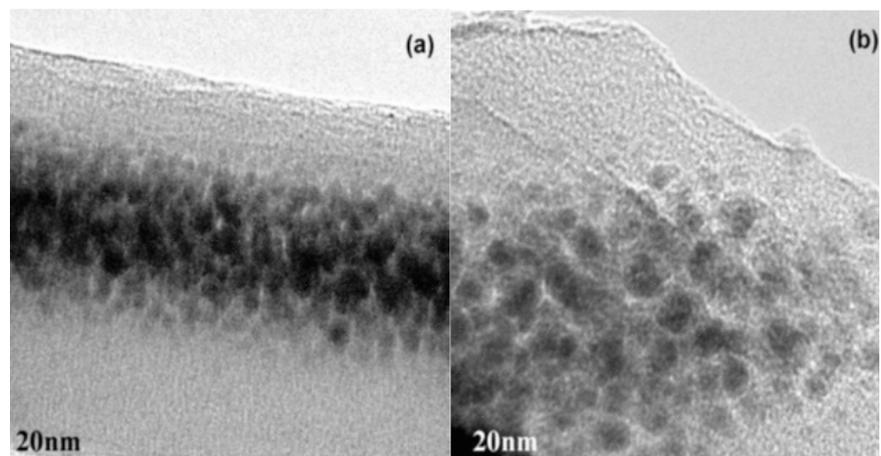
polimero. L'aggregazione e la coalescenza di tali nanoparticelle determinano la crescita di un film sottile con proprietà ottiche ed elettriche specifiche.

*Microscopia a Scansione di Sonda*  
La microscopia a scansione di sonda (SPM, Scanning Probe Microscopy) è un ramo della microscopia che consente di generare le immagini di superfici usando una sonda fisica che esegue la scansione del campione<sup>15</sup>. L'immagine della superficie è ottenuta meccanicamente spostando la sonda in un raster di scansione del campione, riga per riga, e registrando l'interazione sonda-superficie in funzione della posizione. I principali tipi di microscopia a sonda sono la microscopia a scansione ad effetto tunnel (STM) e la microscopia a forza atomica (AFM).

La microscopia a scansione ad effetto tunnel (STM) consente di ottenere immagini di superfici di

materiali conduttori in scala atomica. Il principio fisico con cui si ottengono le immagini è l'effetto tunnel secondo cui, quando una punta conduttrice è posta molto vicino ad una superficie, una differenza di tensione applicata tra la punta e la medesima superficie permette agli elettroni di realizzare un "tunnel" attraverso il

vuoto tra le due parti interessate e creare una "corrente di tunneling". Questa corrente è funzione della distanza della punta dalla superficie, della tensione applicata e della densità locale degli stati degli atomi che costituiscono la superficie che si sta scansando. Le informazioni sono acquisite monitorando la corrente di tunneling durante la scansione sulla superficie del campione. Si può lavorare sia mantenendo costante la distanza tra la punta e la superficie sia mantenendo fissa la corrente di tunneling. Nel primo caso, il sistema muove la punta in modo tale che la distanza tra la punta e la superficie rimanga costante. La variazione di corrente necessaria per mantenere fisso tale parametro viene "tradotta" in dati riguardanti la struttura superficiale del campione. Questa modalità è molto sensibile alla modulazione in scala atomica della superficie, ma risulta utile solo per superfici estremamente piatte e regolari.



**FIGURA 7** Nanoparticelle di Cu in una matrice di policarbonato

Nel secondo caso, la corrente di tunneling viene mantenuta costante attraverso un programma che fa variare la distanza tra la punta e la nube elettronica generata dagli atomi della superficie campione, in questo modo la sonda segue i contorni delle nubi elettroniche, permettendo il rilevamento topografico della superficie. Questa modalità consente di lavorare con superfici rugose, ma i tempi di acquisizione sono molto lunghi.

Naturalmente l'STM richiede che si operi in vuoto, per evitare contaminazione del campione, e che il sistema sia ben isolato dai rumori ambientali: la punta deve essere portata a circa 0,002 nm dalla superficie per ottenere una risoluzione a livello di atomi della superficie di circa 0,2 nm.

Il microscopio a Forza Atomica (AFM) consiste principalmente in

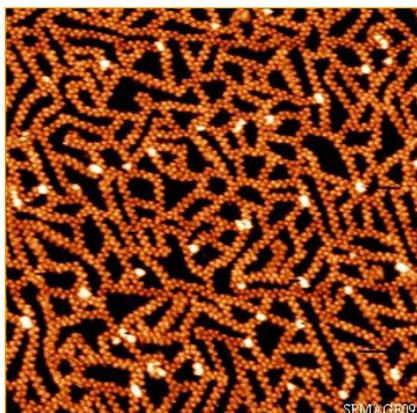
una piccola leva (cantilever) alla cui estremità è montata una punta con un raggio di curvatura dell'ordine dei nanometri con la quale si esegue la scansione della superficie del campione da analizzare, ottenendo un profilo tridimensionale della superficie in scala atomica<sup>16</sup>. La punta è posta in stretta prossimità della superficie. In questo modo si stabiliscono deboli forze di interazione tra punta e campione (del tipo Forze di Van der Waals), che determinano una flessione della leva ed una conseguente rilevazione della topografia della superficie. Le deflessioni della leva fino a 0,01 nm vengono misurate tramite un sistema ottico costituito da un laser e da un fotodiolo. Ci sono diversi modi di effettuare la scansione ma la più comune nel campo dei nanomateriali è la modalità *contact*, con la punta che "striscia" lievemente sulla superficie del campione durante la scansione. Le immagini ottenute sono stabili perché il

contatto è continuo. Il limite della risoluzione è chiaramente il raggio di curvatura della punta montata sul cantilever.

Il grosso vantaggio è che il microscopio lavora in aria (o perfino in ambiente liquido) ed i campioni non richiedono nessun trattamento speciale che potrebbe alterarne la natura come nel caso del SEM. Il principale svantaggio rispetto al SEM consiste nelle dimensioni dell'immagine: il microscopio elettronico a scansione (SEM) è in grado di mostrare un'area dell'ordine del millimetro per millimetro ed una profondità di campo dell'ordine del millimetro; il microscopio a forza atomica può, invece, riprodurre solo una profondità dell'ordine del micrometro ed un'area massima di circa 100 per 100  $\mu\text{m}$ .

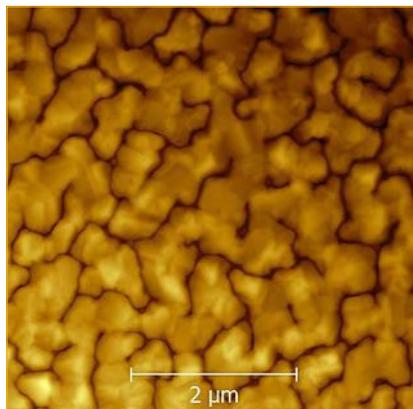
## Tecniche analitiche

Le tecniche analitiche sono fondamentali per la caratterizzazione dei nanomateriali, perché consentono di ottenere informazioni riguardo alla loro composizione chimica e alla natura dei legami chimici. Le più ampiamente utilizzate sono le spettroscopie elettroniche, anche perché spesso la strumentazione è incorporata all'interno dei microscopi elettronici. Stiamo parlando principalmente della Spettrometria per Dispersione di Energia (EDS o EDX) e della Spettroscopia EELS (Electron Energy Loss Spectroscopy). Pari importanza ricoprono, comunque, anche le spettroscopie ottiche, come ad



**FIGURA 8** Immagine STM di uno strato disordinato autoassemblato di molecole di citosina deposte su una superficie di Au

Fonte: SPMage Prize, Autore: Dr. Wei Xu. Interdisciplinary Nanoscience Center (iNANO) (Denmark) – <http://www.icmm.csic.es/spmage/>



**FIGURA 9** Analisi AFM di un deposito di Pb ottenuto per Magnetron Sputtering

Autore: Piret Pikma

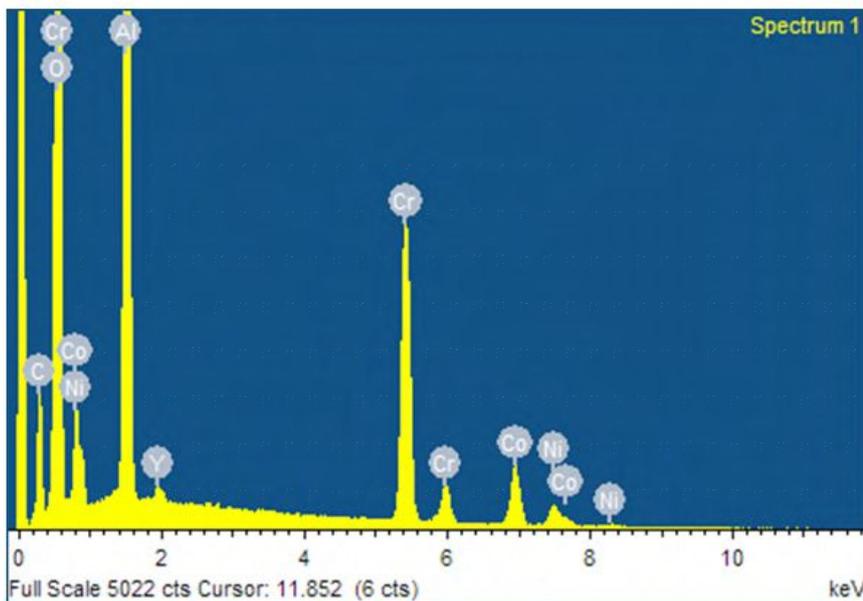


FIGURA 10 Spettro EDS di una lega di CoNiCrAlY

esempio la Spettroscopia Infra-rossa, Raman e la Diffrazione a Raggi X<sup>17,18</sup>.

#### Spettrometria a Dispersione di Energia o Microanalisi (EDS)

Lo spettrometro a dispersione di energia è generalmente integrato nel microscopio elettronico, sia esso TEM o SEM, perché offre l'enorme vantaggio di poter determinare la composizione locale dei materiali osservati al microscopio, attraverso un'analisi qualitativa e quantitativa puntuale. La microanalisi a raggi X, infatti, fornisce informazioni specifiche circa la composizione degli elementi del campione, in termini di quantità e distribuzione<sup>19</sup>.

Il fascio elettronico che investe il campione durante un'osservazione al SEM promuove la ionizzazione degli elettroni che appar-

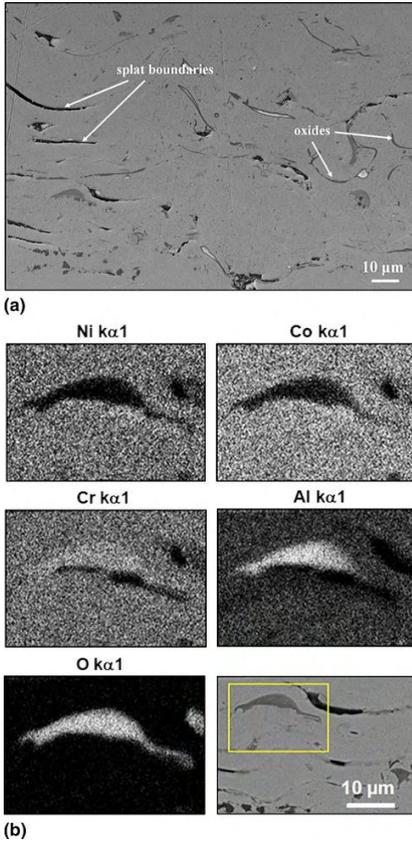
tengono agli orbitali più interni dell'atomo. Dal rilassamento che ne consegue vengono emessi dei raggi X che sono caratteristici dell'atomo da cui scaturiscono e, quindi, degli elementi che compongono il campione.

Questi raggi X opportunamente registrati e discriminati sulla base della loro lunghezza d'onda o energia, consentono di determinare la composizione elementare del materiale analizzato, nella regione in cui è posizionata la sonda. Inoltre, l'intensità di queste radiazioni caratteristiche è proporzionale alla concentrazione dell'elemento nel campione, da cui è possibile ottenere anche un'analisi semi-quantitativa. Lo spettro si presenta con una serie di picchi la cui posizione e altezza relativa è caratteristica di un dato elemento. Materiali compo-

sti produrranno spettri EDS che sono la convoluzione delle righe caratteristiche degli elementi che li costituiscono (nella Figura 10 è riportato lo spettro EDS acquisito su un'area puntuale di un campione di lega metallica CoNiCrAlY). L'EDS viene generalmente usato a supporto dell'osservazione dei campioni con elettroni retrodiffusi, per determinare la composizione chimica elementare nelle aree che già nell'immagine SEM-BSE mostrano un contrasto di colore.

Con speciali software è possibile realizzare le mappature per ogni singolo elemento che costituisce il campione. Al singolo pixel dell'immagine corrisponde un punto sulla superficie del campione dal quale è stato raccolto il segnale. La gradazione di colore è indice del numero di conteggi dei fotoni provenienti da tale punto caratteristici dell'elemento selezionato.

La Figura 11 mostra le mappe EDS della sezione trasversale di un *coating* antiossidante di CoNiCrAlY depositato mediante termospruzzatura al plasma su un substrato metallico. La mappatura EDS consente di individuare all'interno della matrice metallica  $\gamma$  delle zone grigio scure costituite da ossido di alluminio, la cui formazione è dovuta all'ossidazione superficiale delle particelle fuse nel corso della loro esposizione ad elevata temperatura e al loro trasporto in aria. L'EDS consente di distinguere tali ossidi dai pori dovuti a difetti di riempimento, che nella micrografia risultano più scuri.<sup>20</sup>



**FIGURA 11** (a) Micrografia della sezione di un coating di CoNiCrAlY, mostrandone ossidi e splat boundaries, (b) Mappa EDS della sezione di un coating di CoNiCrAlY

*Spettroscopia di Perdita di Energia (EELS: Electron Energy Loss Spectroscopy)*

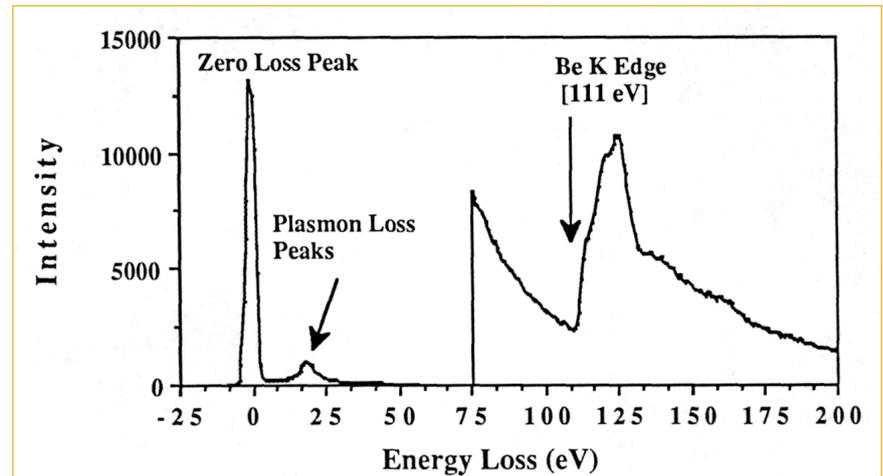
La Spettroscopia a perdita di elettroni (EELS) si basa sulla misura dell'energia persa dagli elettroni a causa degli scattering anelastici che si generano dall'interazione tra gli elettroni primari ed il campione. Essa è considerata una tecnica complementare alla Spettroscopia di Diffrazione a Raggi X. In genere la relativa strumentazione

è integrata nel TEM, proprio perché dall'interazione tra il fascio primario ed il campione vengono generati molti elettroni che, nel passare attraverso il campione, perdono energia e cambiano il loro momento angolare<sup>21</sup>. La distribuzione energetica degli elettroni in uscita presenta dei massimi in corrispondenza di quegli elettroni del fascio primario che hanno subito perdite singole di energia per eccitazione di modi vibrazionali, plasmoni o transizioni elettroniche. Questi elettroni vengono raccolti in uno spettro come quello riportato in Figura 12. Lo spettro EELS presenta un picco corrispondente agli elettroni che non hanno subito scattering anelastico e che, quindi, presentano la stessa energia degli elettroni del fascio primario (Zero Loss Peak). Ad energia lievemente più bassa (entro i 50 eV) troviamo la zona dei plasmoni, generati dall'eccitazione collettiva degli elettroni di valenza a seguito della radiazione elettromagnetica.

I plasmoni sono sensibili allo spessore del campione e sono molto intensi in quei materiali, come i metalli, che presentano elettroni liberi. Lo shift del plasmoni rispetto al Zero Loss Peak fornisce importanti informazioni riguardo al legame chimico. Sempre ritornando allo spettro, la zona a più bassa energia (> 50 eV) corrisponde alle interazioni anelastiche degli elettroni con gli orbitali interni. Questi picchi sono un fingerprint degli atomi che costituiscono il campione. L'area dei picchi fornisce, infine, anche informazioni quantitative circa la concentrazione dell'elemento individuato. L'EELS, in sintesi, consente una caratterizzazione qualitativa e quantitativa abbastanza accurata delle specie chimiche presenti, e del loro intorno chimico e stato di ossidazione.

*Spettroscopia vibrazionale: Infrarosso e Raman*

La spettroscopia vibrazionale si occupa dello studio delle eccitazioni



**FIGURA 12** Esempio di spettro EELS

vibrazionali delle molecole. Con la spettroscopia infrarossa (o spettroscopia IR) il campione è sottoposto alla radiazione incidente nelle frequenze dell'infrarosso. Se il materiale analizzato non è trasparente alla radiazione passante, il fotone verrà assorbito dalla molecola la quale passerà ad uno stato vibrazionale eccitato. L'assorbimento della radiazione infrarossa, pertanto, produce nelle molecole dei moti vibrazionali definiti come stretching (stiramento) e bending (piegamento), che sono caratteristici dell'atomo che costituisce il materiale e del legame in cui è coinvolto. La luce non assorbita è trasmessa attraverso il campione e indirizzata su un detector che determina le frequenze assorbite. In un tipico spettro infrarosso in ascissa troviamo una scala di frequenze espresse in numero d'onda e in ordinata la percentuale di trasmittanza. Dalle frequenze di assorbimento è possibile individuare la presenza di determinati gruppi funzionali e dall'intensità dei picchi dedurre la concentrazione. Nell'ambito specifico dei nanomateriali, la spettroscopia IR si è rivelata utile per provare la presenza di legami covalenti tra nanotubi di carbonio e molecole organiche opportunamente ancorate ai nanotubi<sup>22</sup>.

La spettroscopia Raman è una tecnica spettroscopica basata sull'effetto Raman. Per le sue caratteristiche, è considerata complementare alla spettroscopia infrarossa, perché con essa è possibile indagare frequenze vibrazionali trasparenti all'infrarosso<sup>23,24</sup>. La spettroscopia Raman è una spettroscopia di scattering; infatti, si fa incidere

sul campione una radiazione elettromagnetica monocromatica di intensità e frequenza nota e successivamente viene misurata la radiazione diffusa tramite rivelatore posto a 90° o 180° rispetto al cammino ottico lungo il campione. La radiazione può essere diffusa secondo tre diverse modalità: Stokes, anti-Stokes e Rayleigh (scattering elastico). La radiazione Stokes possiede energia minore rispetto alla radiazione originaria incidente, perché una parte di tale energia è utilizzata per promuovere una transizione ad un livello superiore. La radiazione anti-Stokes riceve, invece, un contributo energetico dallo stato eccitato quando passa a un livello inferiore, per cui è caratterizzata da maggiore energia. La radiazione Rayleigh è, infine, prodotta da fenomeni di scattering elastico e possiede la stessa energia della radiazione incidente. Il laser è una sorgente ideale per la Spettroscopia Raman, perché è caratterizzata da alta brillantezza, è monocromatica e disponibile in un ampio intervallo di frequenze. Lo spettro Raman generalmente si raccoglie nella regione di frequenze del Visibile-UV, dove compaiono le eccitazioni delle linee Raman. Nel campo dei nanomateriali, studiando ad esempio le frequenze Raman, è possibile risalire alla dimensione e chiralità dei nanotubi di carbonio. In generale, la larghezza dei picchi Raman e lo shift a basse frequenze sono correlati con la riduzione della dimensione delle nanoparticelle<sup>25</sup>.

#### *Diffrazione a raggi X*

La spettroscopia di diffrazione a

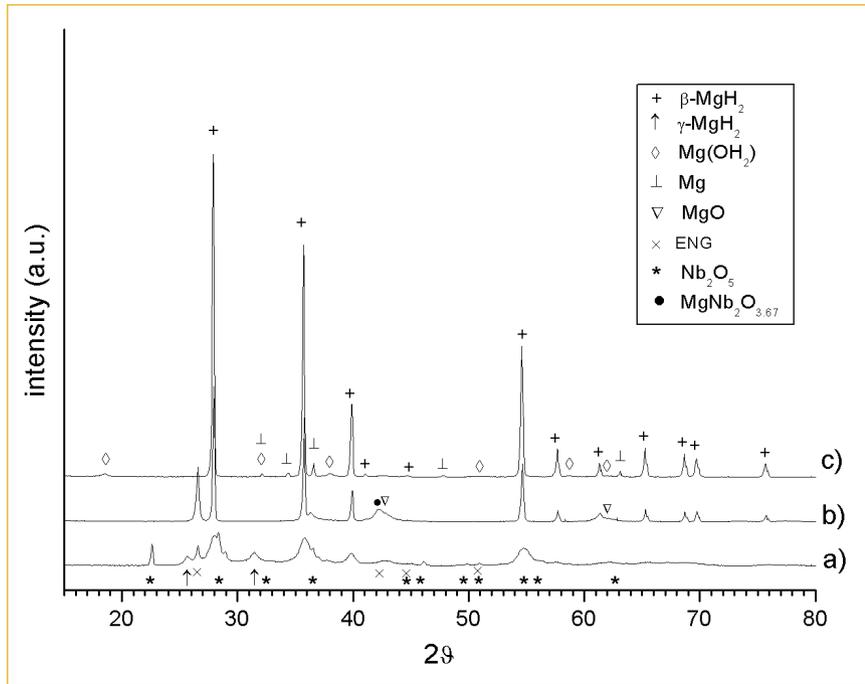
raggi X è generalmente impiegata per determinare la struttura cristallina dei materiali. Il fenomeno della diffrazione si verifica quando la radiazione elettromagnetica attraversa una serie di piani cristallini regolari la cui distanza tra loro è dello stesso ordine di grandezza della lunghezza d'onda della radiazione incidente. I raggi X soddisfano tale condizione e così vengono diffratti dal reticolo cristallino secondo la Legge di Bragg (vedi il precedente paragrafo "Microscopio elettronico a trasmissione"). Identificando i picchi nello spettro che ne risulta è possibile individuare le specie cristalline presenti e stabilire se nel materiale sono presenti una o più fasi cristallografiche. La tecnica XRD è molto importante nella caratterizzazione dei nanomateriali, perché dallo spettro è possibile dedurre anche la dimensione dei cristalliti ed eventuali fenomeni di stress e deformazioni presenti nel reticolo cristallino. La dimensione dei cristalliti può essere determinata attraverso l'equazione di Scherrer:

$$L = (C\lambda)/(\beta \cos\theta) \quad [3]$$

dove C è una costante prossima ad 1,  $\lambda$  è la lunghezza d'onda della radiazione incidente,  $\beta$  l'allargamento del picco calcolato a metà altezza e  $\theta$  è l'angolo di Bragg.

Lo spostamento dei picchi rispetto ai valori tabulati per una determinata fase fornisce una misura dello stress cristallino e, quindi, della sua deformazione.

La Figura 13 mostra lo spettro XRD di un campione di polvere compattata di MgH<sub>2</sub> e Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (10wt%) pro-



**FIGURA 13** Spettri XRD di a) pellet di  $\text{MgH}_2+\text{Nb}_2\text{O}_5+\text{ENG}$  tal quale, b) medesima pellet dopo ciclaggio ed esposizione in aria e c) polvere di  $\text{MgH}_2$  tal quale

dotto per *ball milling*, prima e dopo aver subito dei cicli di desorbimento e assorbimento di  $\text{H}_2$  a  $340\text{ °C}$  e alle rispettive pressioni di  $\text{H}_2$  di 1,2 e 8 bar. I raggi X hanno permesso di evidenziare che il ciclaggio può anche comportare la formazione di una nuova fase. In questo caso è stata, infatti, riscontrata la presenza di un ossido ternario responsabile della progressiva riduzione di effi-

cienza del materiale nell'assorbire e desorbire idrogeno.

## Conclusioni

In questa sezione sono state mostrate le tecniche più comunemente usate per la caratterizzazione dei materiali nanostrutturati. Esse includono tecniche di *imaging*, come

ad esempio la microscopia ottica ed elettronica a scansione e a trasmissione, ma anche alcune tecniche spettroscopiche volte alla caratterizzazione analitica dei materiali.

La microscopia elettronica consente di ottenere informazioni riguardo la dimensione, la morfologia e la microstruttura dei nanomateriali e viene spesso impiegata insieme alle tecniche analitiche che, forniscono, invece, informazioni principalmente di tipo composizionale.

La selezione delle tecniche di caratterizzazione più appropriate è strettamente correlata alla tipologia di materiale in esame e al tipo di informazioni che si intendono ricavare, ovvero i dettagli e le proprietà microscopiche e su scala atomica che stanno alla base delle loro caratteristiche fisiche, chimiche, termiche e meccaniche. Quindi, mediante le tecniche di caratterizzazione è fondamentale verificare come queste informazioni di base, inerenti la morfologia delle nanostrutture, la loro composizione chimica, la loro cristallinità, incidano sulle proprietà macroscopiche dei materiali e sul comportamento reale dei relativi componenti cui sono destinati.

Amelia Montone, Annalisa Aurora,  
Giovanni Di Girolamo  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie dei Materiali

- [1] M.F. Ashby, P.J. Ferreira, D.L.C. Schode; in Nanomaterials, nanotechnologies and design. An introduction for Engineers and Architect, *Elsevier*, Oxford, 2009.
- [2] K. Kalantar-zadeh, B. Fry; Nanotechnology-Enabled Sensors, *Springer*, US, 2008.
- [3] R.W. Cahn Frs, E. Lifshin; Concise Enciclopedia of Material Characterization, *Pegamon Press*, 1993.
- [4] J. Goldstein; Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis, *Springer*, 2003.
- [5] K. Oura, V.G. Lifshits, A.A. Saranin, A.V. Zotov, M. Katayama; Surface Science – An Introduction, *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg 2003.
- [6] *Brief History and Simple Description of NSOM/SNOM Technology*, *Nanonics Inc.*, 2007.
- [7] J.B. Pawley; *Handbook of Biological Confocal Microscopy (3rd ed.)*, Springer, Berlin, 2006.
- [8] P.J. Goodhew, F.J. Humphreys; Electron Microscopy and Analysis 2nd Edition, *Taylor and Francis*, London, 1988.
- [9] M. Vittori Antisari, A. Montone, A. Aurora, M.R. Mancini, D. Mirabile Gattia, L. Pilloni; *Intermetallics* (2009), 17, 596.
- [10] L. Giorgi, T. Dikonimos Makris, R. Giorgi, N. Lisi, E. Salernitano; *Sensors and Actuators B* (2007), 126, 144.
- [11] D.B. Williams, C.B. Carter; Transmission electron microscopy: A textbook for materials science 2nd edition, *Springer-Verlag*, 2008.
- [12] D. Mirabile Gattia, M. Vittori Antisari, R. Marazzi; *Nanotechnology* (2007), 18, 255604.
- [13] M. Vittori Antisari, D. Mirabile Gattia, R. Marazzi, E. Piscopiello, A. Montone; *Materials Research Society Symposium* (2009), Proc.1142, JJ05-16.
- [14] G. Di Girolamo, M. Massaro, E. Piscopiello, L. Tapfer; *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research B* (2010), 268, 2878.
- [15] E. Meyer, H.J. Hug, R. Bennewitz; Scanning probe microscopy: The lab on a tip. 1st edition, *Springer*, 2003.
- [16] G. Binnig, C.F. Quate, C. Gerbe; Atomic Force Microscope. *Physics Review Letters* (1986), 56, 930.
- [17] A.R. West; Solid State Chemistry and Its Applications, *Wiley*, New York, 1974
- [18] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler; Fundamentals of Analytical Chemistry, 5th ed. *Saunders College Publishing*, New York, 1988.
- [19] D. Shindo, T. Oikawa; Analytical Electron Microscopy for Materials Science, *Springer*, 2002.
- [20] G. Di Girolamo, M. Alfano, L. Pagnotta, J. Zekonyte, R.J.K. Wood *Journal of Materials Engineering & Performance*, (2012), 21, 1989.
- [21] R.F. Egerton; *Reports on Progress Physics* (2009), 72, 01650
- [22] C. Baudot, C.M. Tanb, J.C. Konga; *Infrared Physics & Technology* (2010), 53, 43
- [23] D.J. Gardiner; Practical Raman spectroscopy, *Springer-Verlag*, 1989
- [24] S.S. Challa, R. Kumar; Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization, *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, 2012.
- [25] P. Atkins, J. De Paula; Chimica Fisica 4<sup>a</sup> ed., *Zanichelli*, Bologna, 2004.

# Stato dell'arte e prospettive della valutazione tossicologica di nanomateriali ingegnerizzati

La nanotossicologia è una branca della tossicologia sperimentale che si occupa dell'identificazione e caratterizzazione degli effetti biologici dannosi di nanomateriali ingegnerizzati. Le proprietà fisico-chimiche di tali materiali influenzano le loro interazioni a livello biologico. Dalla prima generazione di studi sperimentali è emersa la necessità di un adattamento ai nanomateriali delle metodologie e strategie correnti di valutazione tossicologica. Particolari sfide sono quelle presentate dalla varietà di materiali da saggiare, dalla definizione delle grandezze dosimetriche di rilievo, dalla standardizzazione della preparazione e caratterizzazione del campione di nanomateriale nelle matrici biologiche, dalle tecniche per la determinazione della biodistribuzione nell'organismo. Le tecnologie "omiche" sono oggi strumento per un approccio tossicologico innovativo basato sulla comprensione dei meccanismi d'azione, che consentirà ai laboratori più avanzati di implementare test di screening ad alte prestazioni

DOI 10.12910/EAI2015-031

■ F. Pacchierotti, M. G. Grollino, G. Leter

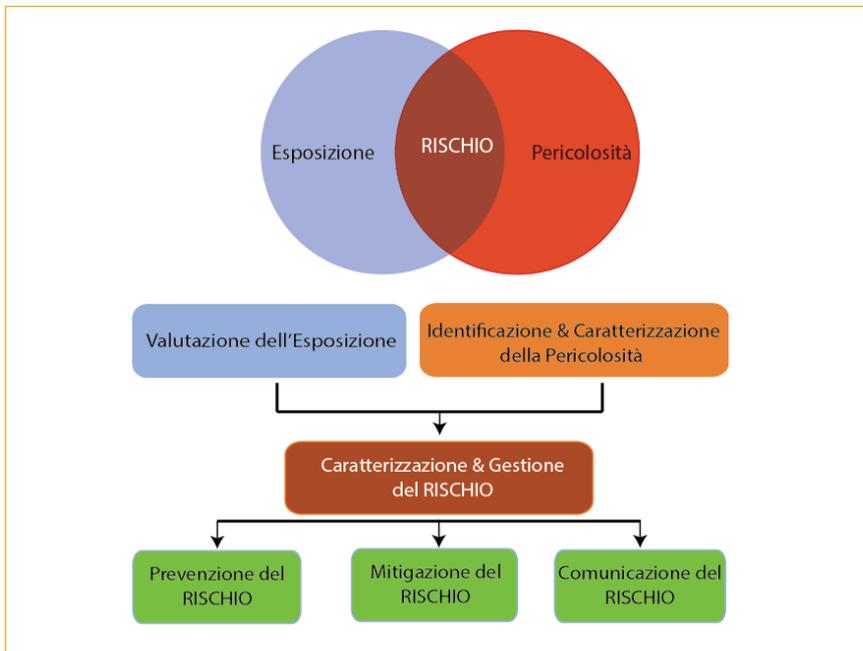
La produzione e l'uso di nanomateriali ingegnerizzati sono in continua espansione. Le stesse caratteristiche chimico-fisiche che conferiscono ai nanomateriali proprietà utili per una grande varietà di applicazioni possono attribuire loro una tossicità biologica non presente nel corrispettivo materiale in forma massiva (bulk). Questa considerazione ha portato allo sviluppo di una nuova branca della tossicologia, oggi nota come nanotossicologia. La nanotossicologia fonda una parte dei suoi assunti teorici e dei suoi metodi sperimentali nelle ricerche compiute negli anni sessanta dello scorso secolo sugli effetti sanitari del particolato fine e ultrafine presente in atmosfera e originato prevalentemente dall'inquinamento industriale e dai veicoli a motore a scoppio. Infatti, studi

sperimentali, avviati a seguito di eventi estremi d'inquinamento atmosferico che causarono migliaia di morti, dimostrarono che le nanoparticelle contenute nel particolato ultrafine potevano sfuggire all'attività fagocitaria dei macrofagi polmonari e causare fenomeni infiammatori e alterazioni cardiovascolari.

La valutazione dei rischi per la salute ("risk assessment"), derivanti dall'esposizione a nanomateriali in ambienti di vita e di lavoro, si basa, come per altre potenziali sorgenti di danno, sull'intersezione tra misure di esposizione ("exposure assessment") e dati tossicologici ("hazard characterization") (Figura 1). La nanotossicologia ha il compito di fornire questi ultimi. Per far ciò si avvale di diversi approcci consolidati: test validati di tossicità in vitro e

in vivo; studi di biodistribuzione in organismi complessi (i cosiddetti studi ADME o "absorption, distribution, metabolism, excretion"); studi sui meccanismi d'azione a livello molecolare, cellulare, tissutale, d'organo e sistema; modelli di estrapolazione dei dati tossicologici ottenuti su colture cellulari alla possibile risposta di organismi complessi; costruzione di relazioni tra parametri chimico-fisici e attività biologica per poterne derivare modelli predittivi in silico. Tuttavia, la peculiare reazione dei sistemi biologici ai materiali nanodimensionati ha, molto presto, fatto emergere la

Contact person: Francesca Pacchierotti  
francesca.pacchierotti@enea.it



**FIGURA 1** Il rischio per la salute è una funzione dipendente dall'esposizione e dalla pericolosità di un agente potenzialmente dannoso. La nanotossicologia sviluppa tecniche e modelli e produce i dati sperimentali necessari per l'identificazione e la caratterizzazione della pericolosità di nanomateriali ingegnerizzati

necessità non tanto di stravolgere le metodiche o l'approccio di caratterizzazione tossicologica quanto di adattarli al contesto, tenendo conto delle sue specificità. Nel seguito di questo articolo verranno esaminate più in dettaglio le principali criticità emerse nella pianificazione e conduzione di test tossicologici applicati ai nanomateriali.

### Definizione delle priorità di analisi

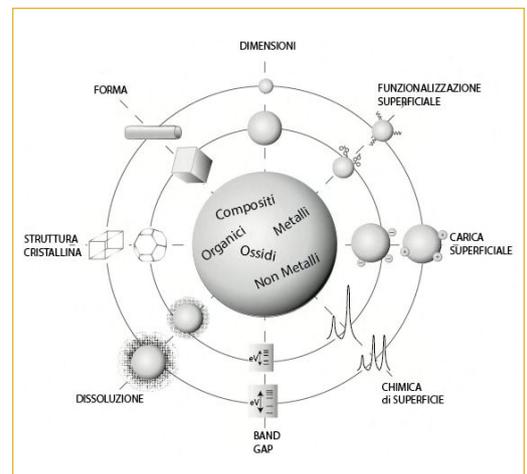
Occorre partire dalla considerazione della grande varietà di nanomateriali già oggi prodotti e impiegati o in fase di sviluppo: essi possono

variare, infatti, non solo per la composizione chimica, ma anche per le dimensioni, la forma, le modificazioni di superficie, i metodi di sintesi, tutti fattori che si sono dimostrati influenzare la risposta biologica. Poiché non è realisticamente ipotizzabile moltiplicare i test tossicologici per il numero delle varianti di nanomateriali in esame, i laboratori di ricerca stanno lavorando, ai fini della classificazione e regolamentazione di nanomateriali, per definire le priorità di valutazione e per identificare criteri di classificazione che permettano di raggruppare i nanomateriali in base a diversi livelli di pericolosità, attraverso lo studio dei meccanismi e tipologie di effetti biologici. Ad esempio sarà data priorità allo

studio di nanomateriali già prodotti e immessi in commercio in grandi quantità, o di materiali dei quali una prima valutazione tossicologica abbia evidenziato la pericolosità. Inoltre, si procede con studi che testino sistematicamente le variazioni della risposta biologica al variare delle caratteristiche chimico-fisiche di un dato materiale; per questi studi, sono necessari materiali "modello", di composizione molto omogenea, con caratteristiche chimico-fisiche note, eventualmente sintetizzati allo scopo (Figura 2).

### Impatto delle caratteristiche chimico-fisiche sulla risposta biologica

Dagli studi sinora condotti è emerso che le caratteristiche



**FIGURA 2** L'impatto delle proprietà chimico-fisiche sulla pericolosità di nanomateriali ingegnerizzati andrebbe valutato utilizzando un approccio combinatorio e materiali omogenei, ben caratterizzati, eventualmente sintetizzati ad-hoc

chimico-fisiche dei nanomateriali che influenzano la risposta biologica sono numerose; un elenco non esaustivo include la composizione chimica, il numero e la dimensione delle particelle, la loro forma, il tipo, la carica e l'eventuale funzionalizzazione della superficie. Per valutare il peso relativo dell'una o dell'altra caratteristica occorre determinarle quantitativamente con tecniche affidabili, talvolta raffinate, che forniscano dati solidi e riproducibili, nelle condizioni sperimentali rilevanti. Ad esempio, è noto che lo stato di agglomerazione/agggregazione delle nanoparticelle (e quindi il numero e la dimensione delle entità che interagiscono con i bersagli biologici) varia in funzione del mezzo di dispersione; inoltre, lo stesso sistema cellulare induce alterazioni nelle nanoparticelle con cui interagisce, modificandone chimicamente la superficie a seguito dell'adsorbimento di biomolecole presenti nei fluidi biologici. Pertanto, negli esperimenti di tossicologia su linee cellulari è necessario determinare lo stato di aggregazione delle nanoparticelle sia a secco che nel mezzo di coltura, prima e al termine del trattamento. Infine il livello di caratterizzazione chimico-fisica dovrebbe essere definito in base agli obiettivi dello studio: un maggiore approfondimento in quegli studi pianificati proprio per valutare l'impatto delle proprietà chimico-fisiche sulla risposta biologica, una caratterizzazione "di base" comprendente un set minimo di parametri, concordati all'interno della comunità scien-

tifica internazionale, per assicurare la riproducibilità dei dati e la confrontabilità di studi condotti in laboratori diversi.

### Dispersione del materiale per prove di tossicità

Abbiamo già accennato all'importanza della dispersione del materiale nelle prove di tossicità. Tuttavia, nel caso dei sistemi cellulari *in vitro*, il mezzo di dispersione ottimale è ancora materia di discussione: infatti, da una parte, sarebbe importante, per un approccio conservativo alla valutazione del rischio, ottenere la massima dispersione possibile che porti a contatto con il bersaglio biologico particelle nell'intervallo delle dimensioni molto piccole, ritenute più pericolose; d'altra parte può essere maggiormente significativo, ai fini dell'estrapolazione dei dati ottenuti *in vitro* alla risposta di organismi complessi, testare il materiale nel mezzo che meglio riproduca le condizioni di dispersione a livello dell'organo o tessuto bersaglio, come nel caso di un surfattante polmonare per valutare la potenziale tossicità di nanoparticelle su cellule dell'apparato respiratorio. Resta comunque un requisito essenziale negli studi di nanotossicologia la standardizzazione, e l'armonizzazione tra laboratori, delle condizioni di dispersione del materiale: tali condizioni sono al momento in corso di definizione nell'ambito di quei progetti internazionali maggiormente orientati agli aspetti di regolamentazione dei nanomateriali (NANO-REG – A common European approach to the regulatory testing of manufactured nanomaterials, <http://www.nano-reg.eu>).

### Selezione dei livelli di dose da saggiare nelle analisi di tossicità

I fondamenti della tossicologia classica sono basati essenzialmente sulla valutazione della relazione che intercorre tra la dose, e quindi la quantità della sostanza in esame, e gli effetti che questa produce sul sistema sperimentale sia esso rappresentato da sole cellule, come nel caso dei test *in vitro*, o da organismi animali per i test *in vivo*. Dalle curve dose-risposta sono ricavati i parametri definiti NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) e LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) utilizzati in pratica per quantizzare la pericolosità di una sostanza. Questo approccio resta valido anche nel caso dei nanomateriali, ma viene reso più complesso da alcune problematiche ancora non pienamente risolte. Innanzitutto la scelta della metrica da usare per esprimere le dosi: è la concentrazione in termini di massa (es. mg/ml di terreno di coltura, mg/kg di peso corporeo) l'unità di misura della variabile indipendente da utilizzare o è tossicologicamente più rilevante il numero delle particelle o l'area superficiale totale? Manca ancora un consenso su queste scelte anche perché diversi effetti biologici sembrano dipendere maggiormente dall'una o dall'altra variabile. Pertanto, allo stato dell'arte, la raccomandazione è quella di definire la dose attraverso un set minimo di parametri (concentrazione di massa, area superficiale totale), e di avere cura di registrare accuratamente tutte le condizioni sperimentali, come, ad esempio, volume della sospensione di nanoparticelle somministrata,

numero di cellule esposte, geometria del sistema espositivo (es. area della piastra di coltura, superficie polmonare totale) che consentano, a posteriori, di ricostruire la dose efficace e di confrontare nel modo più attendibile i risultati prodotti da studi indipendenti.

Esistono sostanzialmente due approcci che possono essere seguiti per disegnare gli esperimenti volti alla determinazione delle relazioni dose-risposta. Da una parte, si possono scegliere le concentrazioni da saggiare all'interno di un intervallo corrispondente a reali scenari di esposizione, dall'altra si può utilizzare un intervallo di dosi più ampio, comprendente anche dosi molto superiori a quelle riscontrabili negli ambienti di vita o di lavoro, con lo scopo di accertare la reale dipendenza dell'effetto biologico analizzato dalla dose e di sostanziare, in tal modo, un rapporto di causalità. Per la nanotossicologia, attualmente, esistono pochi margini di scelta perché gli scenari ed i livelli di esposizione reali sono ancora poco noti, anche a causa delle difficoltà analitiche dovute all'inadeguatezza degli strumenti di misura e delle strategie di campionamento. I dati di esposizione costituiscono oggi l'incognita principale per la stima del rischio e quella sulla quale dovranno concentrarsi i maggiori investimenti nell'immediato futuro.

È necessario infine valutare anche gli effetti indotti da esposizioni protratte nel tempo per verificare eventuali fenomeni di accumulo di nanoparticelle nei tessuti/organi bersaglio e la possibile compromissione a lungo termine dei meccanismi di difesa ed eliminazione.

La quantificazione e qualificazione di eventuali effetti cronici nell'ambito della nanotossicologia sperimentale rende ancora necessario l'utilizzo degli animali da laboratorio, anche se la ricerca e lo sviluppo di modelli avanzati in vitro proseguono intensamente, con l'obiettivo di ridurne quanto più possibile l'impiego (vedi oltre).

Per concludere su questo aspetto, possiamo fare nostra la posizione di chi propone di concentrare le risorse disponibili su pochi materiali, testati ad un numero di concentrazioni/dosi sufficientemente alto per descrivere la risposta cellulare e tissutale (ad es. quella di tipo infiammatorio), piuttosto che ambire a caratterizzare dal punto di vista tossicologico troppi materiali con test di screening basati su un numero insufficiente di concentrazioni.

### Selezione dei modelli sperimentali, bersagli ed effetti

Ai fini della caratterizzazione del pericolo dovuto all'esposizione a nanomateriali, occorre considerare che, allo stato attuale delle conoscenze, le principali vie di esposizione umana sono quella inalatoria, alimentare, dermica. Pertanto, la scelta del modello sperimentale più appropriato dovrebbe ricadere su linee cellulari che meglio mimino in vitro gli organi coinvolti in queste vie di assorbimento e su modelli animali trattati secondo una di queste modalità, selezionata in funzione degli scenari espositivi del materiale da saggiare.

Negli studi con modelli animali, per un'interpretazione corretta dei risul-

tati, è essenziale accompagnare la descrizione degli eventuali effetti tossici riscontrati con un accurato studio di biodistribuzione delle nanoparticelle. Infatti, è stato dimostrato che i nanomateriali possono traslocare ed eventualmente accumularsi in organi distali dalle vie espositive d'accesso all'organismo riuscendo a superare le barriere biologiche come quella encefalica, alveolare e testicolare. A tale scopo, sono ancora in discussione i metodi più appropriati, sensibili e specifici (es. microscopia elettronica, spettrometria di massa) per misurare la deposizione delle nanoparticelle negli organi distali. Inoltre, occorre tener conto del fatto che i cosiddetti effetti sistemici, quelli cioè potenzialmente indotti a distanza, possono insorgere non solo a seguito di fenomeni di traslocazione delle nanoparticelle in quanto tali, ma anche a seguito della circolazione di mediatori chimici, come nel caso della risposta infiammatoria.

Per quanto riguarda le raccomandazioni più recenti circa la scelta del tipo di effetti biologici da valutare, la citotossicità, cioè la morte cellulare, è il più diretto indicatore di danno e può essere convenientemente utilizzato come parametro per uno screening iniziale di tossicità in vitro e per definire meglio l'intervallo di dosi sul quale indirizzare i successivi studi di approfondimento. Per quanto possa essere banale il concetto di morte cellulare, i metodi per accertarla e misurarne la frequenza non sono altrettanto univoci, particolarmente nel caso di nanoparticelle, che, nel mezzo di coltura, anche a seguito di fenomeni di agglomerazione/agggregazione, possono interferire con alcuni metodi di misura della vitalità cellulare.

Per questi motivi, è consigliato l'impiego di più metodi complementari, basati su principi diversi, e sono attualmente in corso confronti a livello internazionale per la loro validazione. Oltre alla valutazione della citotossicità, può essere utile determinare l'eventuale induzione di un danno genotossico, cioè di un danno a livello delle molecole di DNA, della struttura, o del numero di cromosomi, perché ciascuno di questi effetti è potenzialmente implicato nei processi di trasformazione tumorale. Infine, i fenomeni infiammatori e lo stress ossidativo, ripetutamente osservati già negli studi sugli effetti del particolato ultrafine, suggeriscono di includere tali indicatori negli screening tossicologici di nanomateriali.

### I metodi alternativi all'uso di animali da laboratorio

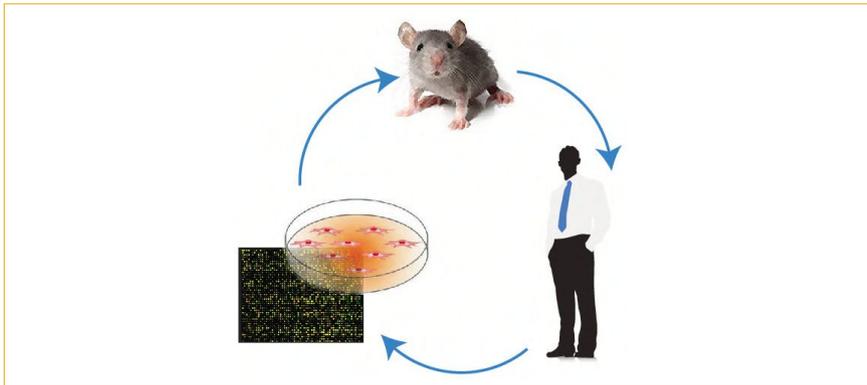
Grazie ad una crescente sensibilità bioetica e alla disponibilità di nuove tecnologie, negli ultimi anni si va affermando sempre più una cultura e una pratica di sviluppo e validazione di metodi di caratterizzazione tossicologica alternativa a quelli basati sull'uso di animali da laboratorio. Questa tendenza è presente anche nel settore della nanotossicologia, nel quale però devono essere superate alcune difficoltà specifiche: ad oggi, è ancora difficile riprodurre in vitro il complesso network che regola la risposta infiammatoria a livello di organi e sistemi; sono ancora in fase di sviluppo modelli in vitro di "barriere", come la barriera emato-encefalica o la barriera placentare, che permettano di saggiare il potenziale di traslocazione

di nanoparticelle; non sono riproducibili, se non in modo approssimativo, i fenomeni di contrattilità polmonare e cardiaca importanti nei fenomeni di traslocazione; non esistono al momento metodi standardizzati per valutare in vitro esposizioni croniche e possibili effetti cumulativi nel tempo. Comunque, anche nel settore della nanotossicologia, i test in vitro tradizionali possono essere molto utili, ad esempio, per valutare in modo comparativo l'impatto delle caratteristiche chimico-fisiche sulla tossicità e validare, in tal modo, modelli di relazione struttura-attività, o per determinare le capacità di internalizzazione della nanoparticella in diversi tipi cellulari. Inoltre, una nuova generazione di modelli in vitro, come quelli basati sulla co-cultura di diversi tipi cellulari, o quelli basati sulle colture d'organo, o, infine, quelli basati sul differenziamento di cellule staminali totipotenti o multipotenti in specifiche linee differenziate, offre interessanti prospettive per un approccio in vitro alla valutazione tossicologica di nanomateriali.

### Dalla tossicologia del "cosa" alla tossicologia del "come"

L'imponente sviluppo delle tecnologie "omiche", cioè delle tecniche di analisi molecolare per evidenziare specifici cambiamenti nella sequenza del genoma, variazioni di espressione genica, o modificazioni dei pattern metabolici, relativamente alla totalità delle strutture/reazioni cellulari e della rete di connessioni tra le stesse ("genome wide"), ha spostato l'accento da una tossicologia descrittiva ad una tossicologia

interpretativa, cioè dall'osservazione e dalla misura di effetti dannosi all'indagine sulla cascata di reazioni innescate da un'esposizione nociva, che portino come risultato finale ad alterazioni patologiche irreversibili (i cosiddetti "pathways of toxicity"). Questo cambiamento di prospettiva è in atto anche nel settore della nanotossicologia, almeno da parte dei laboratori più attrezzati in termini di infrastrutture e capacità di investimenti. A tal fine i modelli sperimentali migliori sono quelli basati su colture cellulari omogenee e ben caratterizzate che annullano la complicazione derivante dai fenomeni di traslocazione e dall'eterogeneità tissutale della maggior parte degli organi bersaglio. Con questi modelli e tecnologie i laboratori più avanzati propongono test di screening ad alte prestazioni ("high content, high throughput") che consentano di affrontare efficacemente la valutazione della crescente quantità e varietà di nanomateriali disponibili sul mercato al fine di una loro iniziale categorizzazione in classi di rischio. Le tecnologie molecolari, accoppiate alla robotizzazione di alcune fasi sperimentali, consentirebbero, infatti, di valutare contemporaneamente molti parametri biologici in risposta a molti materiali diversi. È stata quindi proposta una strategia di caratterizzazione tossicologica a più fasi, in base alla quale, dopo uno screening in vitro ad alte prestazioni, seguirebbero, per i materiali potenzialmente più nocivi, test in vivo di tossicità polmonare acuta ad alte dosi ed eventualmente, per un ristretto numero di materiali, test di esposizione inalatoria cronica a concentrazioni comparabili a quelle



**FIGURA 3** Nuove tecnologie “omiche” ad alte prestazioni e alto contenuto di informazioni possono indirizzare un numero limitato di studi con animali da laboratorio, utili per la caratterizzazione della pericolosità di esposizioni umane a nanomateriali

associate ad esposizioni umane (Figura 3).

### Standardizzazione, armonizzazione e validazione dei test per la caratterizzazione tossicologica di nanomateriali

Per concludere è importante accennare al percorso in atto sulla standardizzazione, armonizzazione e validazione dei test per la caratterizzazione tossicologica di nanomateriali. Si tratta di un iter normalmente applicato in tossicologia: per essere accettati

a livello internazionale, i dati tossicologici devono essere ottenuti con test eseguiti secondo protocolli ben standardizzati e armonizzati tra i diversi paesi; inoltre, la validazione di un test, cioè la determinazione della specificità e della sensibilità con cui esso permette di predire l'induzione di un effetto nocivo di rilevanza sanitaria (es. quanto un test di citotossicità in vitro su una specifica linea cellulare risulta predittivo della tossicità riscontrata in vivo sull'organo bersaglio, o quanto un test di danno genetico risulta predittivo del potenziale cancerogeno di un composto), è importante

per interpretare correttamente i risultati conseguiti con esso al fine ultimo di salvaguardia della salute umana. L'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE) coordina da molti anni la stesura di Linee Guida per l'esecuzione di test tossicologici, condivise a livello internazionale. Nel 2006 è stato costituito dall'OCSE un gruppo di lavoro specifico per la valutazione dell'impatto di nanomateriali sulla salute umana e sull'ambiente (Working Party on Manufactured Nanomaterials, WPMN). Attualmente il WPMN è impegnato nella valutazione delle Linee Guida vigenti rispetto alla loro adeguatezza per la valutazione di nanomateriali. Gli esperimenti sinora condotti hanno fatto emergere la necessità di modifiche e adattamenti, che sono al momento in fase di consolidamento, e hanno portato alla stesura di alcuni documenti contenenti raccomandazioni per l'esecuzione dei test, che potrebbero essere in futuro implementati in nuove Linee Guida specifiche per la valutazione tossicologica di nanomateriali.

Francesca Pacchierotti,  
 Maria Giuseppa Grollino, Giorgio Leter  
 ENEA, Unità Tecnica Biologia delle Radiazioni  
 e Salute dell'Uomo, Laboratorio di Tossicologia

#### bibliografia

- [1] <http://www.oecd.org/science/nanosafety>
- [2] OECD. Inhalation toxicity testing: expert meeting on potential revisions to OECD test guidelines and guidance document. Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No. 35. ENV/JM/MONO(2012)14
- [3] OECD. Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials. Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No. 36. ENV/JM/MONO(2012)40
- [4] Johnston H., Pojana G., Zuin S., Jacobsen N.R., Moller P., Loft S., Semmler-Behnke M., McGuinness C., Balharry D., Marcomini A., Wallin H., Kreyling W., Donaldson K., Tran L., Stone V. Engineered nanomaterial risk. Lessons learnt from completed toxicology studies: potential solutions to current and future challenges. Crit Rev Toxicol. 2013;43(1):1-20
- [5] Nel A., Xia T., Meng H., Wang X., Lin S., Ji Z., Zhang H. Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: use of a predictive toxicological approach and high-throughput screening. Acc Chem Res. 2013;46(3):607-621
- [6] Seaton A., Tran L., Aitken R., Donaldson K. Nanoparticles, human health hazard and regulation. J R Soc Interface. 2010;7:S119-S129
- [7] Som C., Nowack B., Krug H.F., Wick P. Toward the development of decision supporting tools that can be used for safe production and use of nanomaterials. Acc Chem Res. 2013;46(3):863-872

# I nanomateriali e l'ambiente

Le nanotecnologie intendono ingegnerizzare la materia sfruttando le speciali proprietà che essa esibisce nella scala nanometrica per creare nuovi prodotti. Tali proprietà implicano una maggiore reattività chimica, una maggiore resistenza e conducibilità elettrica e, potenzialmente, una più accentuata attività biologica. Questa può avere non solo valenza positiva (attività antiossidante, penetrazione delle barriere cellulari per il rilascio di farmaci), ma anche negativa (ad es. tossicità, induzione di stress ossidativo o di disfunzione cellulare). Pertanto, oltre al grande interesse applicativo, le nanotecnologie hanno suscitato l'attenzione della comunità scientifica e delle autorità legislative per le specifiche interazioni che si possono generare con gli esseri viventi e con l'ambiente

DOI 10.12910/EAI2015-032

■ S. Manzo, G. Rametta, M. L. Miglietta, G. Di Francia

Con l'avvento dei nanomateriali si è aperto un nuovo fronte di sviluppo tecnologico: le nanotecnologie. Le nanotecnologie intendono ingegnerizzare la materia sfruttando le speciali proprietà che essa esibisce nella scala nanometrica per creare nuovi prodotti. Esse forniscono, pertanto, una base per l'innovazione in molti campi di attività, da quello farmaceutico a quello degli attrezzi ginnici, producendo un incremento esponenziale sia nello sviluppo delle tecnologie di prodotto sia nello sviluppo di nuovi materiali.

La quantità di prodotti in commercio contenenti nanoparticelle o nano fibre sta crescendo notevolmente: nel 2006 erano presenti sul mercato solo 212 prodotti, che sono diventati 609 nel 2008 ed infine 1.628 nell'ottobre del 2013 (Project on Emerging Nanotechnologies, 2014) [1].

In Tabella 1 sono riportati i settori na-

Categorie prodotti	2006	2008	2011	2013
Salute e fitness	120	369	738	788
Casa e giardino	25	69	209	221
Auto	10	35	126	142
Cibo e bevande	25	68	105	194
Prodotti trasversali	10	12	82	83
Elettronica e computer	30	51	59	61
Elettrodomestici	10	22	44	48
Beni per l'infanzia	5	17	30	29

**TABELLA 1** L'incremento dei prodotti "nanotech" nelle varie categorie

Fonte: <http://www.nanotechproject.org/inventories/>

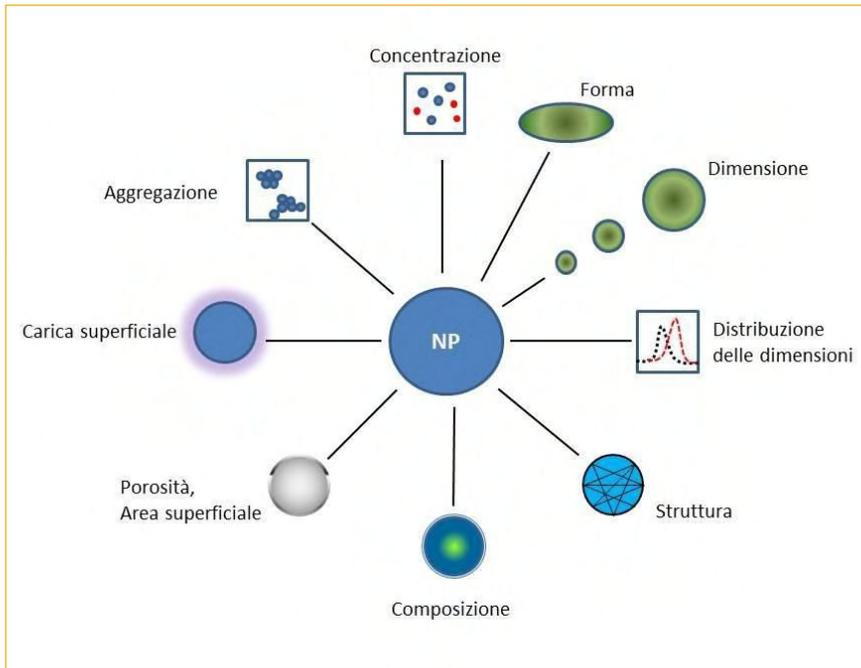
notecnologici più rilevanti ed il relativo numero di prodotti in commercio.

Il motivo dell'incremento nell'utilizzo dei nano materiali nei prodotti è legato principalmente alle peculiari caratteristiche fisico-chimiche dei materiali in dimensioni "nano", minori cioè di 100 nanometri, rispetto a materiali della stessa composizione ma non nano-strutturati (Figura 1).

Tali proprietà sono attribuibili

all'aumentata area superficiale per unità di massa delle nanoparticelle che implica una maggiore reattività chimica, una maggiore resistenza e conducibilità elettrica e, potenzialmente, una più accentuata attività

Contact person: Sonia Manzo  
sonia.manzo@enea.it



**FIGURA 1** Caratteristiche chimico-fisiche delle nanoparticelle di particolare rilievo

biologica [2]. Questo incremento potenziale dell'attività biologica può avere non solo valenza positiva (attività antiossidante, penetrazione delle barriere cellulari per il rilascio di farmaci), ma anche negativa (ad es. tossicità, induzione di stress ossidativo o di disfunzione cellulare). Pertanto, oltre al grande interesse applicativo, le nanotecnologie hanno suscitato l'attenzione della comunità scientifica e delle autorità legislative per le specifiche interazioni che si possono generare con gli esseri viventi e con l'ambiente. Poiché la produzione globale e l'uso dei nano materiali (NM) aumenta progressivamente ed è proiettato a crescere ad oltre mezzo milione di tonnellate nel 2020, il loro rilascio in ambiente deve essere seriamente

considerato così come anche il loro impatto. Pertanto negli ultimi anni accanto ai numerosi studi riguardanti gli effetti dei NM sugli uomini si è sviluppato un interesse crescente sulla diffusione, sul destino e sugli effetti indesiderati dei NM una volta rilasciati in ambiente. Uno degli obiettivi che ne deriva è trovare il modo per rendere tale progresso ecosostenibile. Sebbene i NM siano presenti naturalmente in ambiente (per esempio minerali, molecole, e prodotti di batteri) e siano stati utilizzati intenzionalmente per secoli (per esempio coloranti metallici) la loro produzione sistematica risale agli ultimi decenni. Le nano particelle ingegnerizzate sono composte da un'ampia varietà di materiali e si presentano in forme e taglie diffe-

renti rispetto ai materiali naturali, pertanto la comunità scientifica ha ritenuto necessaria la valutazione dell'impatto delle particelle in nanoscala sull'ecosistema nel campo emergente della nano eco tossicologia.

### La nanoecotossicologia

L'ecotossicologia è la scienza che studia gli effetti dei contaminanti sui costituenti della biosfera. Sebbene sia un campo relativamente nuovo, la ricerca ecotossicologica si sta evolvendo rapidamente soprattutto a causa dell'interesse suscitato dall'incremento del settore produttivo industriale. L'ecotossicologia sta diventando pertanto una parte importante nella valutazione del rischio ambientale ed ecologico e nella definizione delle politiche ambientali.

Di fatto, diversamente dall'approccio chimico analitico, la valutazione ecotossicologica integra gli effetti derivanti da vari input di contaminazione. L'introduzione, quindi, di criteri di valutazione basati anche sulla ecotossicità nelle politiche attualmente adottate potrebbe permettere di avere una comprensione più approfondita del rischio ambientale.

In particolare la valutazione ecotossicologica assume importanza strategica nel caso di nuovi contaminanti, quali possono essere i NM. Abbiamo visto che la riduzione della dimensione delle particelle nella scala dei nanometri modifica in modo sostanziale le caratteristiche chimico-fisiche del materiale ed in particolare la reattività superficiale.

Queste caratteristiche ne influenzano e determinano quindi una nuova e spesso imprevista modalità di interazione con l'ambiente e quindi con gli organismi viventi rispetto allo stesso composto non nano.

È infatti comunemente accettato che l'elevata area superficiale genera una reattività potenziata dei NM, che può spesso condurre ad una maggiore biodisponibilità e tossicità. Pertanto accurate caratterizzazioni dei nanomateriali sono essenziali per produrre le basi per la conoscenza delle proprietà in-dotte dalla nanostruttura e del loro effetto biologico.

Gli studi ecotossicologici si propongono di descrivere la tossicità delle nanoparticelle in sistemi di laboratorio o in piccoli mesocosmi utilizzando procedure e metodi derivanti dall'ecotossicologia classica.

Ci si è posti subito il dubbio sull'opportunità di tale utilizzo e pertanto una parte della ricerca si è indirizzata alla stesura di metodi appositi. Accanto all'ampio utilizzo di metodi non standard nella comunità scientifica, esistono molti metodi standardizzati per la valutazione ecotossicologica delle sostanze chimiche come le procedure OECD ed i protocolli ASTM, US EPA. Tutti questi test standardizzati, tuttavia, sono stati stabiliti e validati utilizzando le sostanze chimiche tradizionali. In conseguenza anche se esiste un generale consenso su tali procedure si rende sempre più evidente la necessità di modifiche ed ottimizzazioni dei protocolli esistenti per renderli utilizzabili con i NM. Negli ultimi anni molteplici iniziative sono state avviate in tal senso, a partire dal "the OECD programme (2010)"

[3] al progetto Nanoreg (2012-2016) [4], con l'obiettivo generale di "testare i test" per arrivare a protocolli condivisi utili per definire la "safety" dei NM.

Le principali problematiche che devono essere studiate e considerate quando si deve testare la ecotossicità di un NM riguardano la esposizione (mantenere la concentrazione durante il test), la caratterizzazione del mezzo di coltura durante l'esperimento, l'utilizzo di agenti e processi per permettere la dispersione dei NM come anche la corretta interpretazione dei risultati.

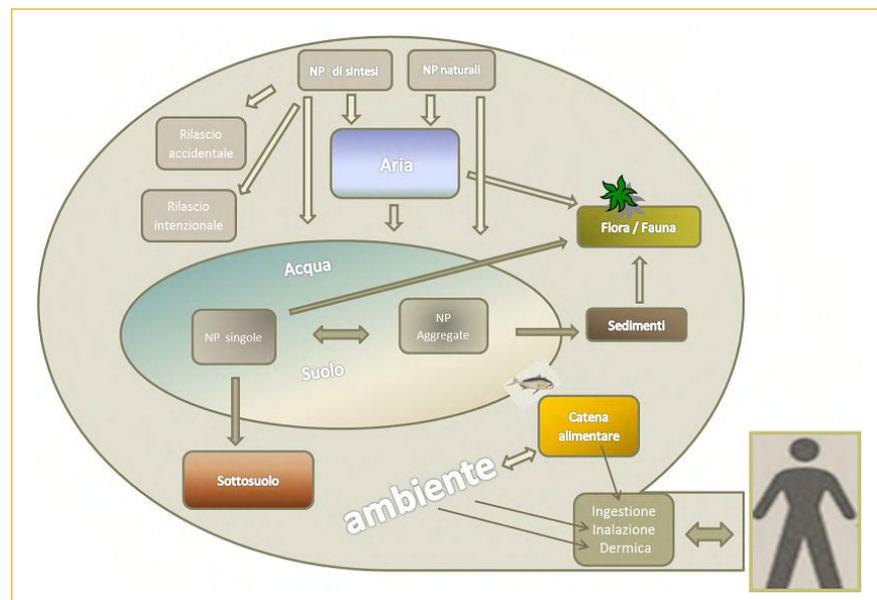
Sebbene il numero di prodotti commercializzati contenenti nanoparticelle sta crescendo e nuovi nanomateriali si stanno continuamente sviluppando, solo alcuni NM sono attualmente utilizzati in un ampio numero di prodotti o in un ampio

volume, pertanto solo un piccolo subset di essi saranno rilasciati in ambiente nei prossimi decenni in grandi quantità. Questi includono argento, ossido di titanio, ossido di zinco, silicio e materiali a base di carbonio (quali nano tubi di carbonio e fullereni) pertanto questi materiali costituiscono il focus della ricerca e degli studi in nanoecotossicologia.

### Input di nanomateriali in ambiente

Di fatto la produzione e l'utilizzo di prodotti contenenti NM comporta un certo rilascio in aria, in acqua, nei suoli (Figura 2).

L'entità di tale rilascio dipenderà dalla quantità di utilizzo di un certo prodotto, dalla modalità d'uso e dal-



**FIGURA 2** Rappresentazione schematica delle vie di diffusione ed esposizione delle nanoparticelle in ambiente

la concentrazione dei NM all'interno del prodotto stesso. Ad esempio le creme solari e gli altri cosmetici come balsamo per capelli, gel corpo, latte idratante, creme da barba, lozioni e trucchi, ormai quasi sempre costituiti almeno in parte da NM, possono immettersi nelle acque superficiali e marine direttamente durante il nuoto o il bagno o indirettamente durante il lavaggio ed ogni giorno in Europa ne vengono consumati circa 2 milioni di tonnellate. La possibilità di sversamento dei NM non è solo accessoria all'utilizzo di determinati prodotti. Difatti l'uso di NM quali nanoparticelle di ferro zerovalente, nanopolimeri e nanoparticelle di ossido di zinco per la bonifica di acque sotterranee o di suoli contaminati mediante iniezione diretta nel sottosuolo è già una realtà (*nanoremediation*). L'immissione di queste nanoparticelle può quindi causare contaminazione secondaria o altri effetti ambientali sugli organismi del suolo e dell'acqua e ad oggi gli studi sulla valutazione del rischio connesso sono ancora in fase preliminare. I compartimenti ambientali interessati alla contaminazione da NM sono strettamente correlati ai vari tipi di prodotti impiegati, anche se esiste un notevole grado di incertezza legato alla mancanza di dati precisi sui quantitativi contenuti in ciascun prodotto. La natura dell'esposizione di ogni comparto ambientale dipende da una serie di processi di trasporto e di trasformazione che avvengono nei sistemi di trattamento o direttamente in acqua, aria, suolo. In particolare il destino dei NM emessi direttamente in atmosfera è molto complesso.

Essi possono fungere da nuclei di aggregazione e risultare quindi inglobati in particelle di dimensioni maggiori o in aerosol, depositarsi nei bacini idrici e nel suolo fino a risospendersi sotto forma di aerosol. Tra le principali vie di ingresso dei NM in ambiente acquatico, si annoverano le emissioni dagli impianti di trattamento reflui, l'ingresso diretto attraverso la *nanoremediation*, l'utilizzo di prodotti chimici spray per l'agricoltura, la lisciviazione da suoli contaminati, la deposizione atmosferica e l'ingresso attraverso il sistema fognario. Una volta introdotte in ambiente acquatico, le nanoparticelle vanno incontro ad una serie di processi di aggregazione, sedimentazione, degradazione biologica e dissoluzione che modificano il loro destino.

### Concentrazione di NM in ambiente

Alcune delle difficoltà nella definizione delle concentrazioni di NM in ambiente sono dovute allo scarso numero di dati sulla presenza e sulla concentrazione dei NM nei

prodotti in commercio [5-6]. Inoltre le trasformazioni dei NM, come la dissoluzione, l'agglomerazione e la sedimentazione, possono modificare la distribuzione e l'estensione del rilascio ambientale.

Nonostante queste carenze, sono state fatte alcune stime approssimative delle concentrazioni ambientali previste (PEC) di alcuni NM, mediante dei modelli matematici per la valutazione del rischio, basate sulle attuali conoscenze delle trasformazioni e su alcuni approcci sperimentali per la definizione del destino ambientale.

Dall'osservazione della Tabella 2 e in particolare degli intervalli riportati per i singoli NM si evince che questi valori sono stati calcolati considerando talvolta le varie specie del materiale e talaltra considerando solo la specie predominante. Ciò mette in evidenza che la misura reale del rilascio ambientale necessita dello sviluppo di nuove metodiche e di avanzamenti tecnologici che permettano di avere a che fare da una parte con matrici complesse come quelle ambientali e dall'altra con materiali con caratteristiche primarie dinamiche, non statiche.

Argento	0,088 ng/l acqua superficiale 0,0164-17 µg/l effluente impianto depurazione 1,29-39 mg/kg fanghi impianto depurazione	[7,8,9,10] [9,10] [9,10]
Ossido titanio	21-10000 ng/l acqua superficiale 1-100 µg/l effluente impianto depurazione 100-2000 mg/kg fanghi impianto depurazione	[7,8,9,11,12,15] [9,13,14] [9,12,13]
Ossido di zinco	1-10000 ng/l acqua superficiale 0,22-1,42 µg/l effluente impianto depurazione 13,6-64,7 mg/kg fanghi impianto depurazione	[9] [9] [9]
NM a base di carbonio	0,001-0,8 ng/l acqua superficiale 3,69-32,66 ng/l effluente impianto depurazione 0,0093-0,147 mg/kg fanghi impianto depurazione	[7,9] [9] [9]

**TABELLA 2** Concentrazioni ambientali previste (PEC) di NM maggiormente utilizzati nei tre principali comparti ambientali



**FIGURA 3** Possibili trasformazioni di nanomateriali a livello ambientale

### Trasformazioni di nanomateriali in ambiente

Le nanoparticelle in seguito alla loro alta reattività vengono trasformate dal loro stato originale di sintesi indipendentemente dal tipo, dalla quantità o dal percorso di rilascio ambientale. Le trasformazioni sono il risultato di una miriade di processi chimico-fisici, incluso aggregazione/agglomerazione, reazioni redox, dissoluzione, scambi di gruppi funzionali e reazioni con biomolecole.

Queste trasformazioni modificano a loro volta il trasporto, il destino ambientale e la tossicità rendendo critico il comprendere e caratterizzare tale trasformazione. Ad esempio particelle metalliche di Ag, una volta rilasciate in ambiente, si ossideranno e diventeranno solforate. La solforazione cambia il loro stato di aggregazione, la chimica di superficie e cambia pertanto la loro capacità di rilascio di ioni Ag e la loro persistenza e tossicità [16,17]. Similmente l'interazione tra i NM e la sostanza organica naturale porta ad un rivestimento analogo alle proteine della corona dei sistemi dei mammiferi, che cambia completamente il loro stato di aggregazione, deposizione e la loro tossicità [18].

Risulta pertanto necessario per valutare il rischio ambientale connesso con l'utilizzo di tali NM allargare la nostra conoscenza e focalizzare gli studi sulle loro trasformazioni (Figura 3).

#### *Trasformazioni chimiche*

Riduzione e ossidazione sono processi accoppiati che avvengono in sistemi naturali e che prevedono il trasferimento di elettroni. Alcuni NM possono essere composti (es. metalli) o possono contenere costituenti che effettuano tali processi sia in ambiente acquatico che in ambiente terrestre. Le acque naturali ed i suoli areati sono ambienti prevalentemente ossidanti, mentre i sedimenti ricchi di carbonio e le acque sotterranee possono risultare fortemente riducenti. Negli ambienti di transizione è possibile anche incontrare NM con differenti stati di ossidazione.

Anche l'esposizione alla luce solare può catalizzare reazioni redox che possono condurre a sostanziali modificazioni del rivestimento, del loro stato di ossidazione e quindi della loro persistenza in ambiente acquatico.

Alcuni NM possono essere naturalmente fotoattivi e possono potenzialmente produrre Reactive Oxygen Species (ROS) quando

esposti alla luce solare. La dissoluzione e solforazione sono processi importanti che modificano la superficie dei NM soprattutto nel caso di elementi metallici come ad es. argento, zinco e rame.

Inoltre tali metalli risultano essere altamente reattivi con le biomolecole contenenti solfuri e con i solfuri contenuti nei sedimenti nel suolo e nell'aria. La formazione di un rivestimento relativamente insolubile di metallo e solfuro può indurre l'aggregazione e la precipitazione in matrici ambientali. Inoltre l'assorbimento di macromolecole organiche o inorganiche sulla superficie di NM può modificare sostanzialmente le caratteristiche chimiche della superficie e pertanto il comportamento in ambiente. Per esempio l'assorbimento di polimeri diminuisce la capacità di reazione di un NM con il silicio e quindi ne incrementa la mobilità nell'ambiente e magari ne riduce l'efficacia nell'utilizzo negli impianti di trattamento [19].

#### *Trasformazioni fisiche*

L'aggregazione di nanoparticelle riduce l'area di superficie e tale aggregazione modifica ovviamente il trasporto, la sedimentazione, la reattività e l'assorbimento. Di fatto in assenza di un agente che lo impedisca, tale processo risulta essere inevitabile. L'aggregazione può essere di due tipi: omo-aggregazione ed etero-aggregazione. La prima avviene tra particelle dello stesso materiale e la seconda invece avviene tra NM e altre particelle in ambiente. L'aggregazione può ridurre la superficie di NM disponibile riducendo, quando il meccanismo di tossicità presuppone una in-

terazione con la superficie come ad es. produzione di ROS e dissoluzione, la reattività e quindi la tossicità. D'altro canto la omo/etero aggregazione può ridurre la biodisponibilità per l'organismo, per esempio a causa della dimensione.

### Trasformazioni biologiche

Le trasformazioni biologiche sono inevitabili nei tessuti degli organismi viventi e nelle matrici ambientali quali i suoli. Le reazioni redox sono fondamentali per la crescita in tutti i sistemi biologici, hanno luogo sia nel citoplasma sia in sede extra cellulare attraverso le azioni degli enzimi e dei citocromi. Tali trasformazioni agiscono modificando principalmente la superficie dei NM e quindi la loro disponibilità. Un esempio di tale meccanismo di interazione è dato dal rivestimento di proteine, anche conosciuto come proteine della corona, che si viene a formare per molte classi di NM nei fluidi biologici [20,21]. La corona è spesso di natura dinamica anche se talvolta molte proteine ed altre molecole sono legati in modo irreversibile e quindi diventano parte integrante delle caratteristiche del NM stesso e conseguentemente del suo comportamento ambientale e della risposta biologica. Le proteine adsorbite possono anche offrire

una via d'ingresso per i NM nelle cellule attraverso i processi di endocitosi mediata da recettori.

Similmente ai sistemi biologici, una volta rilasciati in ambiente, i NM saranno soggetti ad interazioni con le biomolecole naturalmente presenti in ambiente come proteine, polisaccaridi e sostanza organica (SO). Le interazioni tra NM e SO producono degli aggregati con un comportamento difficile da predire. Talvolta è possibile che favoriscano l'agglomerazione e talvolta la de-agglomerazione. Il rivestimento di sostanza organica sulla superficie dei NM ne modifica quindi le caratteristiche chimiche e fisiche in dipendenza sia delle caratteristiche originarie del NM che delle caratteristiche della SO. In tutti i casi la SO ha l'effetto di mascherare a sua volta l'effetto del NM o mediante la creazione di un rivestimento o talvolta minimizzando la sua dissoluzione.

### Conclusione

I NM ingegnerizzati una volta rilasciati nei sistemi naturali sono soggetti ad un sistema - ambiente che può portare le particelle molto lontano dallo stato in cui sono state fabbricate, spesso verso dei materiali pressoché sconosciuti. Caratteriz-

zare e prevedere le trasformazioni ambientali risulta essere altamente problematico per molte ragioni.

Il tipo di trasformazione dipende dalle caratteristiche chimico-fisiche dell'ambiente in cui avvengono ed anche piccole variazioni possono portare a risultati completamente differenti. Inoltre le trasformazioni possono essere estremamente dinamiche, ma non facilmente reversibili, pertanto modificano sostanzialmente il destino ambientale dei NM. In aggiunta si possono avere varie trasformazioni contemporaneamente. Pertanto rispondere alla domanda su come si comporta un certo NM una volta rilasciato in ambiente richiede una conoscenza molto approfondita dell'ambiente, della matrice ambientale e del NM stesso. Esistono degli studi che tendono a semplificare e quindi a simulare ciò che potrebbe accadere in ambiente, tuttavia non abbiamo ancora a disposizione una strumentazione sufficientemente adeguata per la misura di certe caratteristiche dei NM soprattutto *in situ* o *in vivo* per quelle che sono o potrebbero diventare concentrazioni rilevanti da un punto di vista ambientale. ●

Sonia Manzo, Gabriella Rametta, Maria Lucia Miglietta, Girolamo Di Francia  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie Portici

- [1] <http://www.nanotechproject.org/inventories/>
- [2] A.E. Nel, L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, M. Thompson (2009), Understanding the biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nat. Mater.*, 8, 543–557
- [3] OECD, 2010, Current developments/activities on the safety of manufactured nanomaterials OECD environment, health and safety Publications Series on the Safety of manufactured nanomaterials No 26.EVV/JM/mono (2010)
- [4] NANOREG Project. EU Framework 7 Programme, contract no 310584. [www.nanoreg.eu](http://www.nanoreg.eu)
- [5] G.E. Batley, J.K. Kirby, M.J. McLaughlin (2013), Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments. *Acc. Chem. Res.*, 19, 46(3):854–62
- [6] F. Gottschalk, T. Sonderer, R.W. Scholz, B. Nowack (2010), Possibilities and limitations of modelling environmental exposure to engineered nanomaterials by probabilistic material flow analysis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 29, 1036–48
- [7] N. C. Mueller, B. Nowack, (2008), Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4447–4453
- [8] S.J. Klaine, P.J.J. Alvarez, G.E. Batley, T.F. Fernandes, et al. (2008), Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 27:1825–1851
- [9] F. Gottschalk, T. Sonderer, R.W. Scholz, B. Nowack (2009), Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>), ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.*, 43:9216–22
- [10] S.A. Blaser, M. Scheringer, M. Macleod, K. Hungerbühler (2008), Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Sci Total Environ.*, 15,390 (2-3):396–409
- [11] R. Arvidsson, S. Molander, BA Sanden, M. Hasselov (2011), Challenges in Exposure Modeling of Nanoparticles in Aquatic Environments. *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 17:245–262
- [12] A. Praetorius, M. Scheringer, K. Hungerbühler (2012), Development of environmental fate models for engineered nanoparticles—a case study of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in the Rhine River. *Environ. Sci. Technol.* 46(12):6705–13
- [13] MA Kiser, P Westerhoff, T Benn, Y Wang, J Pérez-Rivera, K Hristovski (2009), Titanium nanomaterial removal and release from wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.* 43(17):6757–63
- [14] P. Westerhoff, G. Song, K. Hristovski, A. Kiser, (2011), Occurrence and Removal of Titanium at Full Scale Wastewater Treatment Plants: Implications for TiO<sub>2</sub> Nanomaterials. *J. Environ. Monit.*, 13, 1195–1203
- [15] F. Gottschalk, B. Nowack, (2011), The release of engineered nanomaterials to the environment. *J. Environ. Monit.* 13: 1145–1155
- [16] G.V. Lowry, B.P. Espinasse, A.R. Badireddy, C.J. Richardson, B.C. Reinsch, L.D. Bryant, A.J. Bone, A. Deonarine, S. Chae, M. Therezien, B.P. Colman, H. Hsu-Kim, E.S. Bernhardt, C.W. Matson, M.R. Wiesner, (2012), Long-term transformation and fate of manufactured ag nanoparticles in a simulated large scale freshwater emergent wetland. *Environ. Sci. Technol.*, 46(13):7027–36
- [17] C. Levard, B. C. Reinsch, F. M. Michel, C. Oumahi, G. V. Lowry, G. E. Brown (2011), Sulfidation processes of PVP-coated silver nanoparticles in aqueous solution: Impact on dissolution rate. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 5260–5266
- [18] D. Li, D. Y. Lyon, Q. Li, P. J. J. Alvarez (2008). Effect of soil sorption and aquatic natural organic matter on the antibacterial activity of a fullerene water suspension. *Environ. Toxicol. Chem.*, 27, 1888–1894
- [19] T. Phenrat, N. Saleh, K. Sirk, R. D. Tilton, G. V. Lowry, (2007). Aggregation and sedimentation of aqueous nanoscale zerovalent iron dispersions. *Environ. Sci. Technol.*, 41, 284–290
- [20] T. Cedervall, I. Lynch, S. Lindman, T. Berggard, E. Thulin, H. Nilsson, K. A. Dawson, S. Linse (2007) Understanding the nanoparticle protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104:2050–2055
- [21] I. Lynch, K. A. Dawson, (2008). Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today*, 3 : 40–47

# La classificazione e l'etichettatura dei nanomateriali secondo il Regolamento 1272/2008 (CLP)

Dal punto di vista regolatorio per i nanomateriali potrebbero essere necessari parametri e requisiti di informazioni specifici in grado di descrivere le loro proprietà. Il Regolamento (CE) n. 1272/2008 (CLP) è strettamente legato al Regolamento (CE) n. 1907/2006 (REACH, acronimo per Registrazione, Valutazione, Autorizzazione e Restrizione delle sostanze chimiche), direttamente applicabile ai fornitori che producono, importano, usano o distribuiscono sostanze chimiche e miscele e che mira a garantire la libera circolazione di sostanze, miscele e articoli sempre nel rispetto di un elevato livello di protezione della salute umana e dell'ambiente. Il REACH e il CLP riguardano le sostanze, in qualsiasi dimensione, forma o stato fisico, ma non comprendono alcuna definizione specifica o disposizione relativamente ai nanomateriali.

Nel momento in cui una sostanza venga prodotta o introdotta sul mercato sotto forma di nanomateriale, il fascicolo di registrazione deve essere aggiornato includendo la diversa classificazione e l'etichettatura della sostanza in nanoforma

DOI 10.12910/EAI2015-033

■ M. Alessandrelli, P. Di Prospero Fanghella, M. L. Polci

## Introduzione

Le particolari proprietà che i materiali assumono quando sono in forma nano offrono opportunità tecnologiche uniche ma al tempo stesso rappresentano un nuovo ambito di grande e problematico impatto sui Regolamenti che si applicano alle sostanze chimiche [1].

Non esiste una normativa *ad hoc* per i nanomateriali, ma sia la legislazione orizzontale (sui prodotti chimici, a tutela dei lavoratori e la legislazione ambientale) sia quella specifica di settore (prodotti cosmetici, alimenti, biocidi, medicinali, dispositivi medici, apparecchiature elettriche) sono

applicate ai nanomateriali. Tuttavia, la Commissione Europea riconosce la necessità di modifiche normative sulla base di nuovi dati in questo settore altamente dinamico dal punto di vista tecnico e scientifico [2]. In linea di principio, si può dire che le stesse proprietà considerate fondamentali in alcune applicazioni, come la capacità di attraversare le barriere biologiche e di manifestare elevata reattività superficiale, sono anche proprietà intrinsecamente pericolose che possono dar luogo a tossicità e rappresentare un rischio [3].

Le proprietà chimico-fisiche dei nanomateriali sono determinate dalla composizione chimica, dalla superficie, dalla struttura, dall'aumento di reattività superficiale in rapporto al volume, dalla solubilità, dallo stato di aggregazione.

Non tutti i nanomateriali sono pericolosi, le influenze delle proprietà chi-

mico-fisiche sul profilo tossicologico ed ecotossicologico non sono state ancora pienamente chiarite ma senza ombra di dubbio essi devono essere regolamentati come tutte le altre sostanze chimiche.

Il regolamento CLP (CE 1272/2008) [4], al pari del regolamento REACH (CE 1907/2006) [5], non riporta espliciti riferimenti ai nanomateriali, ma si applica a tutte le sostanze chimiche in qualsiasi dimensione, forma e stato fisico, quindi anche ai nanomateriali.

## Regolamento CLP e nanomateriali

Il Regolamento 1272/2008 (CLP), entrato in vigore il 20 gennaio 2009, è il nuovo sistema di armonizzazione della classificazione, etichettatura ed imballaggio delle sostanze e delle miscele. Riprende i criteri di classificazione

Contact person: Maria Letizia Polci  
letizia.polci@gmail.com



ed etichettatura, i simboli e le avvertenze concordati nel GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals) [6], pur mantenendo una continuità con la precedente normativa europea.

Fin dal 1992, durante la Conferenza ONU su ambiente e sviluppo tenutasi a Rio de Janeiro, si identificarono le principali aree sulle quali indirizzare gli sforzi nazionali ed internazionali per una migliore gestione ambientale delle sostanze chimiche. Tra queste particolare rilevanza è stata attribuita al GHS che ha assicurato sia l'armonizzazione globale delle regole di classificazione ed etichettatura sia la coerenza di tali regole con quelle per il trasporto. In ottemperanza al regolamento CLP, i nanomateriali devono essere classificati ed etichettati conformemente ai criteri che ne soddisfano la classificazione di pericolo.

Il regolamento CLP obbliga fabbricanti, importatori e utilizzatori a valle a classificare le sostanze e le miscele immesse sul mercato. Tale regolamento prevede espressamente di considerare le forme o gli stati fisici in cui la sostanza o miscela è immessa sul mercato e in cui si può ragionevolmente prevedere che sarà utilizzata (Art 9(5) del CLP). Lo scopo del CLP è di determinare se una sostanza (o una miscela) presenta proprietà che permettano di classificarla come pericolosa. Il regolamento stabilisce inoltre le norme generali relative all'etichettatura e all'imballaggio per l'immissione in commercio ai fini della sicurezza d'uso delle sostanze e delle miscele pericolose.

I nanomateriali, in ragione delle loro specifiche caratteristiche, potrebbero richiedere una classificazione ed etichettatura differenti dalla forma "bulk" [7]. Per le sostanze prodotte/

importate, sia in nanoscala che in forma bulk, sono richieste classificazione ed etichettatura diversificate quando i dati disponibili sulle proprietà intrinseche indicano che esistono differenze nella classe di pericolo. L'identificazione e la caratterizzazione delle proprietà fisiche e chimiche è di fondamentale importanza per la valutazione del pericolo [8].

La pericolosità dipende dalle proprietà intrinseche della sostanza (o miscela) e nel caso dei nanomateriali il pericolo è legato alle dimensioni, alla forma, alla carica superficiale, alle modifiche della superficie e dello stato di aggregazione, all'elevata solubilità, all'insolubilità e alla dosimetria. È ampiamente dibattuta la necessità di fornire informazioni supportate scientificamente per chiarire quando il termine "sostanza in nanoscala" in ambito CLP (e REACH) è usato per descrivere sostanze che esistono soltanto in nanoscala e nanoforme di sostanze che esistono anche in forma bulk. All'interno di un fascicolo di registrazione REACH, in base all'articolo 10 del regolamento n. 1907/2006, devono essere riportate la classificazione e l'etichettatura della sostanza oggetto del dossier. Nell'ottica di un'adeguata identificazione, classificazione ed etichettatura di una sostanza in forma nano è necessario riportare dimensioni, forme e morfologie accompagnate da tutti gli usi identificati. È fondamentale, altresì, esaminare e riportare nel dossier tutte le informazioni scientifiche disponibili per rendere evidenti i cambiamenti nelle proprietà intrinseche che influenzano la pericolosità del nanomateriale. Inoltre, per una accurata messa a punto di tale documento si considera imprescindibile dedicare

particolare attenzione alle informazioni sulla preparazione del campione e sulla dosimetria.

Va sottolineato che il CLP si applica alla produzione e all'uso di sostanze chimiche e miscele, senza limiti di quantità prodotte o importate per anno e questo aspetto ne rimarca una delle differenze e complementarietà più forti con il Regolamento REACH: mentre il REACH contempla una registrazione legata ai quantitativi regolata da una tempistica di registrazione, il CLP prevede che, indipendentemente dal tonnellaggio di fabbricazione o di importazione delle sostanze, il fabbricante o l'importatore notifichi all'Inventario delle classificazioni e delle etichettature, presso l'Agenzia Chimica Europea (ECHA), le informazioni relative alla classificazione ed etichettatura dei nanomateriali che intende immettere sul mercato. Le notifiche CLP per i nanomateriali concorrono, insieme alle registrazioni REACH, a delineare una panoramica dei pericoli e delle categorie d'uso dei nanomateriali prodotti ed importati. Questa tracciabilità è essenziale per le Autorità competenti al fine di monitorare le possibili vie di esposizione ai nanomateriali. I database di registrazione REACH e di notifica CLP presso l'ECHA sono stati sottoposti a screening per individuare le registrazioni e le notifiche che includono informazioni sui nanomateriali. L'analisi di tali informazioni ha portato a raccogliere dati su proprietà (dimensioni, forma, struttura cristallina, reattività superficiale, morfologia ecc.) legate ad una specifica modalità di azione o via di esposizione (ad esempio inalatoria) in associazione ad un caratteristico nanomateriale (metallo, ossido di metallo, nanotubi di carbonio ecc.) rilevante per la salute e/o l'ambiente umano.

## Dossier di registrazioni REACH e classificazione: problematiche

La DG Environment (DG ENV) ed il Joint Research Centre (JRC) della Commissione Europea hanno condotto un'indagine sui dossier di registrazione che includono riferimenti alla forma nano delle sostanze per valutare l'adeguatezza delle informazioni fornendo anche una panoramica delle classificazioni presenti. [9]

Soltanto uno dei fascicoli esaminati riporta la classificazione ed etichettatura (C&L) armonizzate, mentre per i restanti dossier i dichiaranti hanno applicato, in base ai criteri CLP, il principio dell'autoclassificazione. Le proposte di autoclassificazione portano a conclusioni diverse (nel caso, ad esempio di studi fatti su animali, in merito a meccanismi tumorali considerati rilevanti per l'uomo). La maggior parte dei dati inclusi nella *nano-picklist* della sezione 2.1 dello IUCLID [10] risulta mancante o "conclusiva ma non sufficiente per la classificazione". Ulteriore problema riscontrato è la carenza dell'informazione: qualora siano presenti riferimenti alla C&L non sono scientificamente giustificate le differenze nella classificazione della forma nano rispetto alla forma in bulk della stessa sostanza.

Come ribadito nel report finale del RIP-ON 2 [11], una modifica delle proprietà chimico-fisiche può influire sulle proprietà intrinseche della sostanza. Quindi tale informazione, costituendo la base per la classificazione e l'etichettatura, dovrebbe riferirsi "alla forma o agli stati fisici in cui la sostanza è immessa sul mercato e in cui si si può ragionevolmente pen-

sare dovrebbe essere usata". Quando le informazioni sono disponibili solo per la sostanza in forma bulk si deve attentamente valutare se tali informazioni risultino applicabili anche ai nanomateriali [12]

Dall'esame di un dossier di registrazione si possono ottenere informazioni specifiche sui nanomateriali ma per classificarli ed etichettarli autonomamente rispetto alla corrispondente forma in bulk occorre che l'informazione sulle proprietà intrinseche sia supportata scientificamente.

I criteri di classificazione ed etichettatura dovrebbero tenere conto dell'adeguatezza dei parametri classici per materiali innovativi come i nanomateriali. Eventuali proposte di modificare il regolamento CLP dovrebbero tenere conto sia del fatto che la classificazione e l'etichettatura hanno ricadute su molte altre legislazioni a valle, sia del fatto che in ambito REACH sono estremamente importanti in relazione alla valutazione dell'esposizione e alla caratterizzazione del rischio.

## Stato dell'arte in ambito GHS

A partire dalla metà del 2012, il Sotto-Comitato di esperti del sistema di armonizzazione globale della classificazione ed etichettatura (GHS) ha aperto un tavolo di discussione sui nanomateriali visti attraverso l'ottica GHS rilevando la mancanza di un approccio armonizzato. La maggioranza degli esperti che fanno parte del Sotto-Comitato ritiene che le classi e le categorie di pericolo già presenti nel GHS siano adeguate per coprire anche i nanomateriali senza sviluppare una specifica classificazione di pericolo o una linea guida mirata. Si

è convenuto che le peculiarità dei nanomateriali (caratteristiche delle particelle, dimensione, area superficiale specifica) potrebbero essere riportate nella Scheda di Sicurezza.

Come primo passo, il Sotto-Comitato ha deliberato di richiedere alle industrie di settore di identificare i prodotti contenenti nanomateriali: la generale mancanza di informazioni e di controllo sulla loro produzione e la distribuzione è fonte di preoccupazione specialmente per i Paesi in via di sviluppo. Ricordando che in Europa è adottata la raccomandazione della Commissione Europea sulla definizione di nanomateriale [13], non si è ravvisata, in ambito GHS, la necessità di introdurre una definizione di "nanomateriale", pur notando che il quadro delle definizioni esistenti, sviluppate a livello internazionale, prevede un utilizzo non uniforme di intervalli dimensionali.

Tenendo conto dei rilievi fatti durante la prime discussioni, è stato individuato un gruppo di lavoro informale (Informal Correspondance Group\_ ICG) che ha iniziato ad operare stabilendo i «terms of reference» [14] per analizzare le modalità di azione con le quali il GHS può affrontare i nanomateriali. Uno dei punti principali sui quali l'ICG sta lavorando è promuovere la richiesta di informazioni, anche tramite questionari a livello nazionale, verso le industrie che applicano nanotecnologie per la produzione di nuovi materiali.

Pioché il Sotto-Comitato GHS è al momento l'unica organizzazione in ambito mondiale che sta affrontando i nanomateriali dal punto di vista della classificazione, il gruppo di lavoro ha individuato alcune tematiche

che saranno approfondite nel corso del programma previsto per gli anni a seguire: ogni classe di pericolo/endpoint deve essere considerata separatamente; una stessa sostanza può mostrare nuove o modificate proprietà che non sempre sono legate ad una granulometria diversa ma al peso delle natura chimico-fisica della sostanza. Poiché i criteri di classificazione nel caso dei nanomateriali differiscono caso per caso e i limiti di concentrazione riportati nel GHS potrebbero essere non appropriati, si ritiene che un punto di partenza concreto potrebbe essere la raccolta di dati dove c'è già una ragionevole quantità di informazioni (ad esempio  $\text{TiO}_2$  e Ag) per approfondire la conoscenza su come le diverse proprietà influenzino la classificazione, il ruolo del coating e della metrologia, i parametri legati alla tossicità umana ed acquatica e per valutare come l'insieme delle diverse proprietà influenzino la classificazione delle miscele.

## Conclusioni

L'impiego di nanomateriali offre soluzioni tecnologiche in continua ascesa dinamica e di grande interesse applicativo ma al tempo stesso solleva una preoccupazione oggettiva nei legislatori chiamati a regolamentare dal punto di vista normativo i rischi nanospecifici derivanti dal loro uso. Accertata l'inadeguatezza delle informazioni disponibili per la valutazione del pericolo e l'assenza di regole sistematiche per la classificazione tossicologica, sulla base delle attuali conoscenze e degli studi effettuati i nanomateriali devono essere classificati ed etichettati caso per caso, tenendo conto sia di tutti i dati rilevanti a disposizione (anche sulla forma bulk ed eventuali read-across con altri nanomateriali) sia del ricorso all'*expert judgement*.

Nel quadro della valutazione del pericolo e dell'esposizione, si auspica l'introduzione di identificatori principali per registrare l'identità della so-

stanza in modo inequivocabile e far sì che le notifiche CLP possano assicurare, tramite i dati forniti sui pericoli e sulle categorie d'uso, maggiori informazioni sui potenziali effetti legati alla salute umana e all'ambiente.

L'auspicata implementazione delle linee guida CLP dovrà essere orientata a coprire i nanomateriali in modo più specifico. Infine, i lavori del gruppo informale nell'ambito del Comitato per il sistema di armonizzazione globale della classificazione ed etichettatura dovranno valutare come i criteri di classificazione ed i parametri da riportare in etichetta potranno essere adeguati ai nanomateriali individuando se e in che forma incorporarli nel sistema GHS e quali sono le possibili azioni da implementare relativamente alla comunicazione del pericolo all'interno della catena di approvvigionamento.

Maria Alessandrelli\*, Paola Di Prospero Fanghella\*,  
 Maria Letizia Polci\*\*  
 \* Istituto Superiore di Sanità,  
 Centro Nazionale Sostanze Chimiche  
 \*\* Ministero della Salute,  
 Dipartimento Sanità Pubblica e Prevenzione

## bibliografia

- [1] Commission Staff Working Paper Types and uses of nanomaterials, including safety aspects COM (2012) 572 final
- [2] European Parliament resolution of 24 April 2009 on regulatory aspects of nanomaterials (2008/2208(INI))
- [3] Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). Risk Assessment of Products of Nanotechnologies 19 January 2009 [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihhr/docs/scenihhr\\_o\\_023.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_023.pdf)
- [4] European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EC) No. 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No. 1907/2006. Official J European Union L 353, 31/12/2008
- [5] European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No. 793/93 and Commission Regulation (EC) No. 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC
- [6] Globally Harmonized System of classification and labelling of Chemicals (GHS); Fifth revised edition, United Nations.
- [7] European Commission. Classification, labelling and packaging of nanomaterials in REACH and CLP. Brussels: Environment DG, Enterprise and Industry; 2009. (Doc. CA/90/2009 Rev2) [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/reach/nanos\\_in\\_reach\\_and\\_clp\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/reach/nanos_in_reach_and_clp_en.pdf)
- [8] M. Alessandrelli, M.L. Polci "CLP application to nanomaterials: a specific aspect", Ann Ist Super Sanità 2011, Vol. 47, No. 2: 146-152
- [9] "Scientific technical support on assessment of nanomaterials in REACH registration dossiers and adequacy of available information." AA N°07.0307/2010/581080/AA/D3 between DG Environment (DG ENV) and the Joint Research Centre (JRC)
- [10] IUCLID 5 Release notes <http://iucldid.eu/index.php?fuseaction=home.documentation>
- [11] RIP-On2 Final Report, RNC/RIP-oN2/FPR/1/FINAL 01 July 2011, [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/report\\_ripon2.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/pdf/report_ripon2.pdf)
- [12] Best practice on physicochemical and substance identity information for nanomaterials - Report from first GAARN meeting [http://echa.europa.eu/documents/10162/5399565/best\\_practices\\_physiochem\\_subst\\_id\\_nano\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/5399565/best_practices_physiochem_subst_id_nano_en.pdf)
- [13] Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial, 2011/696/EU, OJ European Union L 275/38, 20/10/2011
- [14] "Terms of reference for the correspondence group on Nanomaterials" Sub-Committee of Experts on the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals 5 December 2013, Twenty-sixth session Geneva, 4-6 December 2013 UN/SCEGHS/26/INF.29

# Il Regolamento REACH e i nanomateriali: stato dell'arte

Nuove sfide per i regolatori stanno emergendo circa una valutazione specifica ed una adeguata gestione dei potenziali rischi dei nanomateriali. Nel quadro della legislazione europea per i prodotti chimici, il Regolamento (EC) n. 1907/2006 REACH ha lo scopo di assicurare la sicurezza della salute umana e dell'ambiente mediante la raccolta di informazioni sulle caratteristiche fisico-chimiche delle sostanze e sul loro profilo (eco)tossicologico e l'individuazione di una adeguata gestione del rischio collegata all'esposizione alle sostanze stesse senza ostacolare il progresso scientifico e la competitività dell'industria.

Allo scopo di coprire l'attuale carenza di informazioni sulla sicurezza dei nanomateriali ed affrontare il riconosciuto vuoto normativo, sono in corso una ricca attività, condotta sia dai regolatori sia dagli stakeholder, e discussioni sulle proposte per adattare il quadro normativo europeo per i prodotti chimici. La Commissione Europea è orientata a rafforzare il Regolamento REACH per mezzo di aggiornamenti dei suoi allegati. L'importanza di rispondere alle richieste regolatorie ha evidenziato la necessità di una cooperazione tra organismi europei, scienziati e industrie per promuovere ed assicurare l'uso sicuro dei nanomateriali

DOI 10.12910/EAI2015-034

■ M. Alessandrelli, S. Castelli, P. Di Prospero Fanghella, M. L. Polci, F. Pettirossi

## Introduzione

Nel contesto della legislazione europea sui prodotti chimici, il regolamento (CE) n. 1907/2006 REACH [1] riguarda le sostanze in qualunque forma, dimensione e stato fisico; la definizione di sostanza di cui all'articolo 3(1) del REACH tiene conto dello stato fisico, della struttura cristallina e delle dimensioni delle particelle di cui essa è costituita.

I nanomateriali rientrano nel campo di applicazione del regolamento [2] ma nel suo testo non è inclusa una definizione di nanomateriale né è contenuto uno specifico riferimento che rimandi all'applicazione delle

disposizioni alle sostanze in forma nanometrica. L'attuale vasta portata dell'innovazione nel settore delle nanotecnologie e la conseguente crescita del mercato dei nanomateriali e delle loro applicazioni sono in netto contrasto con le conoscenze circa i possibili rischi connessi alle proprietà intrinseche che queste forme manifestano. I legislatori si trovano quindi a dover affrontare la difficile gestione dei nanomateriali, che non può prescindere da un'attenta valutazione dello stato dell'arte delle conoscenze scientifiche e dalla considerazione dell'impatto di misure legislative sull'innovazione e sulla crescita economica. È in corso un complesso processo decisionale per adeguare la regolamentazione vigente che in modo trasversale abbraccia la gestione del rischio dei prodotti chimici, tenendo conto delle problematiche,

spesso ancora irrisolte, relative alle peculiari caratteristiche dei nanomateriali e all'esposizione dell'uomo e dell'ambiente agli stessi. In questo processo si inserisce l'adozione di una raccomandazione della Commissione Europea sulla definizione di nanomateriale, con la quale si chiede agli Stati membri, alle agenzie dell'Unione e agli operatori economici di usare la proposta definizione del termine «nanomateriale» nell'adozione e nell'applicazione della legislazione e dei programmi strategici e di ricerca relativi ai prodotti derivanti dalle nanotecnologie [3].

## I nanomateriali e il regolamento REACH

Il regolamento REACH fornisce un quadro legislativo trasversale ap-

Contact person: Stefano Castelli  
stefano.castelli@enea.it



plicabile alla fabbricazione, all'immissione sul mercato e all'uso di sostanze in quanto tali, contenute in miscele o in articoli. Il REACH si basa sul principio che ai fabbricanti, agli importatori e agli utilizzatori a valle spetta l'obbligo di fabbricare, immettere sul mercato o utilizzare sostanze che non arrechino danno alla salute umana o all'ambiente. Questo principio si riferisce a tutte le forme di una sostanza chimica.

Ai fini della registrazione delle nanoforme ai sensi del titolo II del REACH è opportuno precisare che:

- le soglie di tonnellaggio per la registrazione si applicano al volume totale della sostanza. Nel caso di sostanze fabbricate o importate sia in forma convenzionale che in nanoforma, è il volume totale che determina la tempistica per la registrazione e le informazioni da fornire nel dossier di registrazione;
- quando una sostanza chimica già commercializzata in forma convenzionale è immessa sul mercato anche in nanoforma, il fascicolo di registrazione deve essere aggiornato per includere le caratteristiche specifiche del nanomateriale, comprese l'eventuale diversa classificazione ed etichettatura e le misure aggiuntive di gestione dei rischi;
- i criteri per definire se una sostanza in nanoforma è una sostanza nuova o esistente (inclusa o meno nell'inventario europeo delle sostanze chimiche esistenti, EINECS), status che determina la possibilità di beneficiare o meno del regime transitorio per la registrazione ai sensi del REACH, sono gli stessi impiegati

per le sostanze in forma convenzionale;

- quando la stessa sostanza esiste sia in nanoforma che in forma convenzionale, devono essere incluse nel dossier le informazioni disponibili relative: alla caratterizzazione chimico-fisica delle nanoforme; alla diversa classificazione ed etichettatura; alla differente valutazione della sicurezza chimica nonché a tutti gli usi identificati e ai relativi scenari di esposizione per la nanoforma;
- i test di cui agli allegati VII-X del REACH, concepiti per le sostanze in bulk, spesso non sono applicabili alle sostanze in nanoscala.

Ai fini della comunicazione del pericolo all'interno della catena di approvvigionamento, le disposizioni di cui al titolo IV del REACH si applicano in linea di principio anche alle nanoforme di una sostanza. Ad esempio, per una sostanza in nanoforma per la cui forma convenzionale è richiesta una scheda dati di sicurezza (SDS) ai sensi dell'art. 31 del REACH, la SDS stessa dovrebbe contenere, chiaramente riconoscibili, tutte le informazioni rilevanti sulla nanoforma, come le proprietà chimico-fisiche, le informazioni (eco) tossicologiche ed eventuali misure di gestione del rischio se specifiche per la manipolazione delle nanoforme.

Tuttavia le incertezze ancora presenti in merito ai rischi per la salute e per l'ambiente legati ai nanomateriali, unitamente alle difficoltà tecniche per caratterizzare i nanomateriali e valutare il rischio utilizzando test concepiti per le sostanze

in forme convenzionali, non facilitano l'applicazione del regolamento REACH ai nanomateriali.

Dalla sua entrata in vigore ad oggi l'implementazione del REACH ha mostrato che i rischi potenziali associati alla produzione e all'uso delle sostanze in nanoscala non sono correttamente considerati dagli strumenti esistenti. Da uno screening condotto nel 2012 dalla Commissione, in stretta collaborazione con l'ECHA, è emerso che il termine "nanomateriale" è stato selezionato come forma della sostanza nei campi facoltativi di 7 registrazioni di sostanze. Come evidenziato in dettaglio nel paragrafo sul Progetto Nano Support, l'indicazione nanomateriale avrebbe dovuto essere presente in almeno 20 dossier. Numerose registrazioni concernenti sostanze per le quali è nota l'esistenza di una forma nanometrica non indicano chiaramente quali forme sono coperte o in che misura i dati forniti si riferiscono alla nanoforma. Queste constatazioni possono in parte spiegarsi con la mancanza di disposizioni specifiche nel regolamento e relativi orientamenti nelle linee guida dell'ECHA redatte a supporto dei registranti.

## Azioni in ambito europeo

*I REACH implementation projects e la revisione delle linee guida dell'ECHA*

Nel 2009 la Commissione, con il supporto di esperti afferenti agli Stati Membri e a stakeholders accreditati, ha condotto tre progetti di implementazione del REACH sui nanomateriali (REACH implementation

Projects on nanomaterials –RIPoN) con lo scopo di valutare l'applicabilità alle sostanze in nanoforma delle linee guida dell'ECHA esistenti, in particolare in merito all'identificazione della sostanza (RIPoN1), agli obblighi di informazione (RIPoN2) e alla valutazione della sicurezza chimica (RIPoN3).

L'ECHA ha implementato le raccomandazioni fornite attraverso i RIPoN2 e 3 negli aggiornamenti alla linea guida sugli obblighi di informazione (IR) e sulla valutazione della sicurezza chimica (CSA) con la pubblicazione nel 2012 di sei nuove appendici per i nanomateriali di seguito riportate [4].

Nell'appendice al capitolo R.7a-Raccomandazioni per proprietà chimico-fisiche ed endpoint tossicologici, vengono forniti i seguenti chiarimenti e suggerimenti:

- sulla preparazione del campione, considerato uno degli step più critici per una corretta caratterizzazione dei nanomateriali e per la conseguente sperimentazione (eco)tossicologica. Problemi comuni riguardanti la preparazione del campione comprendono la conservazione e la stabilità del materiale di prova, la composizione chimica dei mezzi di prova, la caratterizzazione di dispersioni in stock e la caratterizzazione di campioni preparati da dispersioni in stock prima di effettuare i test richiesti a scopo di registrazione;
- sulla caratterizzazione dei nanomateriali, per la quale si conclude che nessuna singola tecnica è adeguata di per sé ed è pertanto consigliato un approccio a matrice;

- su specifici endpoint chimico-fisici quali solubilità in acqua, coefficiente di ripartizione n-octanolo/acqua e granulometria: si consiglia di considerare per la determinazione della granulometria non solo la distribuzione dimensionale delle particelle, ma anche la forma e la superficie;
- su specifici endpoint tossicologici come sensibilizzazione cutanea e respiratoria, tossicità acuta, tossicità a dose ripetuta, tossicità riproduttiva e dello sviluppo e mutagenicità e carcinogenicità sono forniti elementi per evidenziare le problematiche dei test utilizzati per le sostanze in forma convenzionale che potrebbero influenzare i risultati degli studi condotti sulle nanoforme e che vanno quindi opportunamente valutati caso per caso quando si valutano nanomateriali ai fini della registrazione REACH. Fattori quali metodi per determinare l'esposizione, selezione della dose, specie usate e tipologie cellulari, hanno un elevato potenziale di influenzare i risultati dei test condotti su nanomateriali che impattano sul profilo tossicologico degli stessi.

Nell'appendice al capitolo R.7b-Endpoint specific guidance sono contenute raccomandazioni per specifici endpoints ecotossicologici quali aquatic pelagic toxicity, toxicity for sediments organisms, degradation/biodegradation.

Nell'appendice al capitolo R.7c-Endpoint specific guidance si riportano raccomandazioni per specifici endpoints ecotossicologici quali aquatic bioaccumulation ed effects on terrestrial organisms.

L'appendice ai capitoli R8-15 contiene raccomandazioni sulla caratterizzazione della dose/concentrazione-risposta per salute umana. La guida fornisce *advice* per la generazione di livelli derivati di non-effetto (DNEL) o di livelli derivati di minimo effetto (DMEL) per la salute umana basati sulla integrazione di tutti i dati disponibili sui pericoli associati ai nanomateriali. Si consiglia di considerare metriche quali la concentrazione dell'area di superficie ( $\text{cm}^2/\text{m}^3$ ) e la concentrazione numerica ( $\text{numero}/\text{m}^3$ ) quando si deriva il DNEL/DMEL per un nanomateriale.

Nell'appendice al capitolo R10 si riportano raccomandazioni sulla caratterizzazione della dose/concentrazione-risposta per l'ambiente ed infine nell'appendice al capitolo R14 si affrontano alcuni problemi riscontrati nella valutazione dell'esposizione occupazionale. La misurazione dell'esposizione ai nanomateriali presenta numerose criticità, tra cui la discriminazione dalle particelle presenti nell'ambiente (rumore di fondo), la raccolta e l'analisi dei dati sulla dimensione, la scelta delle metriche e degli strumenti di misurazione e la misura dell'elevato *aspect ratio* dei nanomateriali. L'appendice in parola fornisce raccomandazioni su tutti questi aspetti decisivi per un'accurata valutazione dell'esposizione occupazionale dei nanomateriali.

Alla conclusione dei lavori del RIPoN 1, il cui obiettivo era lo sviluppo di un'opinione tecnico/scientifica sulla identificazione dei nanomateriali, non è seguito l'aggiornamento della relativa "guida all'identifi-

cazione e alla denominazione delle sostanze secondo REACH e CLP” a causa della divergenza di opinioni tra gli esperti coinvolti nel progetto. Pertanto il report finale del RIPON 1 si limita a riportare le descrizioni delle varie opzioni proposte per la identificazione dei nanomateriali nel REACH. Una delle questioni più discusse ha riguardato la caratteristica dimensionale (size) dei nanomateriali. Secondo alcuni esperti la dimensione influenza le proprietà chimico-fisiche e le altre proprietà di un nanomateriale, pertanto deve essere considerata un identificatore, vale a dire prevedere per ciascuna nanoforma un dossier di registrazione a parte. Per altri esperti invece, la *same-ness* si basa solo sull'identità molecolare e non su proprietà fisiche come la dimensione, che pertanto deve essere considerata come caratterizzatore. Anche il trattamento superficiale è stato proposto come identificatore in considerazione della sua capacità di influenzare le proprietà di un nanomateriale in misura maggiore che nelle forme convenzionali e può essere rilevante per l'identificazione dei nanomateriali.

Numerosi altri parametri (proprietà chimico-fisiche, proprietà geometriche) sono stati discussi e quelli che hanno avuto un maggior consenso tra gli esperti come probabili identificatori sono stati l'area superficiale specifica (SSA) e l'*aspect ratio*.

Tuttavia, le discussioni tra i vari esperti dell'ECHA, degli Stati membri e degli *stakeholder* intervenuti nel progetto hanno rivelato che alcuni aspetti in merito all'identifica-

zione dei nanomateriali non possono essere risolti solo sulla base di argomentazioni tecnico/scientifiche, ma sono necessarie anche decisioni politiche.

#### *Il GAARN e gli ECHA best practice documents*

Il gruppo informale GAARN (Group of already assessed registered nanomaterials) è stato istituito nel 2012 dalla DG Ambiente della Commissione Europea e presieduto dall'ECHA, con il mandato di confrontarsi e raggiungere un consenso sulle migliori prassi per la valutazione e la gestione della sicurezza dei nanomateriali ai sensi del REACH, accrescendo così la fiducia e la comprensione reciproca tra le parti interessate.

Il GAARN, costituito da diversi esperti degli Stati membri, della Commissione Europea, dell'ECHA, dell'industria e da tre registranti capofila di sostanze in nanoforma, ha lavorato su tre dossier selezionati che includono nanoforme allo scopo di identificare le migliori prassi per la registrazione dei nanomateriali ai fini del REACH e formulare raccomandazioni sul modo di colmare eventuali lacune in materia di informazioni.

Il GAARN si è riunito tre volte dal 2012 al 2013 per discutere di problematiche relative alla caratterizzazione chimico-fisica dei nanomateriali, analizzare le criticità in merito all'identificazione dei pericoli per la salute umana e per l'ambiente dei nanomateriali, e in merito all'esposizione e alla caratterizzazione del rischio delle sostanze in nanoforma. Il risultato di queste sessioni è stata la stesura, da parte

dell'ECHA, di tre documenti di orientamento a supporto dei dichiaranti di nanomateriali (Best practices on physicochemical and substance identity information for nanomaterials; Assessing human health and environmental hazards of nanomaterials-Best practice for REACH Registrants; Human health and environmental exposure assessment and risk characterisation of nanomaterials Best practice for REACH registrants) pubblicati sul sito web dell'ECHA <http://echa.europa.eu/it/regulations/nanomaterials>.

#### *La seconda regulatory review*

Il 3 ottobre 2012 la Commissione ha pubblicato una comunicazione recante il “Secondo esame regolamentare relativo ai nanomateriali” [5]. Obiettivo di questo atto è riesaminare la vigente legislazione europea e valutarne l'adeguatezza per la gestione dei nanomateriali, nell'ottica di individuare le rilevanti azioni da porre in essere per garantire che questi materiali siano utilizzati in condizioni di sicurezza.

In generale, la Commissione rimane convinta che il regolamento REACH offra il miglior quadro possibile per la gestione dei potenziali rischi connessi all'esposizione dell'uomo e dell'ambiente ai nanomateriali. Si ritiene che la registrazione ai fini REACH e la prova dell'uso sicuro per i nanomateriali debbano essere basate su un approccio caso per caso per le nanoforme da includere nel dossier di registrazione. Dal momento che solo informazioni molto limitate sono state fornite all'ECHA fino al dicembre 2010, la Commissione prevede di modificare alcuni degli allegati del regolamento

REACH per assicurare che i nanomateriali siano registrati in modo adeguato, e invita l'ECHA a elaborare nuovi orientamenti per le registrazioni dopo il 2013.

#### *Il progetto Nano Support*

Il progetto Nano Support ha avuto come obiettivi quello di analizzare e valutare alcuni dossier di registrazione REACH di nanomateriali e di suggerire possibili opzioni di adeguamento del Regolamento per questa classe di sostanze.

Il rapporto finale del progetto (marzo 2012) è diviso in tre grandi capitoli:

1. Identificazione della sostanza, proprietà chimico-fisiche, usi
2. Salute umana ed endpoint ambientali
3. Valutazione dell'esposizione e caratterizzazione del rischio.

Si deve sottolineare che lo scopo del progetto non era quello di valutare la conformità dei dossier ed i risultati riportati non menzionano dossier individuali o nomi di sostanze.

Sono stati esaminati 45 dossier. Di questi 20 sono stati esaminati solo parzialmente in quanto dalle informazioni presenti non era possibile stabilire con sicurezza se si trattasse effettivamente di nanomateriali o nanoforme. Gli altri 25 comprendevano nanoforme di sostanze esistenti anche come bulk (8), sostanze esistenti solo come nanomateriali (12), sostanze con percentuali di particelle 1-100 nm che non rientrano nella definizione di nanomateriale (5).

Per quanto riguarda il punto 1 (identificazione), è stato evidenziato che lo scopo del dossier di registrazione deve essere dichiarato esplicitamente. Nessuna ambiguità deve essere permessa sul fatto che

si stia registrando una nano forma. Anche se IUCLID possiede dei campi in cui dichiarare questo (sezioni 2.1 e 4.1), nessun obbligo esiste per i registri di riempirli. Inoltre i campi esistenti non permettono un'appropriata caratterizzazione del nanomateriale. Ogni volta che una registrazione copre diverse forme della sostanza (bulk e nano) ogni forma dovrebbe essere riportata separatamente nella sezione di composizione 1.2 e i dati analitici essere inclusi nella sezione 1.4. Inoltre il registrante dovrebbe dare informazioni sulla stabilità di ogni aggregato/agglomerato sotto ragionevoli condizioni di uso.

Altra informazione mancante nei dossier è il trattamento e la funzionalizzazione delle superfici. Si tratta di grandezze che derivano dal processo di fabbricazione per cui ogni registrante dovrebbe darle separatamente.

Ci sono grandezze come la solubilità in acqua e l'infiammabilità che dipendono dalla dimensione delle particelle. Sono grandezze che per una nanoforma sono più alte che per la forma bulk. Il registrante dovrebbe realizzare diversi test per le diverse forme. La via inalatoria è generalmente molto importante per la stima del rischio dei nanomateriali. La polverosità di una nanoforma influenza grandemente la sua capacità di volatilità. Per questo la polverosità deve essere sempre riportata.

Per quanto riguarda il punto 2 (salute umana, endpoint ambientali), sono stati proposti 4 test per la salute umana e nessuno per il destino ambientale. Va evidenziato che l'ECHA non ha ancora fatto alcun controllo di conformità, quindi non è possibile sapere se e quanti test

addizionali saranno richiesti. In tutti i dossier l'unica unità di riferimento (per derivare DNEL e PNEC) è stata la massa tradizionale. Per i test di tossicità umana non erano generalmente riportati i metodi di preparazione del campione e lo stato di agglomerazione della sostanza. In casi di registrazione congiunta se la nanoforma non è prodotta/importata dalla entità legale del lead registrant, può non essere visibile da IUCLID anche se appare nel CSR. In sette casi è stato applicato il read-across per endpoint di salute umana, basandosi principalmente sulla composizione chimica. In conclusione si suggerisce di rendere obbligatorio esplicitare a quali forme si riferiscono i test, descrivere dettagliatamente la preparazione dei materiali per i test, fornire giustificazione scientifica per gli approcci non-test (read-across, QSAR). Tutti i dossier analizzati si riferiscono a sostanze prodotte in quantità superiori a 1000t per le quali le richieste informative sono le più ampie.

Per quanto riguarda il punto 3 (esposizione/caratterizzazione del rischio), dato che non esiste una guida REACH nano-specifica, sono state fornite in genere valutazioni semi-quantitative dell'esposizione e del rischio. In alcuni casi la stima dell'esposizione è stata fatta utilizzando il modello ECETOC TRA senza porsi il problema della sua applicabilità ai nanomateriali e senza comparazione con misure sperimentali di esposizione. L'esposizione dei consumatori è stata trascurabile. Si suggerisce di richiedere specifiche valutazioni dell'esposizione e del rischio e di presentare i risultati utilizzando metriche differenti.

Il rapporto finale si conclude con una tabella che riassume le opzioni di adattamento del Regolamento REACH illustrate precedentemente.

#### *Le opzioni di modifica degli allegati del REACH*

Diverse proposte sono state avanzate per adeguare il Regolamento REACH alle specificità dei nanomateriali modificando gli allegati del Regolamento.

Nel 2011 l'autorità competente della Germania aveva espresso una posizione preliminare nella quale si evidenziava che la dimensione di un nanomateriale è un fattore determinante relativo al cambiamento delle proprietà della sostanza. Tuttavia, questo non porta necessariamente come conseguenza la creazione di nuove sostanze. Un materiale in forma bulk ed i nanomateriali ad esso corrispondenti hanno la stessa composizione chimica e sono quindi chimicamente identici. Di conseguenza, questo significa che devono essere raccolti in un unico fascicolo di registrazione, con dimensioni e altre caratteristiche specifiche per la nanoforma inseriti come elementi importanti e caratterizzanti del nanomateriale, su cui svolgere ulteriori esami.

I primi punti evidenziati erano:

- soglie di tonnellaggio specifiche per la registrazione dei nanomateriali;
- sviluppo di test specifici per i nanomateriali;
- criteri per la distinzione e/o il raggruppamento di diversi nanomateriali;
- misure specifiche per i nanomateriali aventi la superficie trattata.

Successivamente la proposta è sta-

ta approfondita. La raccomandazione della Commissione Europea sulla definizione è considerata valida e se ne propone l'inserimento nell'allegato VI del REACH. Si suggerisce anche di introdurre le definizioni di materiali fibrosi e particelle fini, materiali che non rientrano nella definizione di nanomateriali, ma che richiedono comunque informazioni e test specifici. Viene ribadito che materiali bulk e nano dovrebbero avere differenti richieste informative partendo dal principio base del REACH che se un materiale differisce da un altro in modo rilevante test addizionali sono necessari. Sono quindi indicati una serie di parametri considerati importanti: dimensioni, struttura cristallina, geometria, rigidità, stabilità, carica superficiale, idrofobia, proprietà catalitiche, gruppi funzionali, agglomerazione, area superficiale.

Si propone di introdurre una registrazione ridotta a partire dai 100 kg/anno. Al di sopra di 1 t/anno è richiesto il CSA, sono introdotti test aggiuntivi (Eco)Tox e dati ulteriori da specificare in un apposito allegato XVIII del REACH.

Nel marzo 2014 il CEFIC ha avanzato una sua proposta che parte invece dal presupposto che la dimensione non è un pericolo *per se* e che quindi i nanomateriali non dovrebbero essere trattati diversamente dagli altri prodotti chimici. Questo punto di vista trova supporto nella "Second Regulatory Review on Nanomaterials" della Commissione Europea, dove la nanotecnologia viene definita come una KET (Key Enabling Technology). Il CEFIC propone quindi un approccio caso

per caso. Le principali proposte per gli allegati REACH sono:

Allegato II: solo i nanomateriali per i quali c'è un pericolo identificato sono descritti nella SDS;

Allegato III: non c'è ragione per cambiarlo;

Allegato VI: integrare la definizione di nanomateriale; per le registrazioni congiunte i partecipanti concordano una nanoforma generica rappresentativa; diverse nanoforme possono essere considerate dentro una singola registrazione; caratterizzazioni specifiche addizionali dovrebbero essere proporzionate alle necessità della valutazione del rischio tenendo conto dei costi;

Allegati VII-X: per le proprietà chimico-fisiche possono essere introdotti: solubilità in mezzi biologici, morfologia, fase cristallina, distribuzione delle dimensioni delle particelle area superficiale specifica; non c'è necessità di test addizionali di tossicità ed ecotossicità a tonnellaggi inferiori; dove si considera che esista una differenza rilevante tra forma bulk e nano possono essere condotti test separati;

Allegato XI: l'utilizzo del read-across tra forma bulk e forma nano di una sostanza deve essere basato su una giustificazione scientifica come avviene nel caso di read-across tra sostanze diverse. Un documento guida ECHA dovrebbe indicare le best practice per il read-across.

## Conclusioni

Il processo di registrazione ai sensi del REACH richiede la presentazione di dati essenziali su tutte le so-



stanze chimiche commercializzate in Europa, incluse le sostanze in nanoscala, per consentire l'individuazione e l'applicazione delle misure di gestione del rischio più appropriate. L'implementazione delle disposizioni del titolo II del REACH in materia di registrazione è perciò fondamentale per garantire l'utilizzo sicuro di questi materiali.

La mancanza di standard e di metodi specifici per la misura, la caratterizzazione dei nanomateriali e la valutazione del rischio e dei

livelli di esposizione associati al loro utilizzo, rendono difficile l'implementazione e il miglioramento della legislazione esistente. La valutazione del funzionamento dei principali strumenti giuridici che disciplinano le sostanze chimiche ha messo in luce l'attuale inefficacia degli stessi nella gestione delle sostanze in forma nanometrica e la necessità di fare di più per proteggere la salute pubblica e l'ambiente conformemente al principio di precauzione.

La revisione in corso degli allegati del REACH e l'aggiornamento delle linee guida per l'attuazione costituiscono un'azione fondamentale per il raggiungimento degli obiettivi del regolamento, ma non posso prescindere da un continuo riesame delle disposizioni alla luce della produzione di nuovi dati scientifici. ●

**Maria Alessandrelli<sup>1</sup>, Stefano Castelli<sup>2</sup>,  
Paola Di Prospero Fanghella<sup>1</sup>,  
Maria Letizia Polci<sup>1,3</sup>, Flavio Pettirossi<sup>2</sup>**  
<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>ENEA;  
<sup>3</sup>Ministero della Salute

## bibliografia

- [1] Regulation (EC) No 1907/2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) *Official J European Union* L 396, 30/12/2006
- [2] European Commission. Classification, labelling and packaging of nanomaterials in REACH and CLP. Brussels: Environment DG, Enterprise and Industry; 2009. (Doc. CA/90/2009 Rev2). Available from: [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/reach/nanos\\_in\\_reach\\_and\\_clp\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/reach/nanos_in_reach_and_clp_en.pdf)
- [3] Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial, 2011/696/EU, *OJ European Union* L 275/38, 20/10/2011
- [4] Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment <http://echa.europa.eu/web/guest/guidance-documents/guidance-on-informationrequirements-and-chemical-safety-assessment>
- [5] Commission Communication "Second Regulatory Review on Nanomaterials" (COM(2012) 572) of 3 October 2012. [http://ec.europa.eu/nanotechnology/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/nanotechnology/index_en.html)

# Scenari di esposizione qualitativi sulle sostanze in nanoforma in ambito REACH

Lo Scenario di Esposizione (SE) così come viene definito nell'ambito del Regolamento REACH si compone di un insieme di parametri che descrivono le modalità con le quali una sostanza viene prodotta o usata e delle misure che vengono applicate per controllare l'esposizione umana e il rilascio nell'ambiente. Lo scenario di esposizione è fondamentale nella stima quantitativa dell'esposizione per la valutazione del rischio nonché come strumento di comunicazione nella catena di approvvigionamento.

Le proprietà delle sostanze in nanoforma non sono ancora pienamente comprese e lo sviluppo di SE per nanomateriali è una sfida che la comunità scientifica sta affrontando con differenti approcci.

Questo articolo descrive il modello qualitativo Stoffenmanager Nano 1.0 che sviluppa scenari di esposizione applicabili a nanomateriali ingegnerizzati

DOI 10.12910/EAI2015-035

■ R. Carletti, F. Carfi, S. Castelli, F. D'Amico, S. Moro Iacopini

## Introduzione

Il Regolamento (CE) n. 1907/2006 (REACH) è il sistema integrato di registrazione, valutazione e autorizzazione delle sostanze chimiche adottato per migliorare il livello di protezione della salute umana e dell'ambiente all'interno dell'Unione Europea. Si stima che circa 30.000 sostanze e prodotti chimici saranno progressivamente soggetti a un esame sulla pericolosità e inseriti in un database comune a tutti gli Stati membri dell'Unione Europea. Grazie al REACH è quindi possibile ottenere maggiori e più complete informazioni sulle proprietà pericolose delle sostanze, sui rischi connessi all'esposizione e sulle misure di sicurezza da applicare.

La definizione di Scenario di Esposizione (SE) nell'Art 3.37 del Regolamento Reach è:

“L'insieme delle condizioni, comprese le condizioni operative e le misure di gestione dei rischi, che descrivono il modo in cui la sostanza è fabbricata o utilizzata durante il suo ciclo di vita e il modo in cui il fabbricante o l'importatore controlla o raccomanda agli utilizzatori a valle di controllare l'esposizione delle persone e dell'ambiente. Questi scenari d'esposizione possono coprire un processo o un uso specifico o più processi o usi specifici, se del caso.”

In base all'articolo 14 del REACH fabbricanti e importatori di sostanze chimiche che rispondono ai criteri di classificazione per le sostanze pericolose, PBT (persistenti, bioaccumulabili e tossiche) o vPvB (molto persistenti, molto bioaccumulabili), in quantità superiori a 10 tonnellate all'anno devono includere all'interno del Rapporto sulla

sicurezza chimica (CSR), parte integrante del dossier di registrazione, gli scenari di esposizione relativi a tutti gli usi della sostanza registrata. Lo SE viene fornito inoltre agli utilizzatori a valle (DU), in un opportuno formato e allegato alla scheda dati di sicurezza (scheda di sicurezza estesa o extended SDS).

Lo Scenario di Esposizione (SE) come definito in ambito REACH costituisce dunque lo strumento chiave sia per la caratterizzazione del rischio di una sostanza e per il suo uso sicuro, sia per una corretta ed efficace comunicazione tra tutti gli attori posti lungo la catena di approvvigionamento.

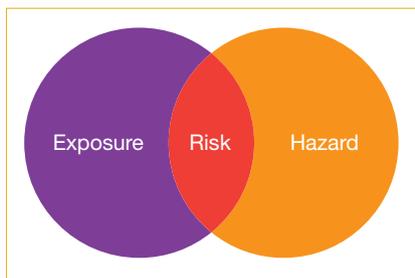
Contact person: Sabrina Moro Iacopini  
sabrina.moroiacopini@enea.it

## Caratterizzazione del rischio dei nanomateriali

### Differenze tra sostanze bulk e sostanze in nanoforme

Secondo la raccomandazione della Commissione Europea <sup>(1)</sup> del 2011 relativa alla definizione dei nanomateriali, per “nanomateriale (NM)” si intende “*un materiale naturale, derivato o fabbricato contenente particelle allo stato libero, aggregato o agglomerato, e in cui, per almeno il 50% delle particelle nella distribuzione dimensionale numerica, una o più dimensioni esterne siano comprese tra 1 nm e 100 nm. In casi specifici, e laddove le preoccupazioni per l’ambiente, la salute, la sicurezza e la competitività lo giustificano, la soglia del 50% della distribuzione dimensionale numerica può essere sostituita da una soglia compresa tra l’1% e il 50%*”. Laddove tecnicamente possibile e richiesto da disposizioni legislative specifiche, è anche possibile usare per l’identificazione di un NM la superficie specifica in volume, che deve essere superiore a 60 m<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup>. Comunque nel caso in cui un NM rientri nel range dimensionale compreso tra 1 nm e 100 nm, è considerato un NM anche nel caso in cui la sua superficie specifica non sia superiore a 60 m<sup>2</sup>/cm<sup>3</sup>.

Come per tutte le sostanze chimiche, anche per i nanomateriali valgono i concetti di “Hazard” e “Risk”, dove per “Hazard” si intende la pericolosità intrinseca dovuta alle caratteristiche chimico-fisiche della sostanza, mentre il “Risk”, o rischio, viene definito solo quando si verifica una “esposizione” da parte dell’uomo o dell’ambiente alla so-



**FIGURA 1** Rischio come funzione del prodotto tra Exposure e Hazard <sup>(3)</sup>

stanza <sup>(2)</sup>. Quindi il Rischio è il prodotto della probabilità dell’Esposizione o “Exposure” e dell’ “Hazard” (Figura 1).

### Valutazione dell’esposizione per le nanoforme

Il concetto di esposizione relativo ai nanomateriali non si limita alla sostanza in nanoforma, ma si estende anche a tutti i nanomateriali ingegnerizzati ossia tutti i materiali o articoli progettati e prodotti per avere al loro interno nanosostanze. Un fattore importante che caratterizza l’esposizione è se la nanoparticella (NP) si presenti in forma libera, aggregata (particella composta da particelle fuse o fortemente legate tra loro) o agglomerata (insieme di particelle o aggregati con legami deboli in cui la superficie esterna risultante è simile alla somma delle superfici dei singoli componenti) o se si presenti confinata in matrici o all’interno di dispositivi. È relativamente rara l’esposizione a nanoparticelle libere perché più frequentemente esse si presentano in forma agglomerata e aggregata, anche se gli aggregati e agglomerati possono a loro volta

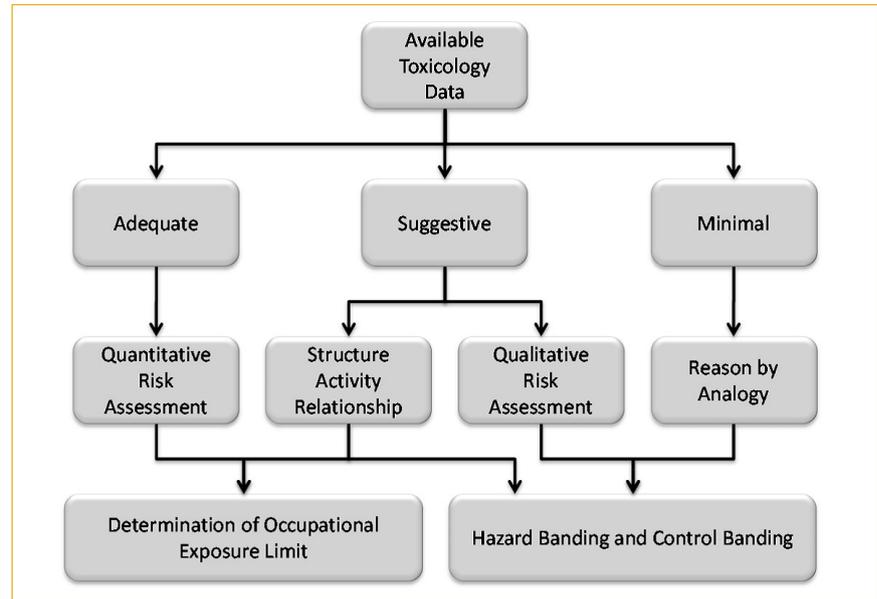
de-aggregarsi e de-agglomerarsi e le caratteristiche nano possono cambiare, anche se non è detto che vengano perse, in base ad innumerevoli fattori. Studi su queste dinamiche sono tutt’ora in corso e con risultati non definitivi <sup>(4)</sup> <sup>(5)</sup>. Per le NP rinchiusi in matrici o in dispositivi l’esposizione può avvenire, anche in tempi lunghi, durante il ciclo di vita del prodotto in seguito al processo di degradazione dello stesso o allo stadio di rifiuto, andando a influire così sull’ambiente o sulla salute dell’uomo per via indiretta. Le evidenze scientifiche su tali fenomeni di lungo periodo sono fino ad ora molto controverse <sup>(6)</sup><sup>(7)</sup>.

L’esposizione più probabile è quella che avviene durante il processo produttivo e coinvolge quindi i lavoratori, anche se proprio nel luogo di lavoro si riscontrano le migliori condizioni per il controllo dell’esposizione <sup>(8)</sup>. Per quanto siano disponibili pochi dati misurati, è naturale pensare che l’esposizione nei vari stadi produttivi possa variare in modo consistente in base al tipo di processo lavorativo o al tipo di applicazione tecnica. In applicazioni in cui le NP sono confinate in matrici (es. materiali da costruzioni) o inserite dentro dispositivi (es. circuiti elettronici) l’esposizione sarà presumibilmente bassa, a meno che la matrice non sia soggetta a usura per processi, per esempio, di abrasione <sup>(9)</sup>. Inoltre è molto importante riuscire a distinguere, sia nei luoghi lavorativi che nell’ambiente, tra NP prodotte intenzionalmente e NP presenti come fondo (origine naturale o incidentale).

### Hazard e carenze delle informazioni necessarie

Per quanto riguarda l'Hazard delle sostanze in nanoforma, le ricerche e gli studi effettuati fino ad ora non hanno dato risultati tra loro coerenti e soprattutto definitivi; secondo le posizioni ufficiali dei maggiori centri di studio e di ricerca europei, non è possibile attribuire un "Hazard" alla sostanza nano in quanto tale, vale a dire nessuna definizione della sostanza nano è messa in relazione ad un "Hazard" riconosciuto. Alcuni materiali di sintesi sembrano costituire un rischio per la salute e l'ambiente, mentre altri hanno manifestato una bassa tossicità. L'approccio per ora consigliato è quello della valutazione caso per caso <sup>(10)</sup>. Istituti come EASAC <sup>(11)</sup> e JRC affermano che "there is only a limited amount of scientific evidence to suggest that nanomaterials present a Risk for human health" <sup>(12)</sup>. Spesso sono state le modalità sperimentali effettuate con irrealistiche condizioni a far emergere una correlazione tra caratteristiche nano e rischio per la salute <sup>(13) (14) (15)</sup>.

Gli SE relativi alle sostanze in nanoforma risentono della mancanza di conclusioni definitive e concordi su alcuni temi chiave, soprattutto relativamente alla parte (eco)tossicologica, essenziale nella determinazione di limiti tossicologici usati in ambito normativo quali il Derived No Effect Level (DNEL), l'Occupational Exposure Limit (OEL) e il Predicted No Effect Concentration (PNEC) in campo ambientale. Questi valori sono essenziali per il calcolo del rapporto di caratterizzazione del ri-



**FIGURA 2** Esempio illustrativo del livello di dati tossicologici richiesti per la determinazione di OEL/DNEL o per un approccio di livello inferiore basato sul *control-banding* (tratto da Shulte et al., 2011) <sup>(16)</sup>

schio (RCR), che si ottiene dividendo la stima dell'esposizione per il valore di DNEL, OEL o di PNEC. La qualità dei dati a disposizione determina quindi il tipo di approccio possibile riguardo alla caratterizzazione del rischio (Figura 2).

Attualmente il livello di dati tossicologici disponibili per la maggior parte delle sostanze è compreso tra *Suggestive* e *Minimal*, mentre pochi NM sembrano possedere informazioni *Adequate* (come il TiO<sub>2</sub>) <sup>(17)</sup>.

I dati tossicologici disponibili oggi per la maggior parte dei nanomateriali permettono di effettuare una caratterizzazione del rischio solo di tipo qualitativo applicando i modelli cosiddetti "control banding", che però per il loro carattere estremamente conservativo sono di minore utilità

pratica rispetto ai modelli di tipo quantitativo, i quali si trovano ancora nello stadio di sviluppo e per i quali rimane aperto il problema della validazione.

### La caratterizzazione del rischio e il modello qualitativo Stoffen-Nano 1.0

Per i materiali nano è stato sviluppato dall'Istituto Olandese per le Scienze Applicate (TNO) il modello qualitativo StoffenNano 1.0 <sup>(18)</sup>. Tale modello è stato pensato in base al principio di precauzione, che consiste nel prevenire l'esposizione laddove possibile o minimizzarla laddove la prevenzione non sia attuabile, a causa della grande incertezza ancora associata alla conoscenza dell'effettiva pericolosità

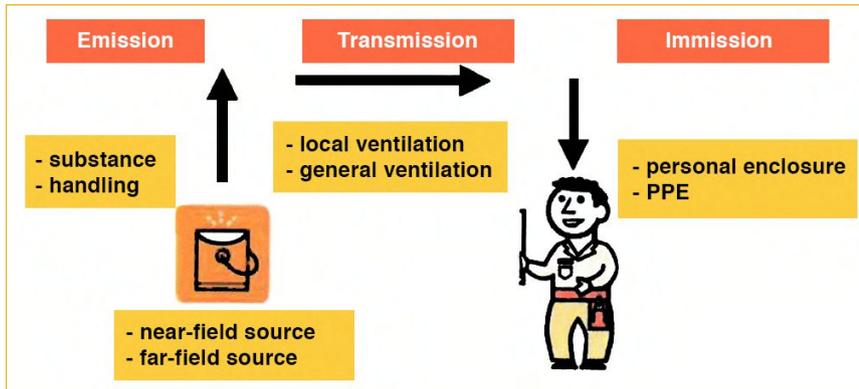


FIGURA 3 Schema concettuale della logica presente nel modello StoffenNano

$$\begin{aligned}
 B &= [(C_{nf}) + (C_{ff}) + (C_{ds})] * \eta_{imm} * \eta_{ppe} * t_h * f_h \\
 C_{nf} &= E * H * \eta_{lc\_nf} * \eta_{gv\_nf} \\
 C_{ff} &= E * H * \eta_{lc\_ff} * \eta_{gv\_ff} \\
 C_{ds} &= E * a
 \end{aligned}$$

FIGURA 4 Algoritmo utilizzato nel modello StoffenNano

delle nanotecnologie. Lo StoffenNano si presenta pertanto come un modello molto conservativo, che aiuta a stabilire una scala di priorità tra i rischi legati alle attività produttive per mezzo di un ranking finale che prende la forma di bande di diverso colore (approccio “banding”). L’algoritmo utilizzato nel modello segue un approccio sorgente-recettore e incorpora fattori di rilascio collegati alle sorgenti di emissione, di dispersione e di immissione. L’esposizione è descritta da una funzione moltiplicativa delle seguenti variabili: potenziale di emissione delle sostanze, potenziale di emissione delle attività, vicinanza o lontananza dalle fonti, effetto delle misure di gestione del rischio. La Fi-

gura 3 riassume lo schema concettuale appena descritto.

L’algoritmo specifico <sup>(18)</sup> nel modello (Figura 4) viene qui di seguito illustrato.

La misura dell’esposizione del lavoratore (B) si calcola tenendo conto della concentrazione di sostanza nano cui è esposto e alla quale contribuiscono le fonti vicine ( $C_{nf}$ ), le fonti lontane ( $C_{ff}$ ) e la concentrazione del fondo ( $C_{ds}$ ), tenendo conto della riduzione dell’esposizione ottenuta con l’utilizzo di misure di controllo ( $\eta_{imm}$ ) e di PPE ( $\eta_{ppe}$ ), nonché della durata dell’operazione ( $t_h$ ) e della sua frequenza ( $f_h$ ).

Tali concentrazioni della sostanza nano provenienti da fonti vicine, fonti lontane e dal fondo sono variabili

determinate in funzione dell’emissione intrinseca della relativa sorgente (E) e dal tipo di apporto, che può essere la tipologia della lavorazione (H) o l’influenza relativa della sorgente del fondo (a), e sono mitigate dalla presenza di misure di controllo locali ( $\eta_{lc}$ ) e dagli effetti della ventilazione generale, in relazione alla grandezza della stanza ( $\eta_{gv}$ ).

Tutte le variabili usate nell’algoritmo utilizzano una metrica adimensionale (score), vale a dire un punteggio che varia all’interno di un range diversificato per tipologia di variabile e il risultato finale B quindi sarà quindi espresso come un punteggio di score.

Concettualmente vengono elaborati due tipi di *banding*, il primo legato all’Esposizione e il secondo legato all’Hazard e conseguentemente viene calcolato il Rischio.

Nella determinazione delle fasce di Esposizione vengono attribuiti dei punteggi alle variabili che descrivono l’esposizione, lungo una scala non lineare (scelta conservativa) compresi tra 0 e 1 per alcuni parametri e tra 0 e 10 o tra 0 e 100 per altri: le variabili riguardano durata del lavoro giornaliero, frequenza dei giorni di lavoro nella settimana, tipologia del processo alla sorgente di emissione, tipologia delle misure di gestione del rischio, volume del luogo di lavoro, pulizia e mantenimento del luogo di lavoro, polverosità, umidità. Questi punteggi sono moltiplicati tra loro per dare uno score totale di Esposizione. Nella Tabella 1 sono mostrati i valori in uso, come definiti applicando il principio di conservatività.

Per la determinazione delle fasce di Hazard, esistono in letteratura di-

Fasce di esposizione	Range dei punteggi
1	0-0,002
2	0,002-0,2
3	0,2-20
4	20-200,03

**TABELLA 1** Definizione delle Fasce di esposizione in base al punteggio totale

versi approcci per valutare gli effetti delle sostanze sulla salute umana nei luoghi di lavoro, il loro ciclo di vita nei processi produttivi e il ciclo di vita nell'ambiente. Per la valutazione si possono utilizzare approcci di tipo pragmatico o approcci di notevole complessità concettuale. Tra le differenti modalità di valutazione dell'Hazard vanno ricordati gli schemi che tengono conto solo della presenza o assenza di determinate categorie di pericolo e gli schemi che attribuiscono in maniera arbitraria uno score alle diverse categorie di pericolo.

L'approccio scelto per StoffenNano è quello proposto da Paik et al. (19) nel quale viene attribuito uno score ai parametri presi in considerazione: superficie chimica, diametro della NP, solubilità, stato di agglomerazione, bioaccumulazione e biodisponibilità, reattività superficiale, gruppi funzionali critici, composizione. Vengono considerate anche le caratteristiche di pericolosità della relativa sostanza bulk e laddove non si disponga di tali informazioni viene attribuito lo score massimo. Complessivamente sono individuate 5 fasce di Hazard che vanno da A (minimo Hazard) a E (massimo Hazard) per le sostanze di cui si conoscono le proprietà nano e 3 fasce che vanno da C ad E per

le sostanze di cui non si conoscono le proprietà nano. Per quest'ultime l'attribuzione alle fasce avviene in base alle proprietà delle rispettive sostanze bulk e alle informazioni sugli usi della NP.

Combinando i dati su Esposizione e Hazard viene valutato il Rischio, descritto da un indice numerico compreso tra 1 e 3 (Figura 5).

Non è possibile procedere a una valutazione quantitativa del rischio utilizzando le fasce di Hazard ed Esposizione poiché entrambe sono basate su considerazioni di tipo qualitativo. Il sistema è sviluppato per dare una valutazione conservativa, in maniera simile al modello Stoffenmanager utilizzato per le sostanze bulk; l'assegnazione nelle diverse fasce è realizzata in modo che sostanze con elevato profilo di Hazard, come ad esempio le sostanze fibrose, abbiano una priorità più alta a prescindere dal profilo di esposizione. Lo scopo è quello di riconsiderare in maniera più dettagliata tali sostanze caso per caso. In maniera analoga in considerazione della perdurante incertezza sulla caratterizzazione (eco)tossicologica delle so-

stanze nano, anche le sostanze per le quali è individuata un'elevata esposizione si collocano nel gradino più alto della scala della priorità.

Lo strumento StoffenNano 1.0 è liberamente accessibile e disponibile al seguente link:

<http://nano.stoffenmanager.nl/>

Il modello StoffenNano può essere usato teoricamente per tutti i tipi di nano particelle ingegnerizzate a condizione che siano presenti le informazioni necessarie da inserire nel modello. StoffenNano raggruppa le tipologie di rilascio in quattro macro domini:

1. Rilascio di particolato primario durante le operazioni di sintesi (rilasci da valvole, flange, tenute meccaniche o altri dispositivi simili)
2. Operazioni con nanopolveri in forma aggregata/agglomerata (caricamento, scaricamento o gestione di contenitori con eventuali perdite)
3. Spraying o dispersione di nanoprodotti pronti per l'uso (applicazioni spray con formazione di aerosol)
4. Fratturazione e abrasione di MNP incorporati in prodotti/articoli

Exposure band \ Hazard band	Hazard band				
	A	B	C	D	E
1	3	3	3	2	1
2	3	3	2	2	1
3	3	2	2	1	1
4	2	1	1	1	1

**FIGURA 5** Schema del Control Banding operante nel modello Stoffenmanager 1.0

*Classificazione delle fasce*

Hazard: A Hazard minimo, E Hazard massimo. Esposizione: 1 esposizione minima, 5 esposizione massima. Risultato finale (Rischio): 1 rischio con priorità massima, 3 rischio con priorità minima.



(fratturazione di oggetti, polverizzazione della superficie) <sup>(20)</sup>

In base all'esame delle informazioni disponibili in letteratura il modello StoffenNano può essere attualmente applicato ai prime tre domini e ad esclusione del quarto, per il quale non sono disponibili dati sufficienti per l'applicazione del modello.

## Conclusioni

Il modello qualitativo StoffenNano rappresenta attualmente lo stato dell'arte dei modelli di valutazione per le sostanze in nanoforma.

Il modello StoffenNano definisce una scala di priorità del rischio che

può essere usata in ambito lavorativo come strumento di gestione del rischio, inteso come sistema di riduzione dell'esposizione dei lavoratori. L'esposizione è valutata dal modello come parte finale di un processo che tiene conto non solo del potenziale espositivo della sostanza ma anche del processo in cui questa sostanza viene utilizzata e delle misure di gestione del rischio adottate, sia generali che personali. I modelli quantitativi invece sono in fase di sviluppo iniziale e pur presentando un formato armonizzato con quello previsto dal regolamento REACH, dunque con una migliore e più standardizzata capacità di descrizione degli usi e delle misure di gestione del rischio, si fermano alla

fase di misura dell'esposizione. Tali modelli sono quindi carenti sia nella caratterizzazione del rischio che nella definizione di una scala di priorità.

La caratterizzazione quantitativa del rischio in maniera analoga alle sostanze bulk resta ancora una problematica aperta. Per conseguire tale risultato occorrerà colmare le lacune nella conoscenza delle procedure di caratterizzazione delle sostanze nano, di misurazione e di testing, al fine di ottenere un valore di DNEL per ogni sostanza nano e poter giungere alla determinazione del rapporto di caratterizzazione del rischio RCR. ●

Roberto Carletti, Francesca Carfi, Stefano Castelli,  
Flaviano D'Amico, Sabrina Moro Iacopini  
ENEA, Unità Tecnica Tecnologie Ambientali,  
Laboratorio di Ecoinnovazione dei Sistemi Produttivi

## bibliografia

- [1] Raccomandazione 2011/696/UE della Commissione, GU. 275/40, 20.10.2011
- [2] Art. 2, Directive 98/24/EC, 07/04/1998
- [3] C. Som; B. Nowack; H. F. Krug; P. Wick (2013) "Toward the Development of Decision Supporting Tools That Can Be Used for Safe Production and Use of Nanomaterials" *Acc. Chem. Res.* 46: 863-872
- [4] Meißner, T., Potthoff, A. & Richter, V., 'Physico-chemical characterization in the light of toxicological effects', *Inhalation Toxicology*, 21.s1, 2009, pp. 35-39
- [5] EU-OSHA, *Workplace exposure to nanoparticles*, Luxembourg, 2009. Available at: [http://osha.europa.eu/en/publications/literature\\_reviews/workplace\\_exposure\\_to\\_nanoparticles/view](http://osha.europa.eu/en/publications/literature_reviews/workplace_exposure_to_nanoparticles/view)
- [6] <http://www.nanex-project.eu/index.php/public-documents>
- [7] OECD-WPMN Report of the Workshop on Risk Assessment of Manufactured Nanomaterials in a regulatory context, held on 16-18 September 2009, in Washington D.C., United States: No. 21 - ENV/JM/MONO(2010)10
- [8] OECD-WPMN Guidance on exposure assessment and mitigation, Compilation and Comparison of Guidelines Related to Exposure to Nanomaterials in Laboratories: No. 28 - ENV/JM/MONO(2010)47
- [9] Möhlmann, C. et al., "Exposure to carbon nano-objects in research and industry", INRS Occupational Health Research Conference 2011 "Risks associated with nanoparticles and nanomaterials", April 2011, Conference proceedings, Session II, p. 64
- [10] [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihp/docs/scenihp\\_o\\_023.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihp/docs/scenihp_o_023.pdf), pag. 52-56
- [11] European Academies Science Advisory Council, <http://www.easac.eu/home.html>
- [12] Impact of Engineered Nanomaterials on Health: Considerations for Benefit-Risk Assessment, Joint EASAC-JRC Report, [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our\\_activities/nanotechnology/nanoreport-10-11/JRCEASAC-report.pdf](http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/nanotechnology/nanoreport-10-11/JRCEASAC-report.pdf), p. 8
- [13] Roller, M., *Inhalation Toxicology* 21, Suppl. 1, 144 (2009)
- [14] Yokohira, M. et al., *Toxicologic Pathology* 36, 620 (2009)
- [15] Impact of Engineered Nanomaterials on Health: Considerations for Benefit-Risk Assessment, Joint EASAC-JRC Report, [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our\\_activities/nanotechnology/nanoreport-10-11/JRCEASAC-report.pdf](http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/nanotechnology/nanoreport-10-11/JRCEASAC-report.pdf), p. 23
- [16] Schulte P.A., Kuempel E.D., Castranova V., Geraci C., Hoover M.D. Stefaniak A., Hodson L., Zumwalde R., Murashov V. "Issues in Establishing Categorical Occupational Exposure limits for Nanomaterials". 2011
- [17] Working Safely with Nanomaterials in Research & Development" Developed by Working Safe, UK NanoSafety Partnership Group (UKNSPG)
- [18] Stoffenmanager Nano: Description of the conceptual control banding model, TNO, Utrechtsweg, 18/01/2011
- [19] Paik SY, Zalk DM, Swuste P. Application of a pilot control banding tool for risk level assessment and control of nanoparticle exposure, *Ann Occ Hyg.* 2008; 52(6):419-28
- [20] Schneider T, et al. "Conceptual model for assessment of inhalation exposure to manufactured nanoparticles. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology.* 21,450-463 (2011)

# Strumenti di valutazione impatto ambientale di nanomateriali

Le nanotecnologie mostrano una crescente diffusione grazie alle speciali proprietà dei NanoMateriali (NM). La conoscenza del comportamento dei NM e delle interazioni con l'ambiente e la salute umana è ancora insufficiente per valutare l'impatto dei NM. Un approccio multidisciplinare, multidimensionale e sistemico quale quello del ciclo di vita (Life Cycle Thinking – LCT), applicato tramite lo strumento Life Cycle Assessment (LCA), è fondamentale nelle valutazioni di sostenibilità ambientale delle tecnologie, con alcuni limiti che possono essere superati attraverso l'integrazione con altri strumenti quali, ad esempio, modelli non lineari, analisi di flussi di materia, Risk Assessment (RA). In questo articolo si propone una dettagliata analisi dello stato dell'arte e delle principali problematiche correlate all'applicazione di LCA e RA ai NM sia in maniera separata che in utilizzo combinato; si discutono poi le strategie e le integrazioni necessarie per superare i limiti di entrambe le metodologie e ottenere robuste valutazioni degli impatti per la salute e l'ambiente

DOI 10.12910/EAI2015-036

■ G. Barberio, S. Scalbi, P. Buttol, S. Righi, P. Masoni

## Introduzione

Le nanotecnologie mostrano sempre più una diffusione crescente grazie alle speciali proprietà dei nanomateriali (NM). Purtroppo, la conoscenza in merito a comportamento, interazioni con uomo e ambiente e, dunque, impatti potenziali sulla popolazione e sugli ecosistemi è ancora insufficiente. Come per tutte le tecnologie innovative ed emergenti, la valutazione delle nanotecnologie è molto complessa. Da un lato una valutazione su scala di laboratorio o pilota può essere fuorviante se il confronto è con le produzioni convenzionali a livello industriale. Dall'altro si tratta di valutare gli effetti che scaturiscono dalla loro introduzione e questi sono legati a come queste interagiscono con l'intero sistema tecnologico, con i comparti ambientali e con la società, e

all'orizzonte temporale della valutazione (Mulder, 2011; Zamagni et al., 2008). Inoltre, spesso una tecnologia emergente non fornisce direttamente un prodotto (il cui destino può facilmente essere monitorato) ma un prodotto intermedio destinato a molteplici applicazioni. Un approccio multidisciplinare, multidimensionale e sistemico quale quello del ciclo di vita (Life Cycle Thinking – LCT), applicato tramite lo strumento Life Cycle Assessment (LCA), è fondamentale nelle valutazioni di sostenibilità ambientale delle tecnologie, anche se presenta alcuni limiti che possono essere superati attraverso l'integrazione con altri strumenti quali, ad esempio, modelli non lineari, analisi di flussi di materia, Risk Assessment (RA) (Finnveden et al., 2009). Particolarmente interessante risulta l'integrazione delle metodologie LCA e RA.

In questo articolo si propongono lo stato dell'arte e le principali problematiche correlate all'applicazione di LCA e RA ai NM, sia in maniera separata che in utilizzo combinato; si discutono poi le strategie e le integrazioni necessarie per superare i limiti di entrambe le metodologie e ottenere valutazioni degli impatti per la salute e l'ambiente più robuste.

## Applicazione del RA ai NM: stato dell'arte e principali problematiche

I NM sono oggetto di ricerca e innovazione tecnologica e hanno

Contact person: Grazia Barberio  
grazia.barberio@enea.it

dimostrato le loro potenzialità su un ampio spettro di applicazioni. L'Unione Europea ha adottato due *review* regolatorie<sup>1</sup> definendo in modo univoco i nanomateriali<sup>2</sup>. Queste *review* pongono per i NM una notevole attenzione su aspetti di sicurezza, di informazioni rispetto alla loro penetrazione nel mercato e dei loro benefici e rischi potenziali. Esse arrivano alla conclusione che il REACH<sup>3</sup> è il miglior modo per gestire le problematiche ambientali e di salute dei NM, ma che è necessario sviluppare studi specifici, in vista della preparazione di linee guida generali, che ancora non esistono.

Anche lo SCENIHR (2009), un approccio di valutazione del rischio dei NM per livelli (tier) – come nella metodologia presente nel Technical Guidance Document (TGD, 2003) – è “caso per caso”. Ciò nonostante, attualmente l'applicazione del tradizionale approccio di RA non è praticabile per i NM e non lo sarà per molti anni, 20-25 secondo Hansen e colleghi (Hansen et al., 2012). Le principali motivazioni sono che nell'approccio tradizionale gli effetti su uomo e ambiente sono provocati dalla relazione dose-risposta (basata sulla massa) mentre per i NM bisogna considerare altre proprietà, tra cui la dimensione e l'area superficiale. Nell'approccio tradizionale, per le sostanze non cancerogene, è inoltre possibile stimare un valore soglia sotto il quale l'esposizione alla sostanza in esame è da ritenersi sicura, mentre per i NM l'individuazione di tale soglia non è ancora parsa possibile. Uno studio di Hristozov e colleghi (2012), ef-

fettua un'analisi critica degli studi rinvenuti in letteratura attraverso riviste scientifiche, risultati di progetti europei e database, per i NM: ossido di titanio (TiO<sub>2</sub>), argento, ossido di zinco, ossido di ferro, nanotubi di carbonio (CNT), fullerene (C60). L'analisi mette in evidenza quanti di questi dati siano utilizzabili rispetto ai database disponibili<sup>4</sup>, e conclude che i dati disponibili sono scarsi, spesso non utilizzabili e non chiari.

Per quanto riguarda gli studi di RA applicati ai nanomateriali, l'analisi dello stato dell'arte ha evidenziato tre livelli di approccio: studi completi, semiquantitativi e qualitativi. Gli studi completi, che cercano di essere esaustivi e quantitativi (“comprehensive”), seguono lo stesso approccio della valutazione per le sostanze chimiche, ma non sono generalizzabili (Mueller e Nowack, 2008; Gottschalk et al., 2009; Aschberger et al., 2011; O'Brien e Cummins, 2010). In particolare, spesso i NM sono in una forma generica e non vi è dettaglio sulle specifiche proprietà (ad esempio il nanoTiO<sub>2</sub> è descritto in modo generico senza specificare se in forma anatasio o rutilio). Puzyn et al. (2009) propongono di applicare ai NM il modello QSAR – ovvero lo studio di relazioni quantitative tra struttura e attività, in questo caso di si parla di Nano-QSAR. Questi modelli non sono ancora pronti per l'utilizzo nel settore dei NM e le linee di ricerca nello sviluppo di modelli Nano-QSAR sono rivolte a: (i) raccogliere ed elaborare i dati sperimentali disponibili; (ii) sviluppare appropriati descrittori per i NM, cioè modi di rappresentare le

caratteristiche fisico-chimiche e la struttura dei NM in modo da poterli classificare opportunamente; (iii) studiare le interazioni tra NP e i sistemi biologici; (iv) implementare i modelli QSAR e/o crearne di nuovi. Il basso stato di conoscenze comporta che la maggior parte degli studi di RA viene condotta attraverso stime qualitative di rischio, che consentono di avere un approccio alternativo per poter supportare decisioni a breve termine. Questi studi si possono raggruppare in quattro diversi approcci: Approximate RA (approssimazione di pericolo, esposizione e rischio; ranking delle priorità di ricerca sul RA e di azioni ispirate al principio di precauzione); Alberi decisionali; Matrici di precauzione; control banding.

Gli **studi “approximate”** non hanno la pretesa di giungere a risultati conclusivi ma delineano alcune importanti indicazioni (Hansen et al., 2012) e sono un punto di partenza per valutazioni più complete. Inoltre, consentono di valutare i benefici e i potenziali rischi di un'innovazione, di fornire supporto ai decisori e alle aziende stesse ai fini di minimizzare il rischio e migliorare la comunicazione nell'intera filiera. Per far questo è necessaria l'integrazione con altri quadri di riferimento<sup>5</sup> e strategie (Davis, 2007) o altri criteri, quali le valutazioni economiche, il consenso del consumatore, lo spirito di intraprendere innovazioni per essere più competitivi o altre ricadute sul mercato. In Tabella 1 viene riportato uno schema dei principali studi sui nanomateriali che utilizzano un approccio di Approximate RA.

Approcci di letteratura	Tipo di applicazione
XL Insurance Database Methodology	Valutazione del rischio, in linea con una metodologia utilizzata dalle agenzie di assicurazione avente un database e un algoritmo che consentono di calcolare il rischio relativo, includendo le operazioni normali e i possibili incidenti (Robichaud et al., 2005)
Expert judgement	Valutazione del rischio secondo pareri di esperti per colmare i gap di conoscenza, strutturare il problema, identificare le variabili chiave, stimare parametri e modelli (Kandlikar et al., 2007)
Metodo del peso dell'evidenza "Weight Of Evidence" –	Assieme alla valutazione di esperti porta a classificare e fare una gerarchia di quattro NM in virtù delle proprietà fisico-chimiche e degli effetti tossicologici (Zuin et al., 2011)
Categorizzazione dei NM	Basandosi sul posizionamento della struttura a scala nanometrica vengono individuate tre categorie di NM: materiali nanostrutturati nel bulk, materiali che hanno nanostruttura nella superficie e materiali che contengono NP (Hansen et al., 2007)
Classificazione e prioritizzazione della pericolosità	Sistema di supporto decisionale per classificare i NM in differenti categorie di rischio al fine di poter operare una gestione del rischio (RM) (Tervonen et al., 2009)
Prioritizzazione dei campi di ricerca per il rischio	Definizione di framework per correlare la ricerca alle esigenze dei diversi stakeholder (produttori, regolatori, consumatori e altre tipologie) e quindi per meglio focalizzare le linee di ricerca stessa che possa essere utile per i gruppi di stakeholder coinvolti (Linkov et al., 2011)

**TABELLA 1** Studi che usano un Approximate RA

Gli **alberi decisionali** sono basati su studi di letteratura di valutazione di pericolo ed esposizione e su dati dei relativi materiali in forma non-nanometrica attraverso cui gli esperti possono identificare relazioni tra le proprietà fisico-chimiche e il potenziale di pericolo ed esposizione e formulano algoritmi sotto forma di alberi decisionali o matrici o parametri (Som et al., 2013; Groso et al., 2010).

La **griglia di precauzione per i nanomateriali** è stata elaborata dal Swiss Federal Office for Public Health (FOPH) and for the Environment (FOEN) ed è uno strumento destinato all'industria e all'artigianato. Pubblicata nel 2008, e rielaborata a Novembre 2013 (sito web<sup>6</sup> dell'Ufficio federale della sanità pubblica – UFSP), costituisce un metodo per valutare i rischi nanospecifici per la salute e l'ambiente. Questa consente di valutare in modo strutturato il «fabbisogno di precauzione nanospecifico» dei NM di sintesi, aiutando a identificare le applicazioni che possono implicare

rischi e l'adozione di misure a tutela della salute e dell'ambiente. Inoltre, aiuta a garantire la sicurezza nello sviluppo di nuovi prodotti, consentendo di eseguire una prima valutazione del rischio in base alle conoscenze attuali e indicando quando sono necessari accertamenti supplementari.

Infine gli strumenti **control banding** (CB), che nascono per esigenza delle industrie farmaceutiche di gestire in maniera operativa il rischio anche in presenza di incertezze o mancanza di dati (Zalk e Nelson,

2008), si prefiggono di identificare i valori limite di esposizione occupazionale (OEL) soprattutto per le sostanze chimiche di maggiore interesse per giungere ad una valutazione qualitativa di rischio e procedere con una strategia di gestione e controllo dello stesso (NIOSH, 2009). Questo approccio rappresenta una soluzione alla gestione della valutazione del rischio nel campo dei NM, offrendo una soluzione semplificata per effettuare una valutazione qualitativa di primo livello (1° tier) per i lavoratori; nel caso in cui venga rilevata un'esposizione alta occorrerà passare ad analisi di maggior dettaglio basata su modelli matematici (alto livello). In Tabella 2 sono riportati gli strumenti di CB per i nanomateriali secondo la review fornita da Brouwer (2012).

Dall'analisi emerge che al momento mancano metodi di misurazione condivisi per i NM. Inoltre non c'è omogeneità nei test sperimentali, quindi i dati tossicologici non sono definitivi e diventa difficile determinare limiti e modelli di esposizione. I risultati degli studi condotti sulla nanotossicologia rispecchiano la

Software di CB	Caratteristiche
NanoTool	Usato per la gestione del rischio negli ambienti della ricerca, consta di fogli excel scaricabili dal web (www.controlbanding.net) utilizzando alcuni modelli elaborati Zalk (2009)
ANSES	Sviluppato in Francia prevalentemente per il rischio occupazionale (Ostiguy, 2010)
Stoffenmanager Nano	Modulo riferito ai NM per la valutazione del rischio occupazionale, del software Stoffenmanager, utilizzato per la valutazione dell'esposizione dei lavoratori associata a inalazione di sostanza per registrazioni REACH (van Duurer-Stuurman et al., 2012)
Nanosafar	Strumento per la valutazione del rischio occupazionale.
Guidance on Working Safely with Nanomaterials and Nanoproducts	Voluta da diversi attori quali aziende e dipendenti, vi è un piano per implementare pratiche di sicurezza per i lavoratori. Giunge alla formulazione di una matrice per determinare il livello di controllo (Cornelissen et al., 2011)

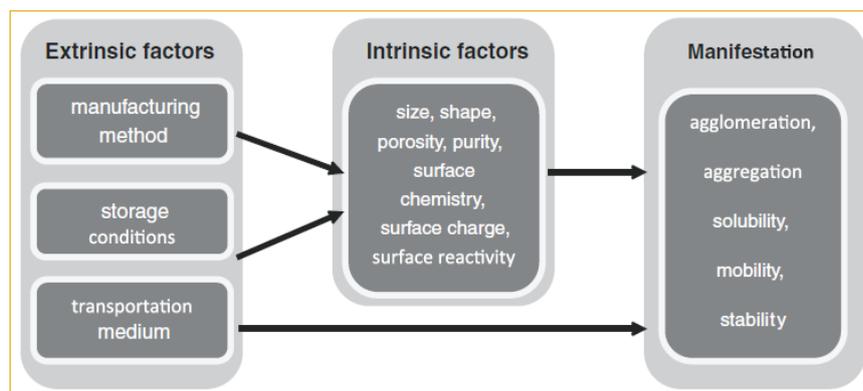
**TABELLA 2** Gli strumenti di control banding per i nanomateriali secondo la review fornita da Brouwer (2012)

varietà di comportamento dei NM, che è influenzato dalle proprietà chimico-fisiche delle nanoparticelle (NP), e mettono in evidenza la variabilità di reattività e destino, con ricadute su esposizione ed effetti (Oberdoster et al., 2005). Si aggiunge a questo che ad oggi sono ancora poco chiari i meccanismi con cui avvengono queste interazioni. Tutta questa incertezza sulla tossicità dei NP e NM spiega quindi perché in letteratura esistono pochissimi studi completi di RA, mentre c'è un'elevata attenzione a strumenti qualitativi per la determinazione del rischio.

### Applicazione del LCA ai NM: stato dell'arte e problematiche

Si inizia a parlare di applicazioni LCA a NM da un punto di vista tecnico-scientifico nel 2006, al "Workshop on Nanotechnology and Life Cycle Assessment, Washington, DC, 2-3 October 2006, coorganized by the EC and the Woodrow Wilson Center" che ha riunito esperti internazionali sia di LCA che di nanotecnologie. In questo convegno si prende atto che il LCA, in quanto strumento di valutazione multidisciplinare e olistico, è utile per analizzare, valutare, comprendere e gestire gli impatti delle nanotecnologie sull'ambiente e sulla salute, preparandoci e migliorando l'ingresso di queste tecnologie nel mercato. Questo approccio è utile anche per confrontare le prestazioni ambientali di queste tecnologie emergenti con quelle delle tecnologie tradizionali (Kloepffer et al., 2007).

Nella definizione dello stato dell'ar-



**FIGURA 1** Relazioni tra proprietà intrinseche dei NM e fattori estrinseci, che contribuiscono al comportamento dei NM (Gavankar et al., 2012)

te su LCA e nanomateriali si è deciso di privilegiare l'analisi delle *review* di letteratura di casi studio più significative ed esaustive.

Fra queste, lo studio di Meyer e colleghi (2009), punta ad una migliore comprensione di come la produzione e l'inserimento di NM in prodotti di consumo può contribuire ai potenziali impatti ambientali quali l'effetto serra e il consumo energetico. Dapprima viene analizzato il ciclo di vita di un NM e/o di una nanotecnologia, mettendo in evidenza gli aspetti che rivestono un ruolo fondamentale nella definizione del sistema e degli impatti. Successivamente gli autori analizzano casi di letteratura di studi di LCA "cradle to gate", dunque fermandosi alla produzione per insufficienza di dati e studi che comprendano l'intero ciclo di vita. Hanno così identificato i principali materiali utilizzati e commercializzati e, sulla base di una loro classificazione, hanno analizzato i *trend* di impatti potenziali (per effetto serra e consumo energetico).

La *review* condotta da Gavankar

(Gavankar et al., 2012) effettua non solo il tentativo di valutare gli studi di LCA presenti in letteratura ma anche di individuare una possibile relazione tra le caratteristiche dei NM analizzati e gli studi di LCA condotti (Figura 1), concludendo che al momento i DB non sono popolati dei dati necessari, ma che bisogna condurre almeno analisi di screening. Viene inoltre riportato il concetto di scalabilità, ovvero di assunzione che un NM si comporti come il suo omologo in scala non-nanometrica se ha dimensioni >30 nm, e questo in virtù di studi sperimentali (50 casi studio) che comprovano tale assunzione (Auffan et al., 2009).

Anche gli autori di questo articolo hanno condotto una *review* strutturata di studi di applicazione di LCA a NM, di cui si illustrano brevemente i risultati. In particolare dodici articoli sono stati analizzati in dettaglio (Bauer et al., 2008; Grubb e Bakshi, 2010; Healy et al., 2008; Joshi S, 2008; Khanna et al., 2008; Krishnan et al., 2008; Meyer et al. 2011; Roes et al., 2007; Sengul e Theis, 2008; Van der Meulen e Alsema, 2011; Von Gleich

et al., 2007; Walser et al., 2011) con lo scopo di comprendere meglio le problematiche, le aree di criticità e le eventuali direzioni da seguire (Gallo, 2011). Gli studi sono stati analizzati secondo un approccio LCA, mettendo in evidenza le caratteristiche per ciascuna fase del metodo. Nella definizione del campo di applicazione si evidenzia che l'unità funzionale viene riferita prevalentemente alla massa e, solo in alcuni casi, al prodotto completo e che, per i confini del sistema, la maggior parte degli studi si ferma alla fase di produzione. La fase di uso, se considerata, viene presentata per mezzo di ipotesi o scenari, con l'eccezione di uno studio (Van der Meulen e Alsema, 2011), che include dati primari per questa fase. Il fine vita dei nuovi prodotti viene considerato in maniera molto marginale o, molto più spesso, considerato escluso dai confini del sistema. Per quanto riguarda la fase d'inventario emerge che i dati utilizzati sono prevalentemente di letteratura e che i dati riguardanti la produzione dei nanomateriali sono quasi sempre coperti da riservatezza. Nella fase di valutazione si rivela invece che le categorie d'impatto sempre considerate sono quelle che considerano i fabbisogni energetici e la carbon footprint. Metà degli studi considera categorie "tradizionali" di riduzione di risorse, eutrofizzazione e acidificazione, estrazione di minerali, impoverimento dello strato di ozono, patologie respiratorie causate da composti organici e inorganici, formazione di smog fotochimico. Mentre le categorie di tossicità ed ecotossicità sono quasi sempre escluse dall'analisi, perché

gli autori degli studi ritengono non ci siano sufficienti dati su effetti per la salute umana, standard per i test di tossicità e fattori di caratterizzazione specifici per i NM. Infine vista l'incertezza sui dati vengono spesso effettuate analisi di sensibilità.

Da questa *review* si evidenzia che i casi studio di LCA applicata a NM generalmente hanno come obiettivo il confronto tra tecnologie e/o prodotti. Spesso si tratta di LCA semplificata: per flussi (es. bilancio energetico), categorie di impatto (es. carbon footprint), step del ciclo di vita (prevalentemente produzione). Vengono segnalate difficoltà nell'utilizzo dei dati pubblicati di LCA per: aggregazione di dati, mancata considerazione dei rilasci in fase di produzione, scarsa conoscenza sui trattamenti di fine vita; mancanza dei fattori di caratterizzazione per le categorie di tossicità. Inoltre in alcuni studi ci si interroga sulla validità della scelta di supplire ai dati mancanti sui NM utilizzando le conoscenze sui loro rispettivi composti chimici.

Seppur con questi limiti e incertezza dei risultati, gli studi di LCA hanno il valore aggiunto di fornire la prospettiva di ciclo di vita e dunque di mettere in luce problematiche che altrimenti non verrebbero considerate, quando si valuta la fattibilità tecnica di nuove tecnologie.

### Casi studio di applicazione di LCA e RA ai NM

In questo paragrafo si focalizza l'attenzione sul settore di applicazione di LCA e RA ai NM. L'OECD sta conducendo un importante lavoro

sulla sostenibilità dei NM attraverso il gruppo di lavoro SG9 del WPMN (Environmentally Sustainable Use of Manufactured Nanomaterials) entro il Working Party for Manufactures Nanomaterials). SG9 ha svolto un Workshop "Environmentally sustainable use of manufactured nanomaterials" a Roma nel 2011 (OECD n. 39, 2013), che conferma la necessità di un approccio LCT, con LCA come strumento di applicazione, e promuove l'utilizzo combinato con il RA, su cui sono presenti in letteratura articoli *peer reviewed*. Nella maggior parte dei casi si tratta di elaborazioni concettuali e metodologiche, ma pochissime sono le applicazioni a casi studio:

- Partendo dai concetti di valutazione relativa dell'LCA ed assoluta del RA, Grieger e colleghi (Grieger et al., 2012) propongono un'analisi combinata LCA e RA per un ipotetico nanoprodotta, da cui si evincono le differenze del concetto di ciclo di vita come concepite in RA e LCA: in LCA il ciclo di vita sono gli step correlati al prodotto nel sistema tecnologico analizzato e in base all'unità funzionale; nel RA il ciclo di vita si riferisca al destino di una singola sostanza chimica che viene emessa ad un certo tempo in certo sito e il risultato è un valore assoluto.
- Un altro approccio concettuale di utilizzo combinato di LCA e RA è fornito dallo studio di Sweet e Strohm (Sweet e Strohm, 2006) in cui si cerca un approccio proattivo che promuova lo sviluppo di nuove tecnologie piuttosto che ritardarle a causa del principio di precauzione. Siccome sui NM



la mancanza di dati e conoscenze potrebbe rallentare la crescita, viene suggerito dagli autori di investire in ricerca per lo sviluppo di strumenti di valutazione proattivi. La primaria necessità evidenziata è la disponibilità di dati sia qualitativi che quantitativi per condurre le analisi. Fornitori di tali dati dovrebbero essere i produttori, le istituzioni, le università e la comunità scientifica, e tutti gli attori portatori di interesse coinvolti nel ciclo di vita.

- Un utilizzo combinato del RA condotto secondo “opinione di esperti” e LCA, in quanto si segue il ciclo di vita dei prodotti, è fornita da Wardak e colleghi (Wardak et al., 2008). Gli scenari da analizzare sono descritti secondo approccio LCA mentre le principali cause di rischio, dette “risk triggers”, da attribuire ai NM sono descritte, per le varie fasi del ciclo di vita sottoposto ad analisi, da esperti in termini di accadimento e intensità del rischio, proprietà che possono influenzare e/o determinare il rischio. La metodologia è applicata a un caso studio (deodorante) e si pone lo scopo di comparare i diversi nanoprodotto secondo i fattori di cause di rischio, scenari, lacune di conoscenza e di regolamentazione; questo studio prende in considerazione i primi due fattori e si ripropone di approfondirli. Una delle conclusioni preliminari è che anche l’incapacità da parte di esperti di esprimere giudizio su scenari e cause di rischio è indicativa, in quanto fornisce indicazioni su linee di ricerca prioritarie.

- Per superare le incertezze legate alle scarse conoscenze sui NM, si propone di applicare l’approccio del ciclo di vita combinato con informazioni su tossicità ed esposizione dei NM (Som et al., 2010). Al fine di poter integrare i dati di rischio nel LCA, occorre che si presti particolare attenzione ad alcuni aspetti e vengano previste alcune modifiche del metodo stesso: attenzione alla differente terminologia (ad es. concetto di ciclo di vita); identificazione dei flussi di rilascio dei NM nelle varie fasi del ciclo di vita e della loro tipologia (se in forma libera, aggregata o agglomerata); distinzione tra esposizione ambientale ed occupazionale; attenzione ad eventuali contaminazioni soprattutto durante la fase di uso (contaminazioni con fonti “naturali” di NM); rafforzamento della valutazione nella fase di design, specificando se i NM vengono prodotti secondo le regole della “chimica verde” e se ci sono sostanze che, assolvendo alla stessa funzione, possono sostituire i NM nello specifico prodotto in analisi arrecando maggiori benefici.
- Un approccio di utilizzo combinato, denominato Nano LCRA (Life Cycle Risk Assessment), è stato elaborato da Shatkin e colleghi (Shatkin et al., 2008). Prevede dieci fasi dalla descrizione del ciclo di vita del prodotto (caratterizzazione potenziale pericolo, esposizione, ciclo di vita ecc.) fino allo sviluppo di strategie di mitigazione e gestione del rischio.

- Altro approccio è quello del Comprehensive Risk Assessment (CEA) proposto da Davis (Davis, 2007) che combina la valutazione di impatti ambientali, effettuata tramite il LCA, con la valutazione dell’esposizione e l’inclusione degli effetti tossicologici, effettuata tramite RA. In tale approccio si parte da una valutazione basata su LCA per caratterizzare i potenziali impatti dei NM, poi si identificano i contaminanti primari e secondari che risultano di interesse in quanto rientrano nelle vie di esposizione analizzate. Il processo termina con la valutazione degli effetti sulla salute umana e sull’ecosistema.

L’analisi mostra come la mancanza di dati renda difficoltosa l’applicazione di questi approcci e quadri di riferimento, ma sicuramente in futuro, disponendo di maggiori dati di processo, di caratterizzazione dei NM e di esposizione ed effetto degli stessi, tali approcci si riveleranno utili per le valutazioni non solo dei benefici ma anche delle conseguenze dell’uso dei NM.

In questo stato di conoscenza, di incertezze e di mancanza di dati, modelli e strategie, l’ENEA, prendendo atto della necessità di un comune quadro di riferimento e partendo dalle procedure che regolano le due metodologie di LCA e RA, ha elaborato una procedura di utilizzo combinato di LCA e RA. Il passo successivo è stato l’applicazione ad un caso studio nell’ambito di una collaborazione entro un progetto europeo e l’interpretazione dei risultati conseguiti, oggetto di pubblicazione (Barberio et al., 2014).

## Discussione e conclusioni

Le nanotecnologie hanno interessanti applicazioni e vantaggiosi utilizzi, ma possono causare impatti indesiderati per la salute e l'ambiente. Lo stato dell'arte ha evidenziato la necessità di reperire maggiori informazioni sui NM per condurre appropriate valutazioni sui rischi di tali tecnologie. In particolare si osservano i seguenti aspetti:

- L'importanza di analizzare l'intero ciclo di vita e non solo la fase della produzione in quanto durante il fine vita dei prodotti vi è un forte potenziale di rilascio di NP e NM dai sistemi di trattamento (depuratori, inceneritori e discariche) in ambiente (Muller e Nowack, 2008).
- La necessità di dati consistenti che consentirebbero una migliore comprensione delle criticità. In particolare è importante nella stesura dell'inventario documentare anche il potenziale rilascio di nanoparticelle in fase di produzione. È determinante quindi una interazione più stretta con le aziende per reperire dati robusti ed accurati
- La necessità di definire metriche appropriate (ad esempio: superficie, numero di concentrazione ecc.), per migliorare il collegamento tra l'esposizione e gli effetti e facilitare l'esecuzione del RA e di LCA dei NM.
- L'importanza di includere categorie d'impatto relative alla tossicità ed ecotossicità, elaborando opportuni fattori di caratterizzazione. Nel metodo USETOX, che analizza le tossicità

delle sostanze, si sta cercando di inserire la parte relativa ai fattori di caratterizzazione per alcuni NM (Salieri et al., 2013).

- La necessità di svolgere analisi di scala. Può accadere che la valutazione degli impatti dei NM sia una parte trascurabile rispetto all'unità funzionale scelta per lo studio di LCA. Ciò nonostante, se si effettua una valutazione su un mercato che includa quantità significative di prodotto, gli impatti potrebbero risultare significativi (Dhingra, 2010).
- Gli impatti relativi a esposizione occupazionale non sono presenti attualmente nel LCA, ma è stato avviato un filone di ricerca per includere questo aspetto, grazie anche a un utilizzo combinato con il RA occupazionale.
- Gli aspetti socio-economici sono rilevanti soprattutto nella fase di sviluppo di una tecnologia emergente.
- La necessità di determinare appropriate procedure per la valutazione del pericolo per la salute umana e l'ambiente e per la stima del rischio per i NM, che comporta anche la necessità di standardizzare i test di tossicità ed ecotossicità (in vivo e vitro) per i NM. Alcuni tentativi esistono già come quello promosso dall'OECD<sup>7</sup>, ma non sono ancora esaustivi.
- La necessità di definire quelle che sono le vie di esposizione ai NM (dermatologica, inalatoria,...) e i comparti ambientali di diffusione.

Lo stato dell'arte ha inoltre evidenziato che l'utilizzo combinato delle metodologie di LCA e RA ne-

gli studi di letteratura può avvenire con approccio "LC-based RA", in cui viene condotto un RA con prospettiva di ciclo di vita, ovvero il RA è sviluppato sulle varie fasi del ciclo di vita della sostanza; o con approcci "RA-complemented LCA" in cui il LCA è completato da RA qualitativi/quantitativi in specifiche fasi del ciclo del prodotto. Le metodologie hanno differenti confini del sistema e mancano di un comune oggetto di studio (unità funzionale in LCA e quantità di sostanza in RA) e pertanto per ragioni metodologiche sono di difficile integrazione; inoltre hanno differenti caratteristiche, necessitano di differenti set di dati e possono portare a risultati contrastanti. Alcuni dei principali suggerimenti per usi combinati sono simili a quelli usati per le sostanze chimiche (Grieger et al., 2012) e sono: di tener conto di approccio ciclo di vita nel RA e di fare RA per ogni fase del ciclo di vita inserendo ove possibile i risultati nell'LCIA; di elaborare scenari attraverso la consultazione di esperti; di usare stessa terminologia. A parte i suggerimenti e alcune raccomandazioni, la maggior parte degli studi scientifici non riporta esempi di applicazione e casi studio che invece si possono rinvenire come esempi sporadici in alcune strategie individuali sviluppate a livello di Stato (US-EPA, 2009) o di centro di ricerca (Davis, 2007; Barberio et al., 2014). ●

Grazia Barberio  
 ENEA, Unità Tecnica Tecnologie Ambientali  
 Simona Scalbi, Patrizia Buttol, Paolo Masoni  
 ENEA, Unità Tecnica Modelli, Metodi e Tecnologie per  
 le Valutazioni Ambientali  
 Serena Righi  
 CIRSA - Università di Bologna

- [1] Auffan M, Rose J, Bottero J-Y, Lowry GV, Jolivet J-P, Wiesner MR. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat Nano* 4 (10):634–641. 2009
- [2] Barberio G, Scalbi S., Buttol P, Masoni P. e Righi S. Combining Life Cycle Assessment and qualitative Risk Assessment: the case study of alumina nanofluid production. *Science of the Total Environment* 496 (2014) 122–131
- [3] Bauer C, J. Buchgeister a, R. Hischer b, W.R. Poganietz a, L. Schebek a, J. Warsen, Towards a framework for life cycle thinking in the assessment of nanotechnology, *Journal of Cleaner Production* 16, 910-926. 2008
- [4] Brouwer DH. Control Banding Approaches for Nanomaterials. *Ann. Occup. Hyg.*, Vol. 56, No. 5, pp. 506–514, 2012
- [5] Cornelissen R, Jongeneelen, F, van Broekhuizen F. Guidance working safely with nanomaterials and products, the guide for employers and employees. Document 1113. Amsterdam, The Netherlands: IVAM. 2011
- [6] Davis, J. M. How to assess the risks of nanotechnology: Learning from past experience. *J. Nanosci. Nanotechnol*, 7, 402–409. 2007
- [7] Dhingra R, Naidu S, Upreti G and Sawhney R. Sustainable Nanotechnology: Through Green Methods and Life-Cycle Thinking. *Sustainability*. 2, 3323-3338. 2010
- [8] Finnveden G., Hauschild M.Z., Ekvall T., Guinée J., Heijungs R., Hellweg S., Koehler A., Pennington D., Suh S. Recent developments in Life Cycle Assessment. *Journal of Environmental Management*, vol 91, pp 1–21. 2009
- [9] Gallo L. Valutazione ambientale per i nanomateriali e le nanotecnologie: Aspetti metodologici. LCA di nanocristalli quantum-dot. Tesi di laurea di ingegneria ambientale, Università degli Studi di Bologna. 2011
- [10] Gavankar S, Sangwon S, Keller A. Life cycle assessment at nanoscale: review and raccomandations. *Int. J. of Life Cycle Assessment*, Vol. 17, pp. 295-303. 2012
- [11] Gottschalk, F.; Sonderer, T.; Scholz, R. W.; Nowack, B. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 43, 9216–9222. 2009
- [12] Grieger KD, Laurent A, Miseljic M, Christensen F, Baun A, Olsen SI. Analysis of current research addressing complementary use of life-cycle assessment and risk assessment for engineered nanomaterials: have lessons been learned from previous experience with chemicals? *J Nanopart Res*, 14:958. 2012
- [13] Groso, A.; Petri-Fink, A.; Magrez, A.; Riediker, M.; Meyer, T. Management of nanomaterials safety in research environment. Part. *Fibre Toxicol*, 7, No. 40. 2010
- [14] Grubb GF, Bakshi BR. Life Cycle of Titanium Dioxide Nanoparticle Production Impact of Emissions and Use of Resources. *Journal of Industrial Ecology*, vol. 15 n. 1, 81 – 95. 2010
- [15] Hansen S. F.; Baun, A. When enough is enough. *Nat. Nanotechnol.*, 7, 409–411. 2012
- [16] Hansen SF, Larsen BH, Olsen SI, Baun A, "Categorization framework to aid hazard identification of nanomaterials", *Nanotoxicology*, 1-8, 2007
- [17] Healy ML, Dahliben LJ, Isaacs JA. Environmental assessment of single-walled carbon nanotube processes. *J Ind Ecol* 12(3):376–393. 2008
- [18] Hristozov, D. R.; Gottardo, S.; Critto, A.; Marcomini, A. Risk assessment of engineered nanomaterials: A review of available data and approaches from a regulatory perspective. *Nanotoxicology*, 6(8): 880-898. 2012
- [19] Joshi S. Can Nanotechnology Improve the Sustainability of Biobased Products? The Case of Layered Silicate Biopolymer Nanocomposites. *Journal of Industrial Ecology*, Volume 12, n. 3, 474 – 489. 2008
- [20] Kandlikar M, Ramachandran G, Maynard A, Murdock B, Toscano WA. Health risk assessment for nanoparticles: A case for using expert judgment. *J Nanopart Res* 9:137–156. 2007
- [21] Khanna Vikas, Bhavik R. Bakshi, and L. James Lee, Carbon Nanofiber Production Life Cycle Energy Consumption and Environmental Impact, *Journal of Industrial Ecology*, Volume 12, n. 3, 394 – 410. 2008.
- [22] Klöpffer W., Curran M. A., Frankl P., Heijungs R., Olsen S. I. Nanotechnology and Life Cycle Assessment. Synthesis of Results Obtained at a Workshop Washington, DC 2–3 October 2006. European Commission, DG Research, Unit "Nano- and Converging Science and Technologies". Published jointly with the Woodrow Wilson International Center for Scholars. 2007.
- [23] Krishnan N, Boyd S, Somani A, Raoux S, Clark D, Dornfeld D. A Hybrid Life Cycle Inventory of Nano-Scale Semiconductor Manufacturing. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 3069–3075. 2008.
- [24] Linkov I, Bates ME, Canis LJ, Seager TP and Kaisler JM. A decision-directed approach for prioritizing research into the impact of NM on the environment and human health. *Nature Nanotechnology*, 1-4. 2011.
- [25] Meyer D, Curran, Gonzalez. An Examination of Existing Data for the Industrial Manufacture and Use of Nanocomponents and Their Role in the Life Cycle Impact of Nanoproducts. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 43, N. 5, 1256 – 1263. 2009
- [26] Meyer DE., MA Curran, MA. Gonzalez. An examination of silver nanoparticles in socks using screening-level life cycle assessment. *J Nanopart Res* 13:147–156. 2011
- [27] Mueller, N. C.; Nowack, B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4447–4453. 2008
- [28] Mulder K., Ferrer D., van Lente H. What is Sustainable Technology? Perceptions, Paradoxes and Possibilities. Greeleaf Publishing: Sheffield, UK. 2011
- [29] NIOSH, Managing the Health and Safety Concerns Associated with Engineered Nanomaterials. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Publication No.125. 2009
- [30] Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D., Yang, H. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology* 2, 8–43. 2005
- [31] O'Brien, N. and E. Cummins. Recent developments in nanotechnology and risk assessment strategies for addressing public and environmental health concerns. *Hum Ecol Risk Assess* 14(3): 568 - 592. 2008
- [32] Ostiguy C, Riediker M, Troisfontaines P. Development of a specific control banding tool for nanomaterials. ANSES. French agency for food, environmental and occupational health and safety. Request no.2008-SA-0407. 2010
- [33] Puzyn Tomasz, Leszczynska Danuta, and Jerzy Leszczynski. Toward the Development of "Nano-QSARs": Advances and Challenges. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. No. 22, 2494–2509. 2009
- [34] Robichaud CO, Tanzil D, Weilenmann U, Wiesner MR. Relative risk analysis of several manufactured nanomaterials: An insurance industry context. *Environ Sci Technol* 39(22): 8985–8994. 2005
- [35] Roes AL, Marsili, Nieuwlaar, Patel, Environmental and Cost Assessment of a Polypropylene Nanocomposite, *J Polym Environ*. 15:212–226. 2007
- [36] Saliari B., Olsen SI., Righi S. How to calculate the characterisation factor for nanoparticle? A case study on n-TiO<sub>2</sub>. Eds. Reale F., Scalbi S. Life Cycle Assessment e ottimizzazione ambientale: esempi applicativi e sviluppi metodologici. VII Convegno della Rete Italiana LCA. 27-28 June 2013, pp 330-335. ISBN: 978-88-8286-292-3. ROMA: ENEA. 2013

## bibliografia

- [37] Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks (SCENIHR). Risk assessment of products of nanotechnologies. European Commission. Health & Consumer Protection DG. Risk assessment. Brussels: Directorate C: Public Health and Risk Assessment, Unit C7. 2009
- [38] Sengul, H.; Theis, T.L.; Ghosh, S. Toward sustainable nanoproducts: An overview of nanomanufacturing methods. *J. Ind. Ecol.* 12, 329-359. 2008
- [39] Shatkin, J.A. *Nanotechnology: Health and Environmental Risks*; CRC Press/Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, p. 167. 2008
- [40] Som C, Berges M, Chaudry Q, Dusinska M, Fernandes TT, Olsen SI, Nowack B. The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts. *Toxicology* 269, 160–169. 2010
- [41] Som C, Nowack B, Krug HF and Wick P. Toward the development of decision supporting tools that can be used for safe production and use of nanomaterials, *Accounts of chemical research*, vol46, n.3, 863-872. 2013
- [42] Sweet L and Strohm B. Nanotechnology—Life-Cycle Risk Management. *Human and Ecological Risk Assessment*, 12: 528–551. 2006.
- [43] Technical guidance Document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances. Part I, II, III and IV. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2003
- [44] Tervonen T, Linkov I, Figueir JR, Steevens J, Chappell M, Merad M. Risk-based classification system of nanomaterials. *J. Nanopart. Res.* 11, 757–766. 2009
- [45] van der Meulen R, Alsema. Life-cycle greenhouse gas effects of introducing nanocrystalline materials in thin-film silicon solar cells. *Prog. Photovolt: Res. Appl.* 19:453–463. 2011
- [46] US-EPA (Environmental Protection Agency), Report [402-R-09-002], January 2009
- [47] van Duuren-Stuurman, B.; Vink, S. R.; Verbist, K. J. M.; Heussen, H. G. A.; Brouwer, D. H.; Kroese, D. E. D.; Van Niftrik, M. F. J.; Tielemans, E.; Fransman, W. *Stoffenmanager Nano Version 1.0: A web-based tool for risk prioritization of airborne manufactured nano objects.* *Ann. Occup. Hyg.* 56, 525–541. 2012
- [48] von Gleich A, Michael Steinfeldt, Ulrich Petschow. A suggested three-tiered approach to assessing the implications of nanotechnology and influencing its development. *Journal of Cleaner Production* 16 899-909. 2008
- [49] Walser T, Demou E, Lang DJ and Hellweg S. Prospective Environmental Life Cycle Assessment of Nanosilver T-Shirts. *Environ. Sci. Technol.* 45, 4570–4578. 2011
- [50] Wardak A, Gorman ME, Swami N. and Deshpande S. Identification of Risks in the Life Cycle of Nanotechnology-Based Products. *Journal of Industrial Ecology* pp435-448. 2008
- [51] Zalk DM, Nelson DI. History and evolution of control banding: a review. *J Occup Environ Hyg*; 5: 330–46. 2008
- [52] Zamagni A., Buonamici R., Buttol P., Porta P.L., Masoni P. Main R&D lines to improve reliability, significance and usability of standardised LCA. 2008. Technical report available at [www.calcasproject.net](http://www.calcasproject.net)
- [53] Zuin, S.; Micheletti, C.; Critto, A.; Pojana, G.; Johnston, H.; Stone, V. Weight of evidence approach for the relative hazard ranking of nanomaterials. *Nanotoxicology* 5,445–458. 2011

## note

1. Review of Environmental Legislation for the Regulatory Control of Nanomaterials , September 2011; Second Regulatory Review on Nanomaterials, October 2012
2. Raccomandazione della Commissione Europea del 18/10/2011
3. Regolamento (CE) n. 1907/2006 su registrazione, valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche
4. Chemical Safety Database Searcher -CSDS, Stanford Chemical Safety Database - SCSD; Hazardous Substances Data Bank - HSDB; Chemical Carcinogenesis Research Information System – CCRIS; NAPIRAhub open science
5. International Risk Governance Council. White paper No. 2: nanotechnology risk governance. [http://www.irgc.org/IMG/pdf/PB\\_nanoFINAL2\\_2\\_.pdf](http://www.irgc.org/IMG/pdf/PB_nanoFINAL2_2_.pdf) (accessed 2011 December)
6. <http://www.bag.admin.ch/nanotechnologie/12171/12174/index.html?lang=en>
7. Preliminary Review of OECD Test Guidelines for their Applicability to Manufactured Nanomateria, July 2009

# Gli Speciali di Energia, Ambiente e Innovazione

La rivista, oltre ai fascicoli a cadenza bimestrale, realizza numeri “Speciali” monografici su tematiche tecnico-scientifiche di attualità.

*Sette gli Speciali finora pubblicati:*

- Le tecnologie di Carbon Capture and Storage
- Forests: a millenary heritage that guarantees us life
- Verso la green economy: strategie, approcci e opportunità tecnologiche
- Knowledge, Diagnostics and Preservation of Cultural Heritage
- Biotecnologie per lo sviluppo sostenibile
- ENEA Technologies for Security
- Idee per lo sviluppo sostenibile

Tutti gli Speciali sono disponibili online.

