

RAPPORTO

N° 10/2017

VALUTAZIONE DI CENERI PRODOTTE DA CANDELE PIROTECNICHE TRAMITE INDAGINE NANODIAGNOSTICA DI MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE E MICROANALISI A RAGGI X.

Committente : RAI

Materiale in esame : candele pirotecniche

Responsabile: Dott.ssa Antonietta Gatti

Firma:

Data: 17 marzo 2017

Il presente rapporto si compone di 28 (ventotto) pagine eccetto la copertina.

Nota:

I risultati sono da riferirsi solo al materiale esaminato e per il tipo di applicazione richiesta.
In caso di riproduzione del presente documento, il Committente s'impegna a farlo solo in modo integrale.
Un'eventuale riproduzione parziale deve essere autorizzata per iscritto da Nanodiagnosics srl.

INDICE

1. Introduzione	3
2. Materiali.....	4
3. Preparazione dei campioni.....	6
4. Tipi di analisi eseguite	7
5. Risultati	8
Reperto 1. Ceneri di candela pirotecnica “gialla” Borgonovo	8
Reperto 2. Ceneri di candeletta magica Martarello	13
6. Conclusioni.....	27
7. Riferimenti bibliografici	28

1. Introduzione

Nanodiagnosics srl è un'azienda di consulenze scientifiche nei settori della medicina, dell'industria e dell'ecologia. L'attività principale è lo studio di campioni biologici e/organici mediante tecnica innovativa di microscopia elettronica ambientale con possibile identificazione di micro- e nanoparticelle inorganiche, cioè di corpi estranei derivanti da un'esposizione ambientale subita dal paziente. E' molto attiva anche nello studio di inquinamenti ambientali indoor e outdoor e nella valutazione della significatività delle polveri identificate in relazione alla salute umana e animale. Inoltre offre consulenze su materiali di varia natura, anche nanotecnologici.

Lo studio di microscopia può essere eseguito su qualsiasi campione (tessuti biologici, alimenti, farmaci, cosmetici, campioni ambientali, ecc.) anche parzialmente idratato (1,2).

L'indagine si avvale principalmente di un microscopio elettronico a scansione a emissione di campo di tipo ambientale (Field Emission Gun-Environmental Scanning Electron Microscope, Quanta 200, FEI Company, Paesi Bassi).

La metodica sviluppata permette di osservare campioni biologici senza alcuna ricopertura di carbone oppure di metalli preziosi quali l'Oro e il Palladio, al fine di renderli elettroconduttivi; cosa indispensabile con i normali microscopi elettronici a scansione. Applicando protocolli da adattare ad ogni tipo di osservazione, la tecnologia sviluppata in questo tipo di microscopio consente di esaminare campioni biologici, comprese cellule vive, senza intaccarne l'integrità, e per alcuni tipi di campioni di ripetere l'osservazione ogni volta lo si desidera. Il principale obiettivo dell'indagine, l'individuazione di micro- e nano-particolato inorganico eventualmente contenuto nell'esemplare in studio, viene quindi raggiunto senza alcun processamento del campione.

Ognuno dei preparati viene osservato in tutta la sua estensione sotto il microscopio in diverse modalità: SED (elettroni secondari) e BSE (elettroni retrodiffusi), in basso vuoto (0,98 Torr), a 10-30 KV e con spot vari a seconda dell'ingrandimento (da 6 a 4), con una distanza dal campione di 10 mm.

Sul particolato rilevato si punta la sonda microanalitica a raggi X per determinarne la composizione chimica. Una microanalisi a raggi X a dispersione d'energia (EDS, cioè Energy Dispersive Spectroscopy della EDAX, USA), misurando l'energia caratteristica

che i vari elementi costituenti il campione restituiscono sotto forma di radiazioni X dopo essere stati colpiti dal fascio elettronico emesso dalla sorgente, fornisce la composizione chimica elementare del particolato rinvenuto. Ogni reperto è stato debitamente fotografato ed archiviato insieme con lo spettro degli elementi individuati.

L'analisi non è distruttiva ed è ripetibile, con la sola eccezione dei fluidi, o campioni gelatinosi/grassi impossibili da recuperare.

L'indagine può essere svolta su campioni di origine biologica come biopsie, autopsie, liquidi organici o alimenti, ma è eseguibile anche su molti altri tipi di materiali quali, ad esempio, campioni ambientali, farmaci o cosmetici. Essendo l'oggetto principale dell'indagine di natura inorganica non biodegradabile, non ci sono difficoltà nell'individuare particolato del genere sia in campioni freschi sia in campioni d'archivio.

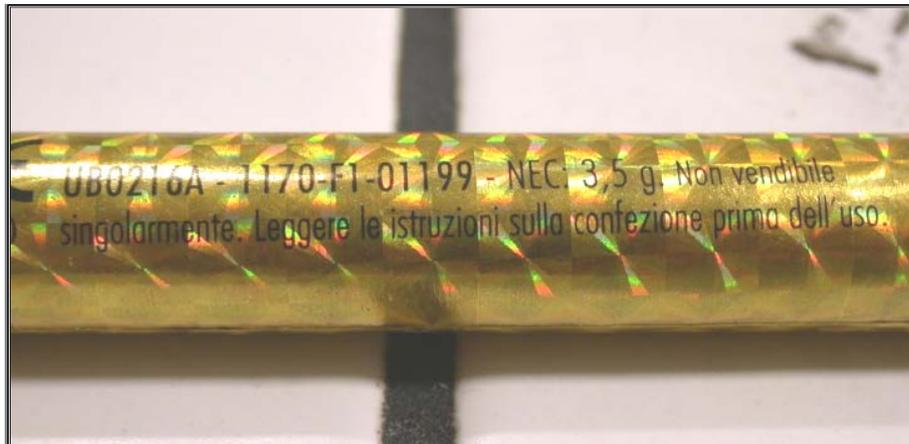
2. Materiali

Sono state analizzate due differenti tipologie di candele pirotecniche:

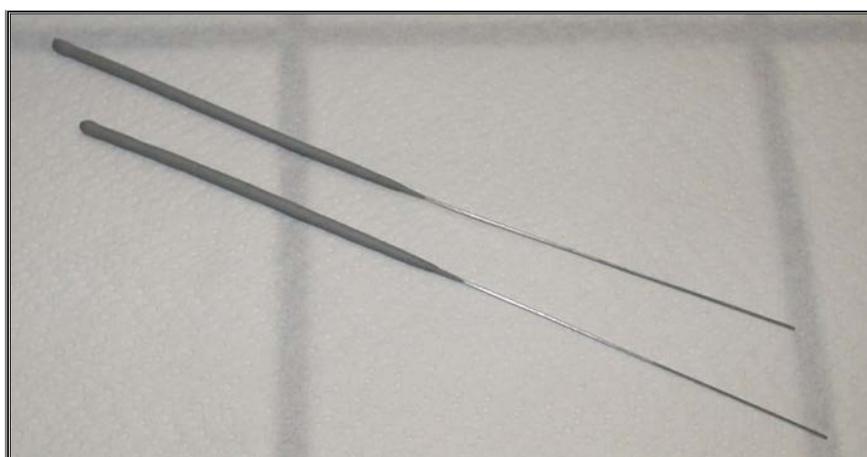
Reperto 1) Candela pirotecnica "gialla" – ditta U. Borgonovo Srl – Località Cascina Draga 20065 Inzago (MI), lotto UB0216A–1170–F1–01199.

Reperto 2) Candelette magiche da 18 cm – ditta Martarello Srl – Via Bassa Cornè, 655 – 45031 Arquà Polesine (RO), lotto 201400133.





Reperto 1 – candele Borgonovo



Reperto 2 – candele Martarello

3. Preparazione dei campioni

Le candele sono state accese e lasciate bruciare fino ad esaurimento completo.

Durante la combustione, le ceneri prodotte sono state raccolte per caduta e susseguente adesione su dischi adesivi in carbone montati su supporti in alluminio (stub) e posizionati al di sopra della fiamma prodotta dalle candele mediante una campana metallica.

Le combustione e la concomitante raccolta delle ceneri è stata realizzata sotto cappa aspirante spenta, in ambiente pulito e privo di altri tipi di polveri inquinanti. Successivamente i reperti sono stati posti in contenitori puliti per evitare ogni possibile contaminazione fino al momento dell'osservazione al microscopio elettronico.

Al fine di simulare ciò che accade durante il normale utilizzo del prodotto, la candela corrispondente al reperto 2 è stata montata su due prodotti di pasticceria (paste alla crema). Le ceneri cadute sulla superficie delle paste sono state raccolte e depositate su disco adesivo in carbone montato su supporto in alluminio. Il campione è stato posto in contenitore pulito e lasciato asciugare in ambiente protetto per 24 ore, fino al momento dell'analisi al microscopio elettronico.





*Ceneri cadute sulla superficie delle paste dopo combustione delle candele del reperto 2.
I residui sono ben visibili anche ad occhio nudo.*

4. Tipi di analisi eseguite

Lo studio del reperto in esame ha verificato l'eventuale presenza di corpi estranei nel tessuto biologico, mediante tecnica di microscopia elettronica a scansione ambientale (FEG – ESEM Quanta 200, FEI), mentre la microanalisi a raggi X (EDS) ha valutato la composizione chimica come descritto al paragrafo 1. Nessun processamento è stato eseguito sulla sezione del reperto che è stato, quindi, esaminato tal quale.

La metodica, risultato del progetto comunitario europeo QLRT-2002-147 (Nanopathology), permette di valutare anche la presenza di particelle di dimensioni nanometriche (vedi riferimenti bibliografici 1 e 2).

5. Risultati

Le analisi di microscopia elettronica hanno messo in evidenza la presenza nella sezione di particolato con composizione chimica diversa. Le Tabelle riportano caso per caso, le morfologie, dimensioni e composizione chimica delle varie particelle identificate.

I risultati morfologici e chimici del campione sono mostrati nelle immagini successive. I picchi dello spettro che non riportano indicazioni dell'elemento a cui si riferiscono sono picchi secondari di un elemento già segnalato in coincidenza del picco principale.

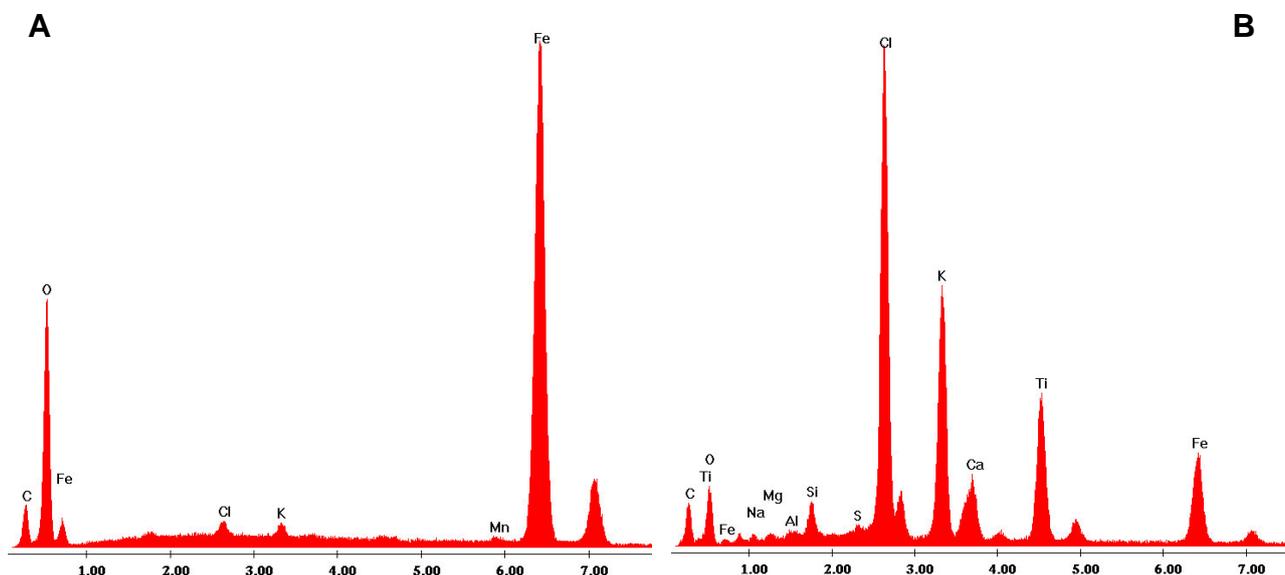
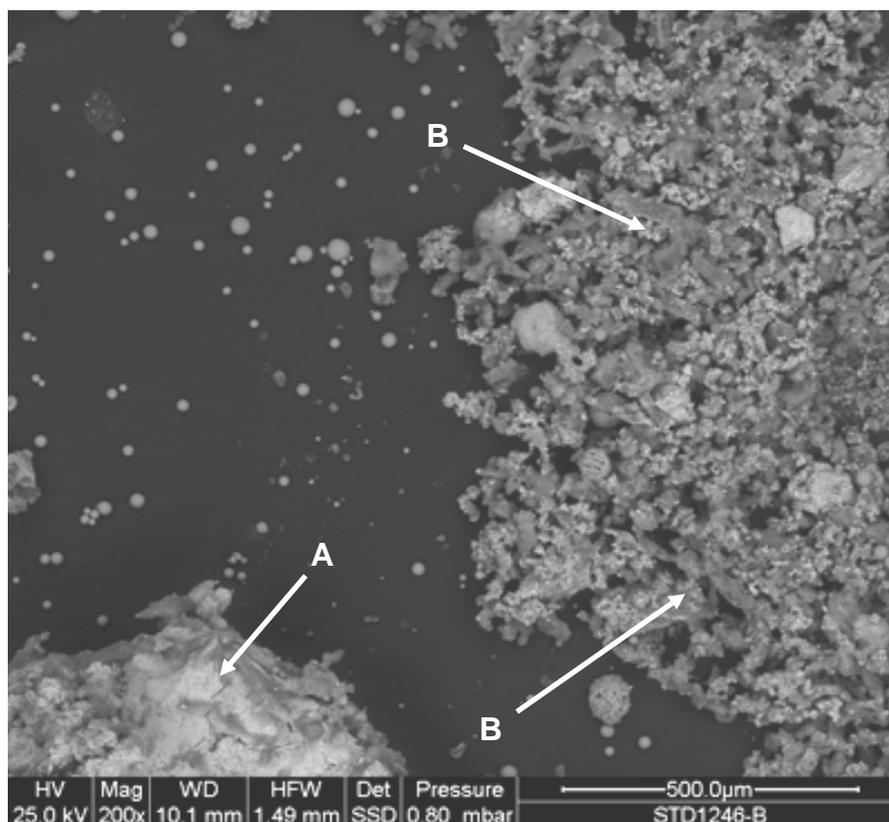
Nota: l'elenco degli elementi nelle tabelle osserva il criterio di maggior rappresentatività dell'elemento nello spettro EDS. La successione degli elementi inizia da quelli con il picco EDS più alto.

Reperto 1. Ceneri di candela pirotecnica “gialla” Borgonovo

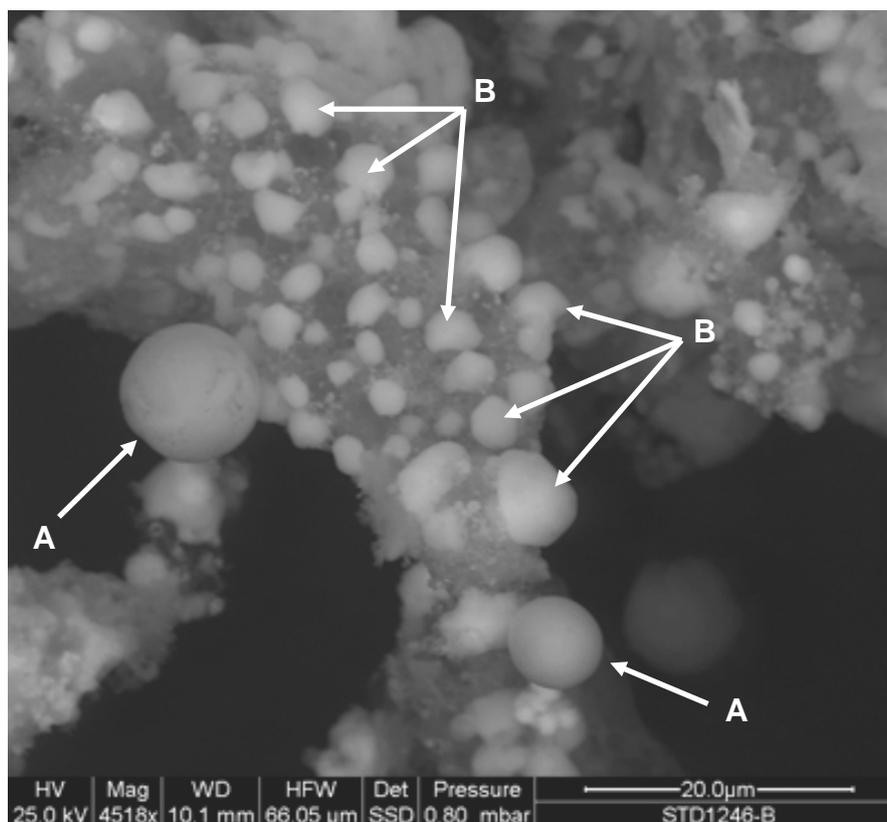
La tabella riassume tutte le analisi più significative eseguite sul campione.

Tabella I. Analisi EDS del reperto 1.

N. analisi	Descrizione	Elementi presenti
1	accumulo in basso a sinistra - 200x	Fe,O,C,Cl,K,Mn
	accumulo a destra - 200x	Cl,K,Ti,Fe,Ca,O,Si,C,S,Al,Mg,Na
2	sferule 7 e 10 μm - 4.518x	Ti,O,Cl,K,Fe,C
	detriti chiari 0,2-7 μm - 4.518x	Cl,K,Ti,Fe,O,C,Na
3	sferule 4 e 30 μm - 7.000x	Ti,O,Cl,K,Fe,C
4	detrito 200 μm - 1.196x	Cl,O,Ti,C,K
	sferule 1-50 μm - 1.196x	Ti,O,Cl,C

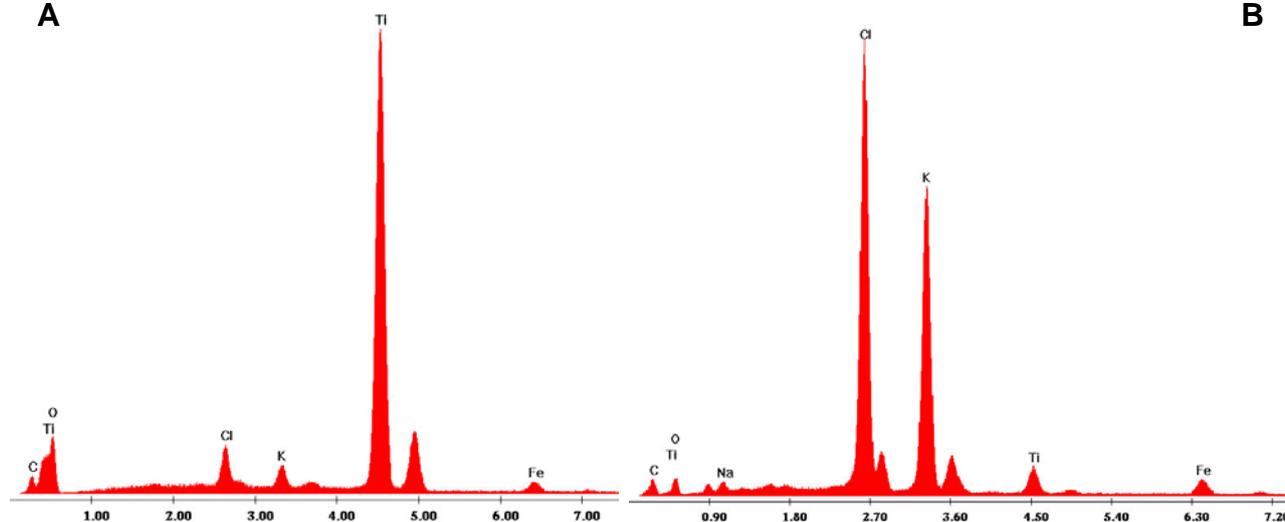


Analisi 1 della tabella I. La figura mostra una zona del campione a basso ingrandimento (200x) in cui sono visibili accumuli di residui della combustione. Le analisi EDS mostrano che l'accumulo visibile in basso a sinistra è composto da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Cloro, Potassio, Manganese (Fig. A) mentre quello sul lato destro dell'immagine è composto da Cloro, Potassio, Titanio, Ferro, Calcio, Ossigeno, Silicio, Carbonio, Zolfo, Alluminio, Magnesio e Sodio (Fig. B).

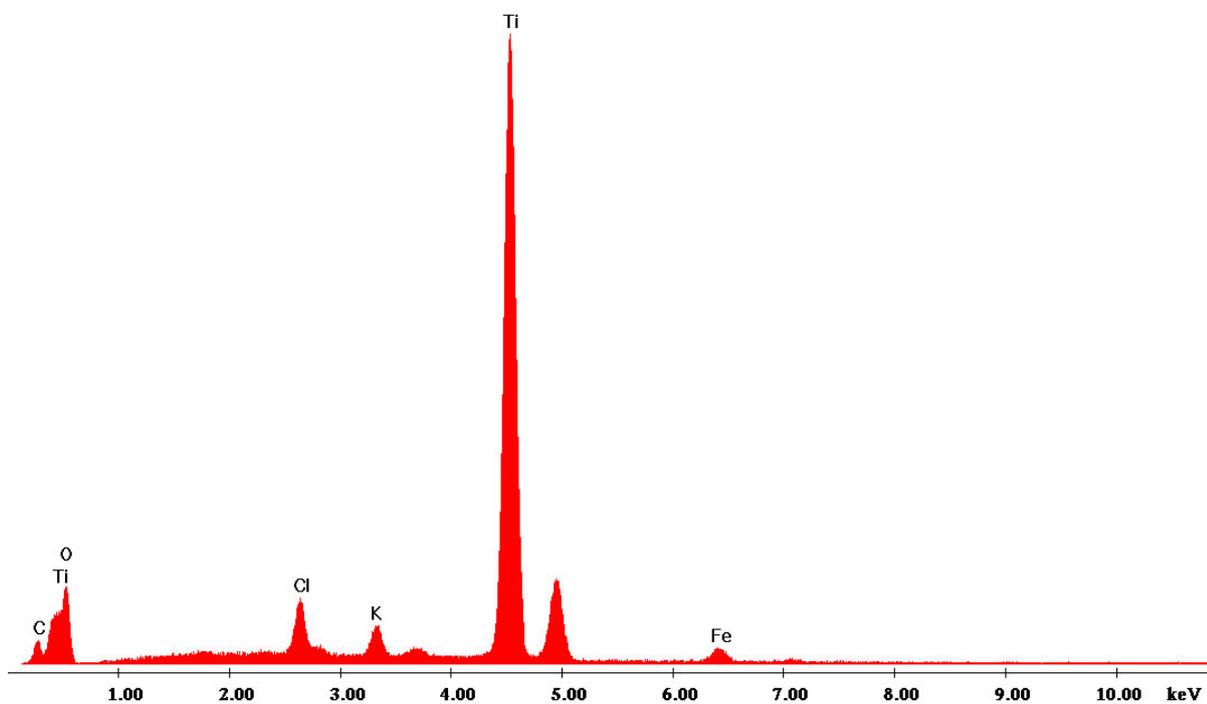
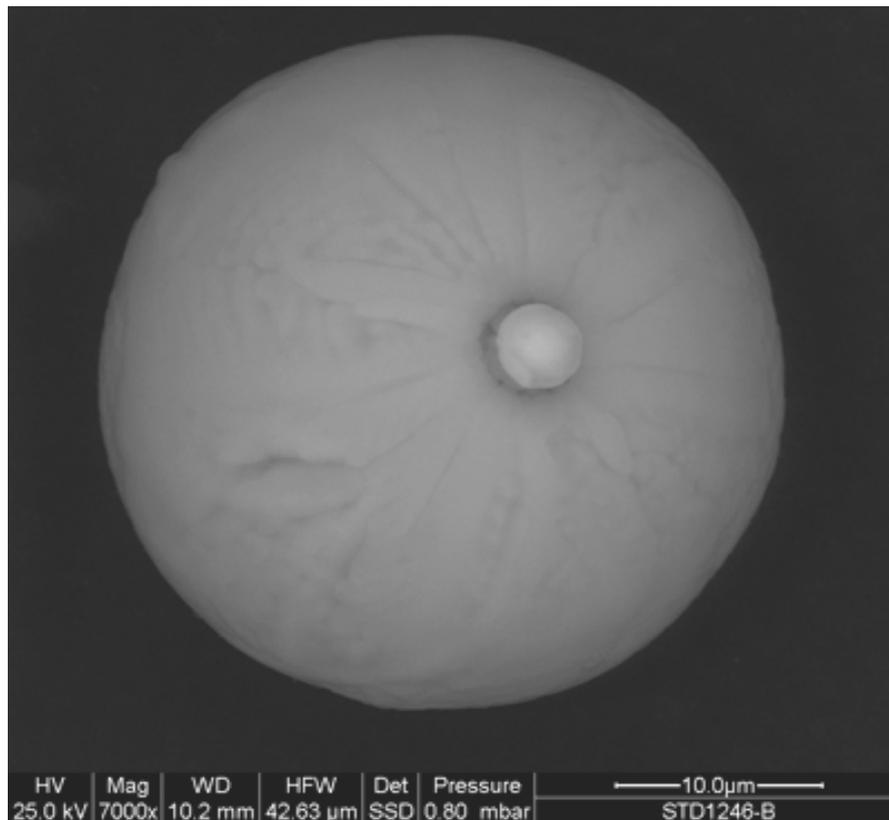


A

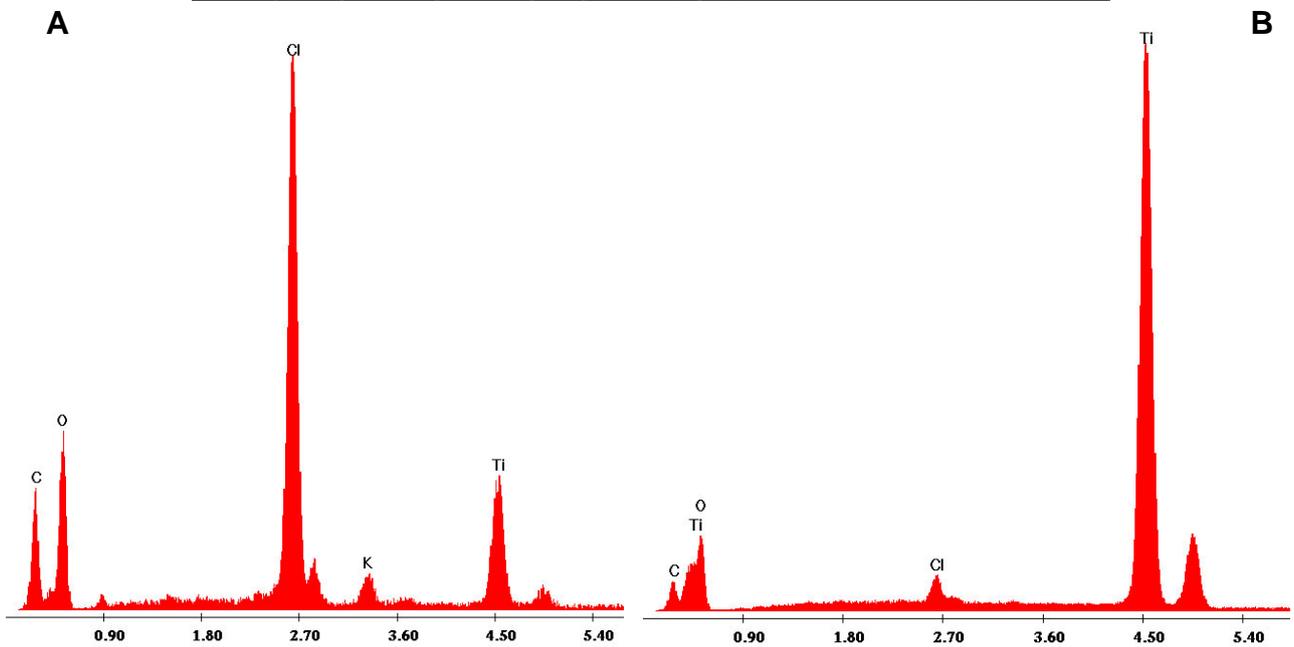
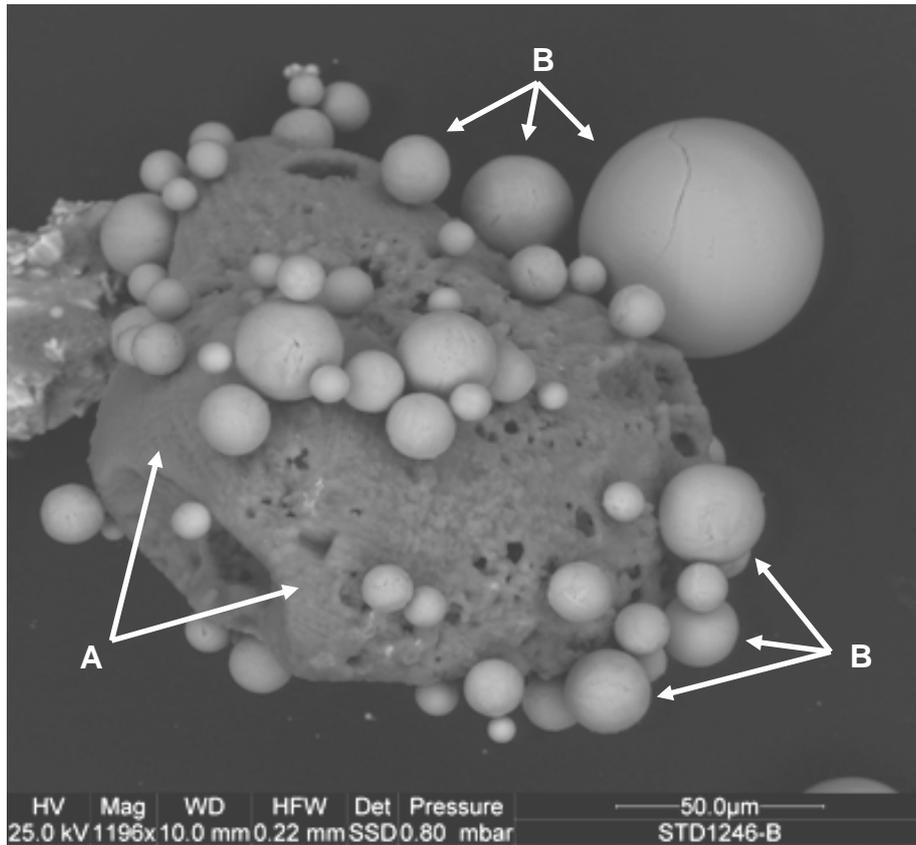
B



Analisi 2 della tabella I. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (4.518x) in cui sono visibili alcuni detriti e sferule. Le analisi EDS mostrano che le due sferule da 7 e 10 micron sono composte da Titanio, Ossigeno, Cloro, Potassio, Ferro, Carbonio (Fig. A) mentre i detriti che appaiono chiari di dimensioni comprese tra 0,2 e 7 micron, inglobati in una matrice che appare più scura, sono composti da Cloro, Potassio, Titanio, Ferro, Ossigeno, Carbonio e Sodio (Fig. B).



Analisi 3 della tabella I. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (7.000x) in cui sono visibili due sferule da 4 e 30 micron. Le analisi EDS mostrano che esse sono composte da Titanio, Ossigeno, Cloro, Potassio, Ferro e Carbonio.



Analisi 4 della tabella I. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (1.196x) in cui è visibile un grosso detrito da 200 micron e numerose sferule di diametro compreso tra 1 e 50 micron. Le analisi EDS mostrano che il detrito è composto da Cloro, Ossigeno, Titanio, Carbonio, Potassio (Fig. A) mentre le sferule sono composte da Titanio, Ossigeno, Cloro, Carbonio (Fig. B).

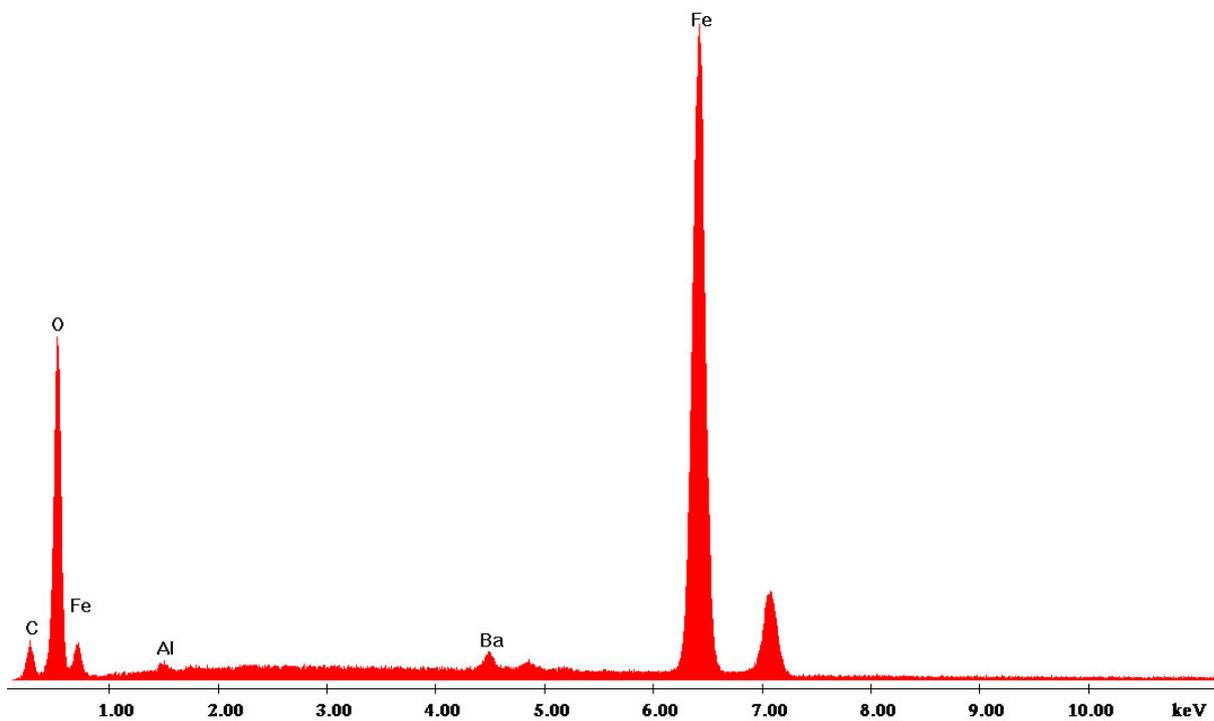
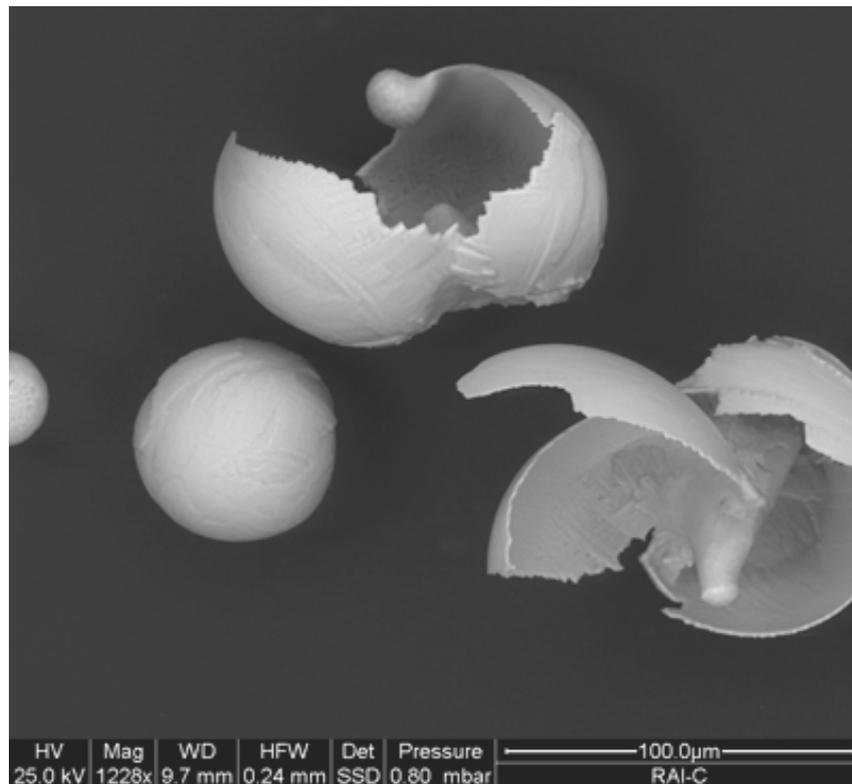
Reperto 2. Ceneri di candeletta magica Martarello

Le tabelle riassumono tutte le analisi più significative eseguite sui campioni.

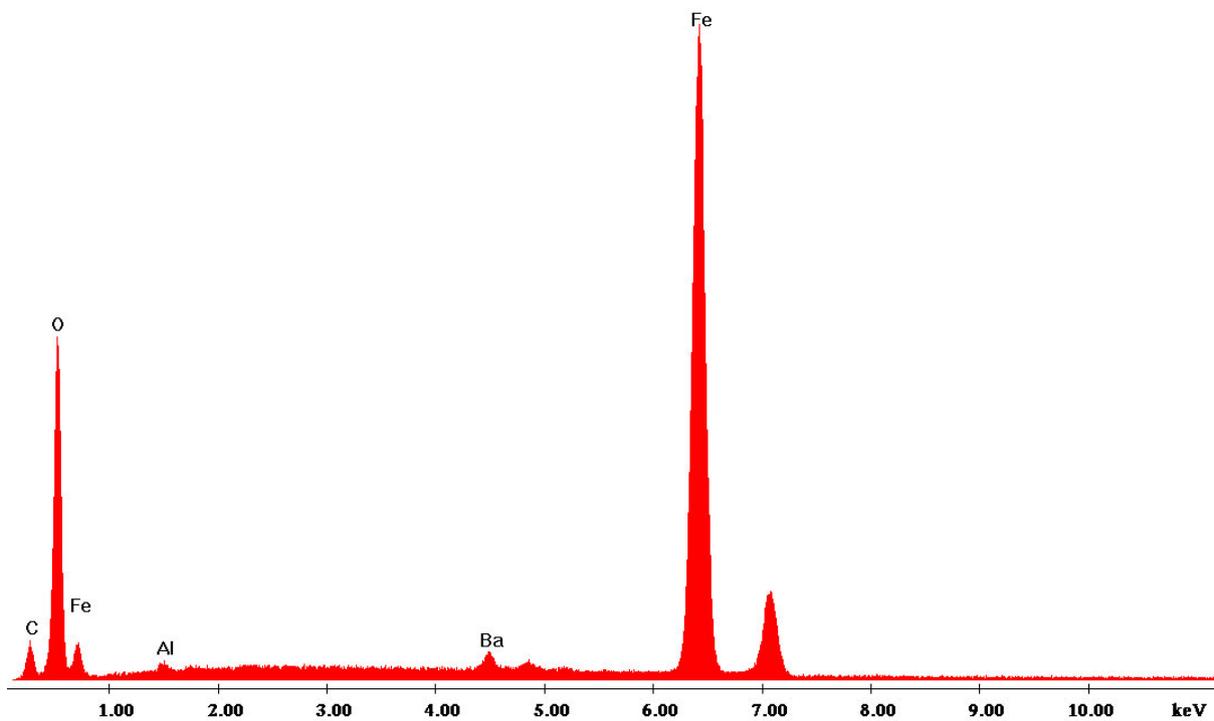
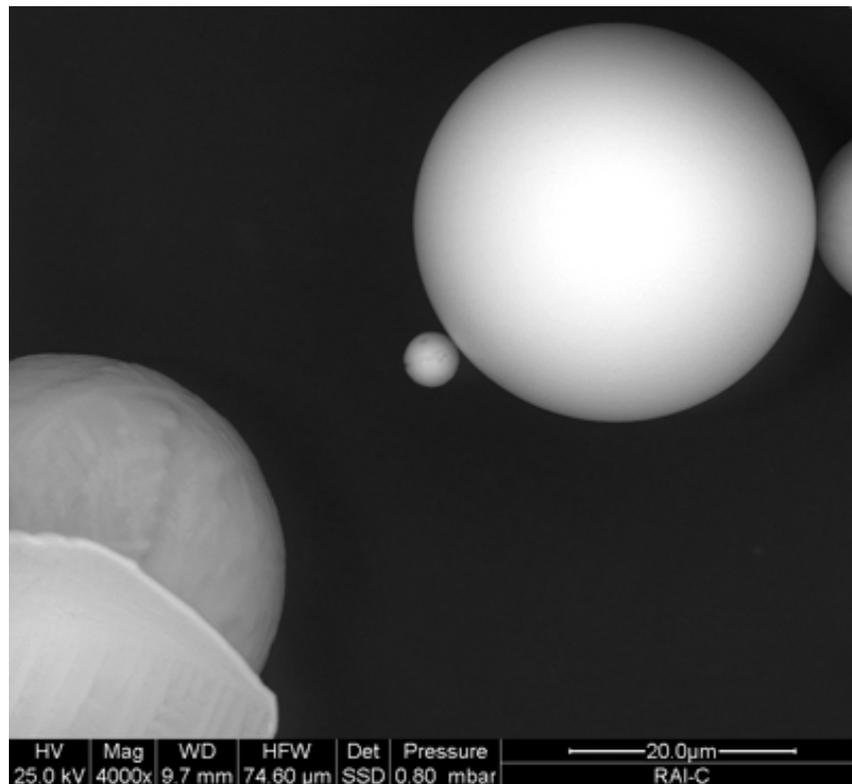
Ceneri raccolte per caduta ed immediatamente successiva adesione su disco adesivo in carbone durante combustione.

Tabella II-A. Analisi EDS del reperto 2.

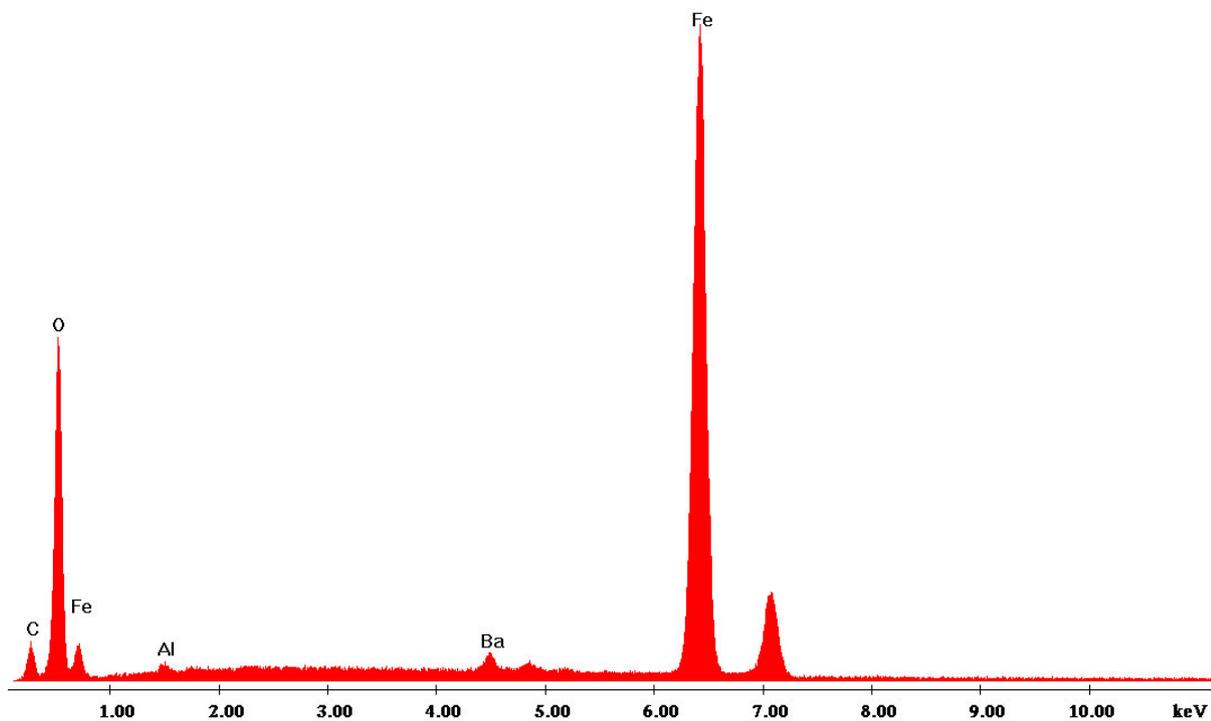
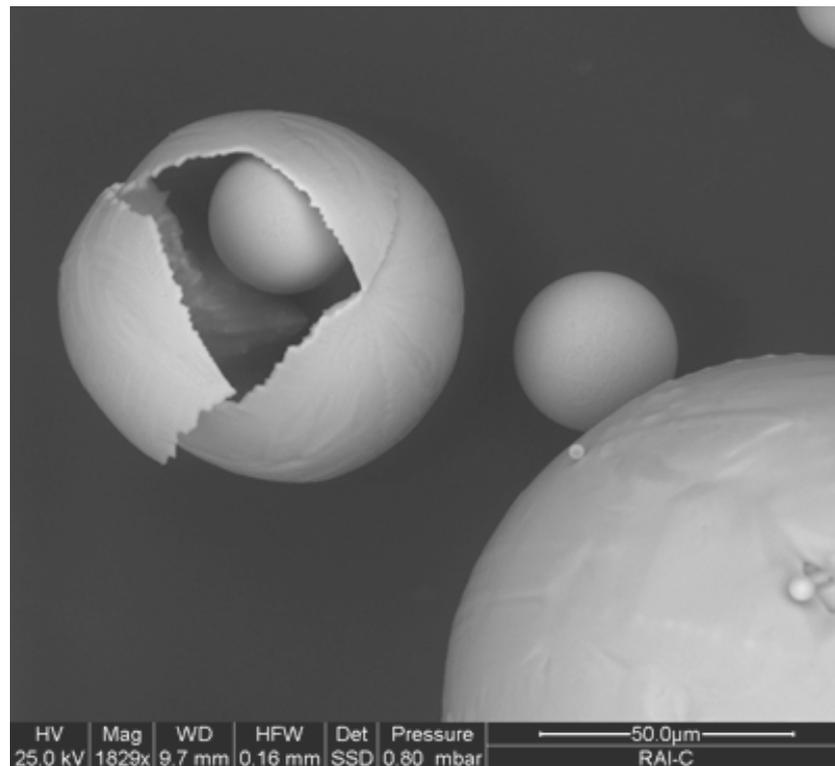
N. analisi	Descrizione	Elementi presenti
1	sferule rotte 20-100 μm - 1.228x	Fe,O,C,Ba,Al
2	sferule 2-40 μm - 4.000x	Fe,O,C,Ba,Al
3	sferule 3-150 μm - 1.829x	Fe,O,C,Ba,Al
4	sferula cava 100 μm - 1.725x	O,Ba,Al,C,Fe,Si,Ca
5	sferule 20-150 μm - 500x	Fe,O,C,Ba,Al
6	sferula 70 μm - 3.150x	Fe,O,C,Ba,Al
7	sferula 70 μm - 3.171x	Fe,O,C,Ba,Al
8	sferula 200 μm - 400x	O,Ba,Al,Fe,Si,Ca,C
9	sferule 4 e 9 μm - 4.050x	Fe,O,C,Ba,Al
10	sferule cave 10-80 μm - 2.000x	Fe,O,C,Ba,Al
11	sferule 5-250 μm - 263x e 1.014x	Fe,O,C,Ba,Al
		O,Ba,Al,Fe,Si,Ca,C



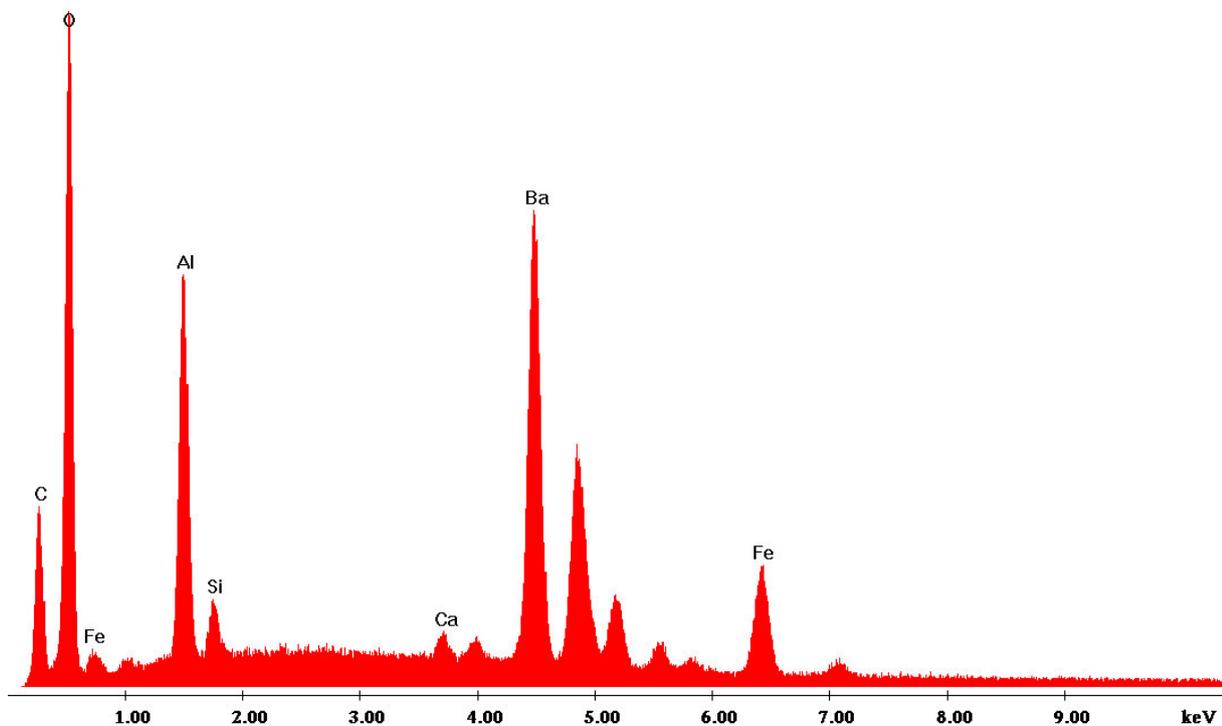
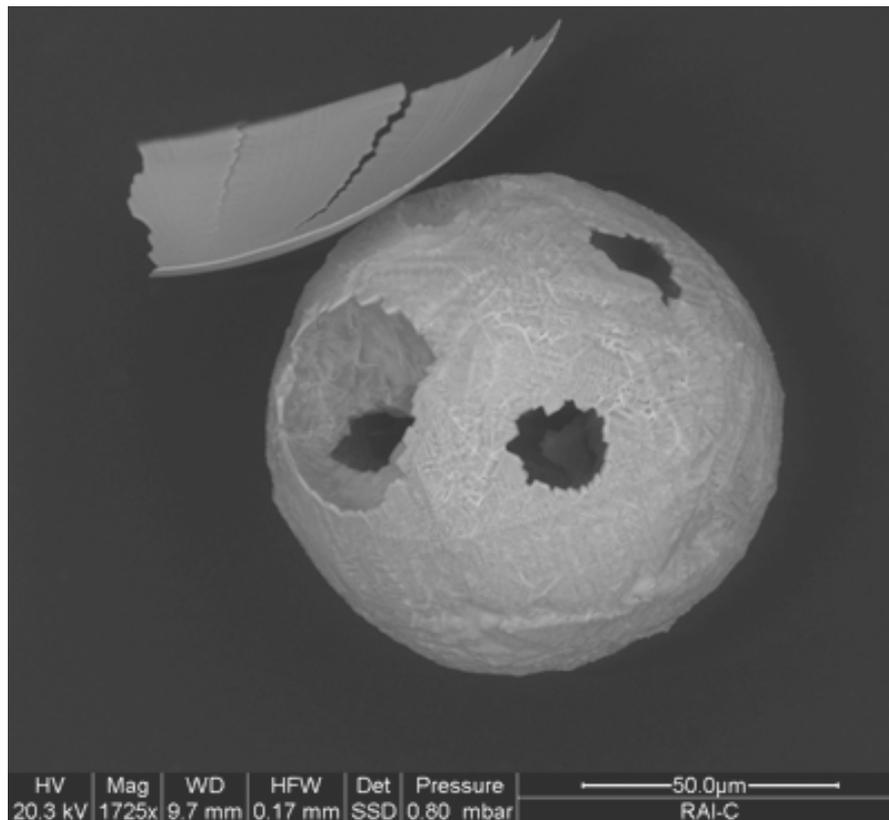
Analisi 1 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (1.228x) in cui sono visibili alcune sferule (alcune delle quali evidentemente cave) di dimensioni comprese tra 20 e 100 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



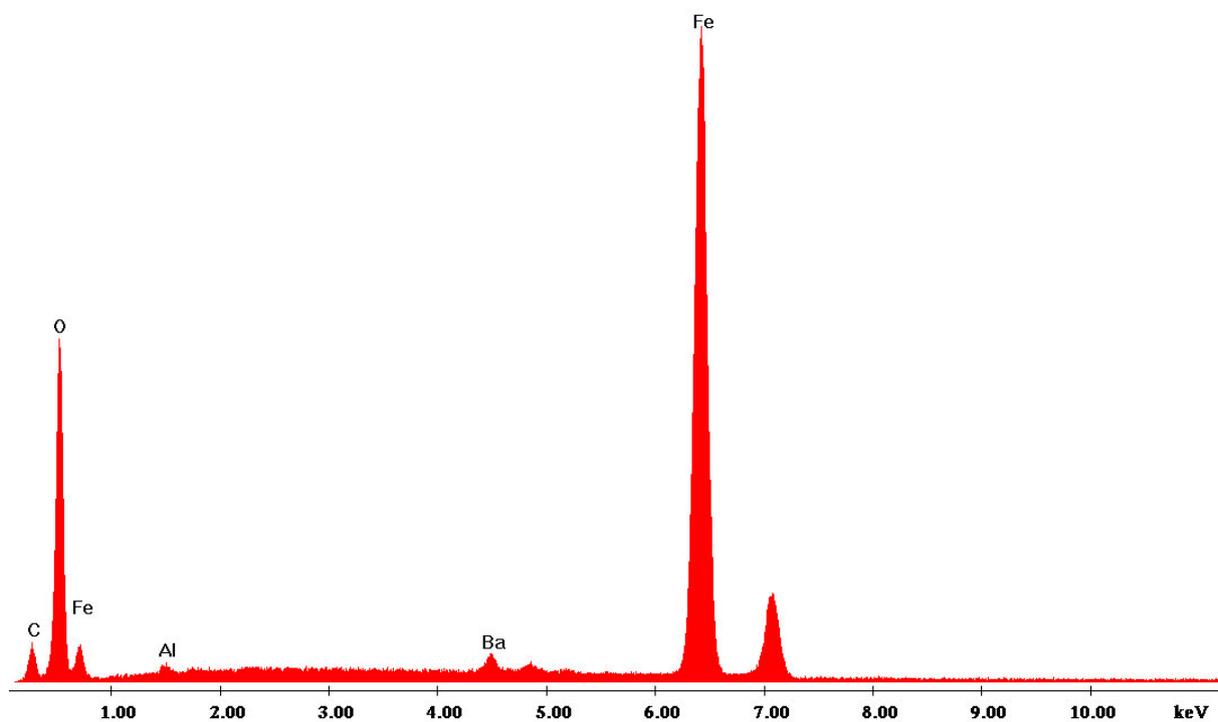
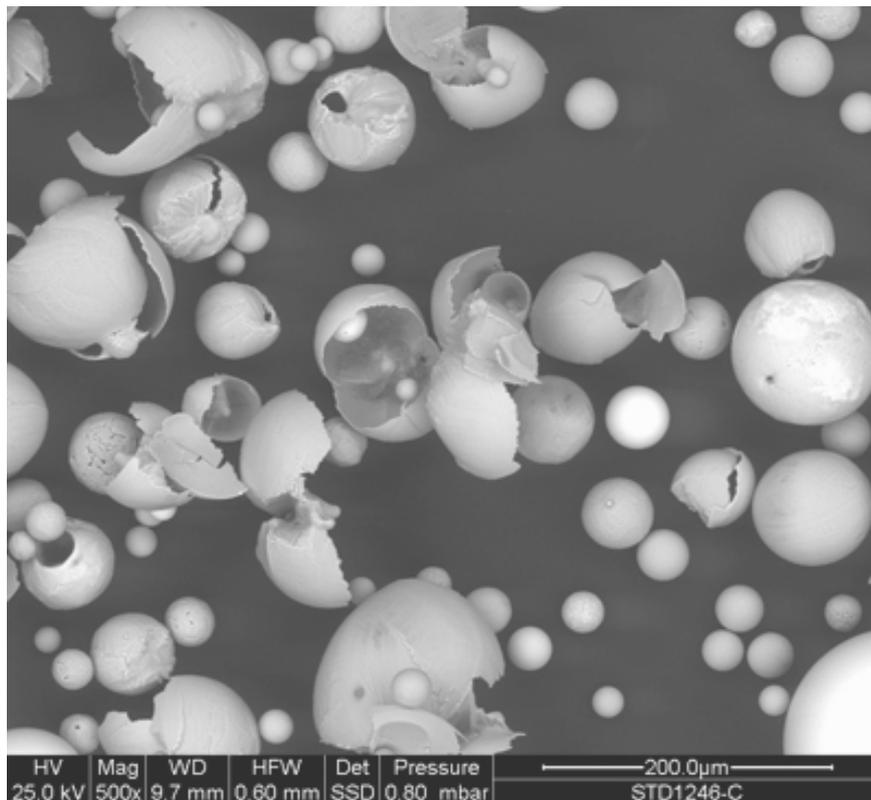
Analisi 2 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (4.000x) in cui sono visibili alcune sferule di dimensioni comprese tra 2 e 40 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



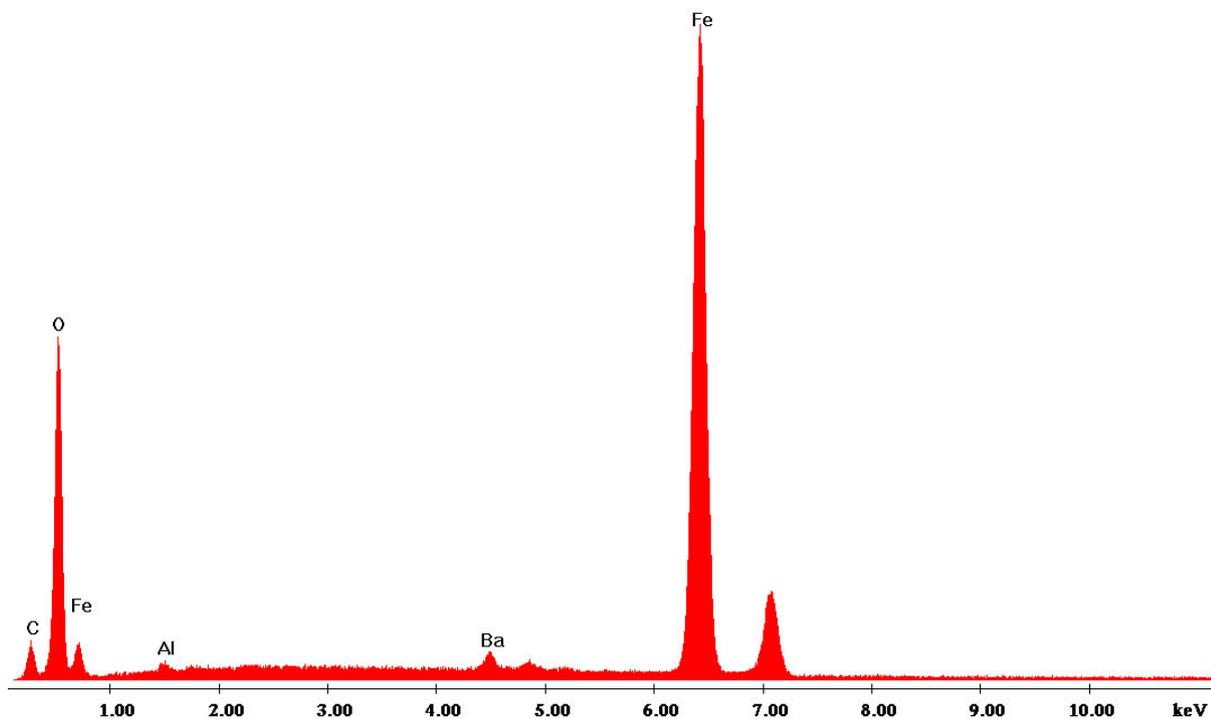
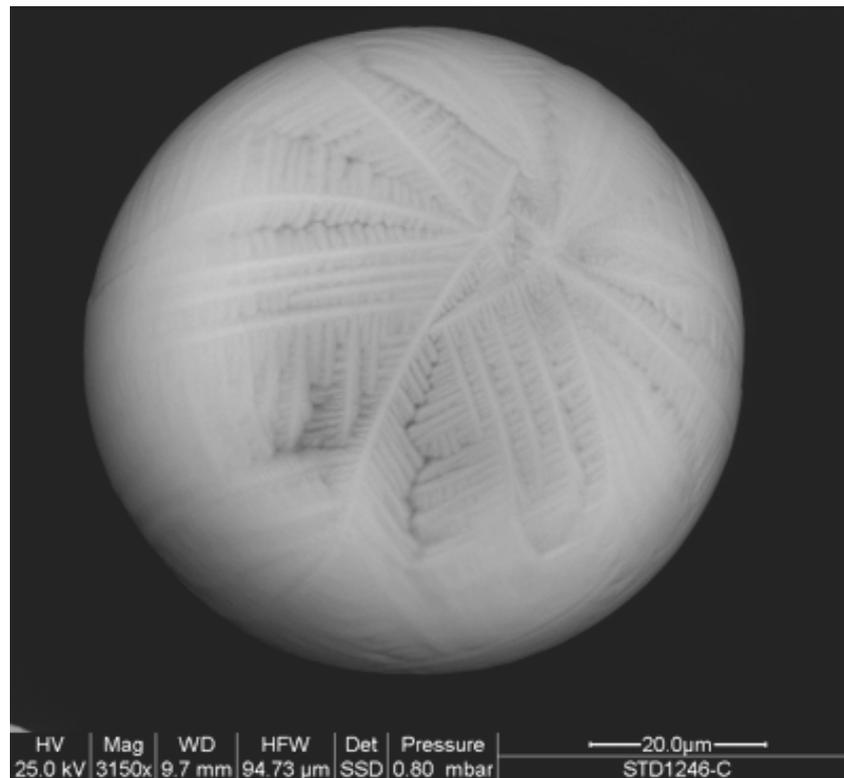
Analisi 3 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (1.829x) in cui sono visibili alcune sferule (una delle quali visibilmente cava) di dimensioni comprese tra 3 e 150 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



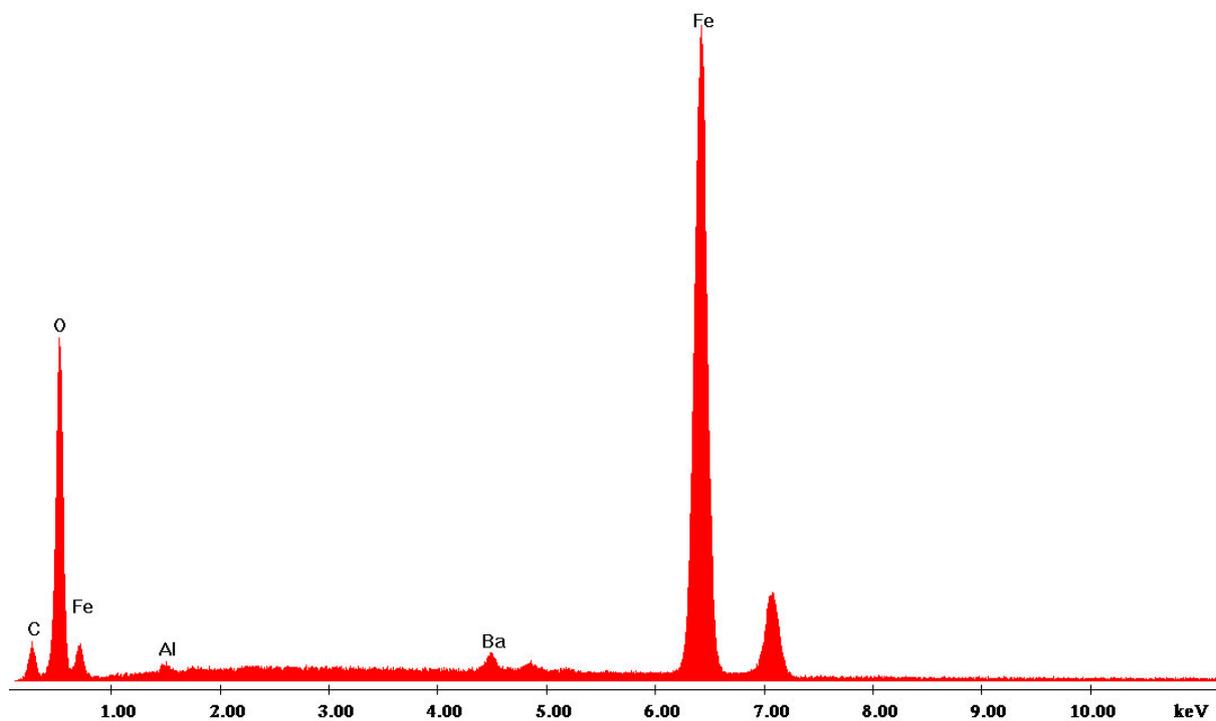
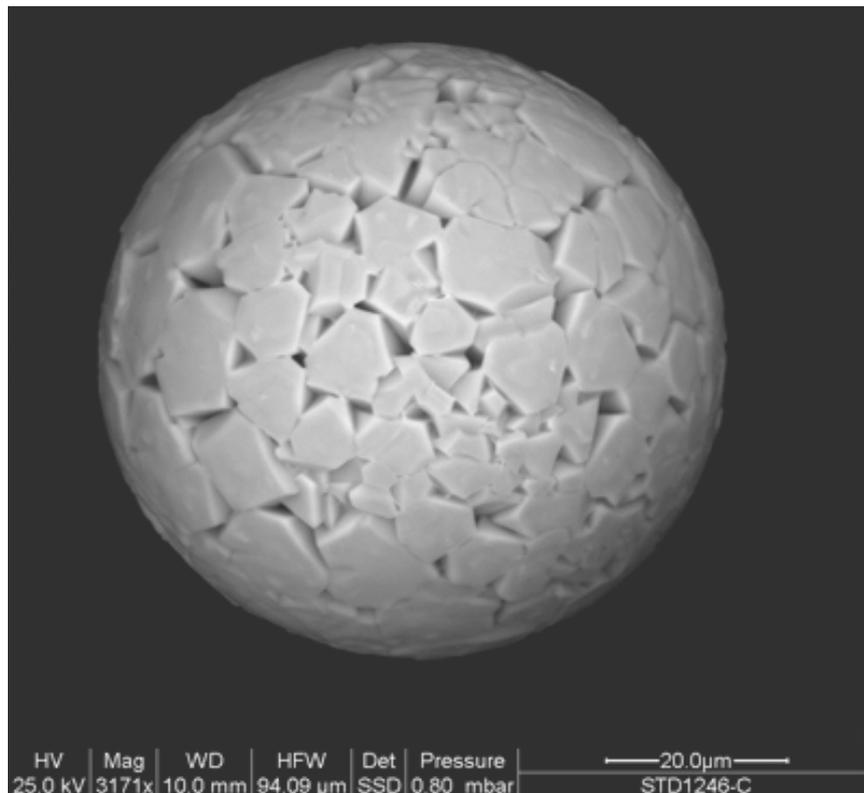
Analisi 4 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (1.725x) in cui è visibile una sferula cava da 100 micron. L'analisi EDS mostra che essa è composta da Ossigeno, Bario, Alluminio, Carbonio, Ferro, Silicio, Calcio.



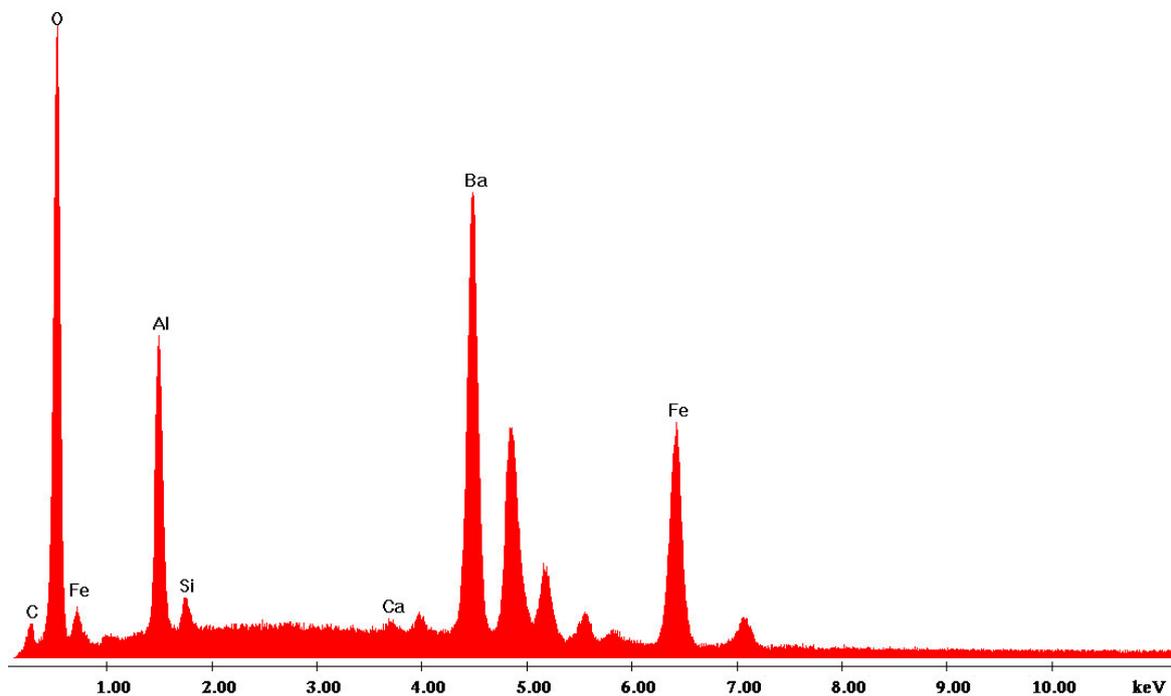
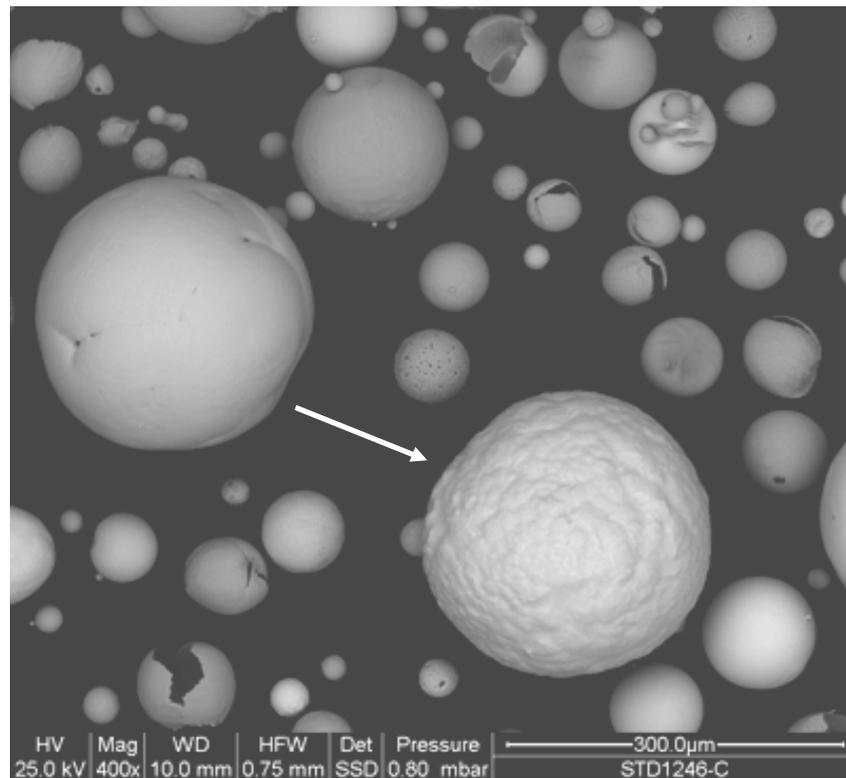
Analisi 5 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione a medio ingrandimento (500x) in cui sono visibili alcune sferule (alcune delle quali cave) di dimensioni comprese tra 20 e 150 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



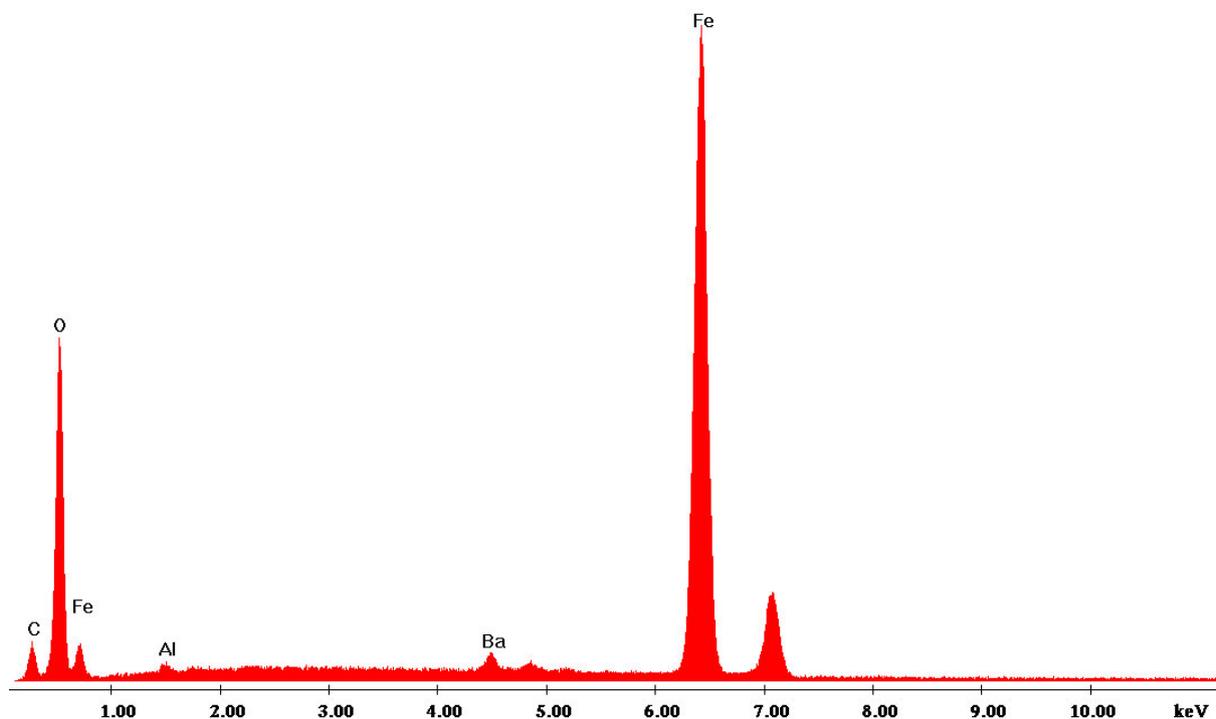
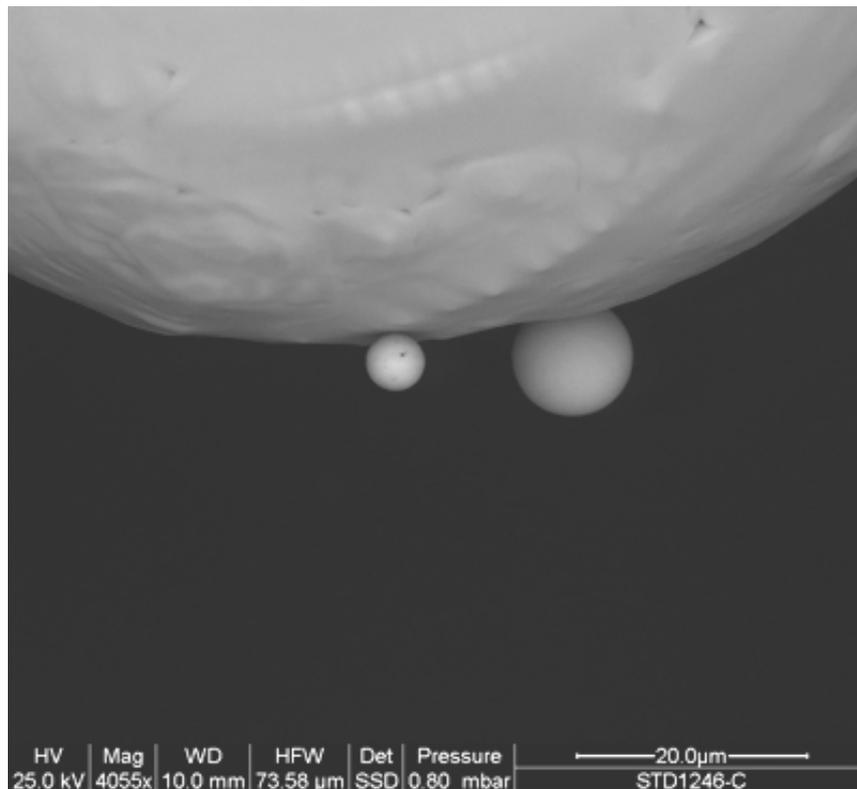
Analisi 6 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (3.150x) in cui è visibile una sferula da 70 micron. L'analisi EDS mostra che essa è composta da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



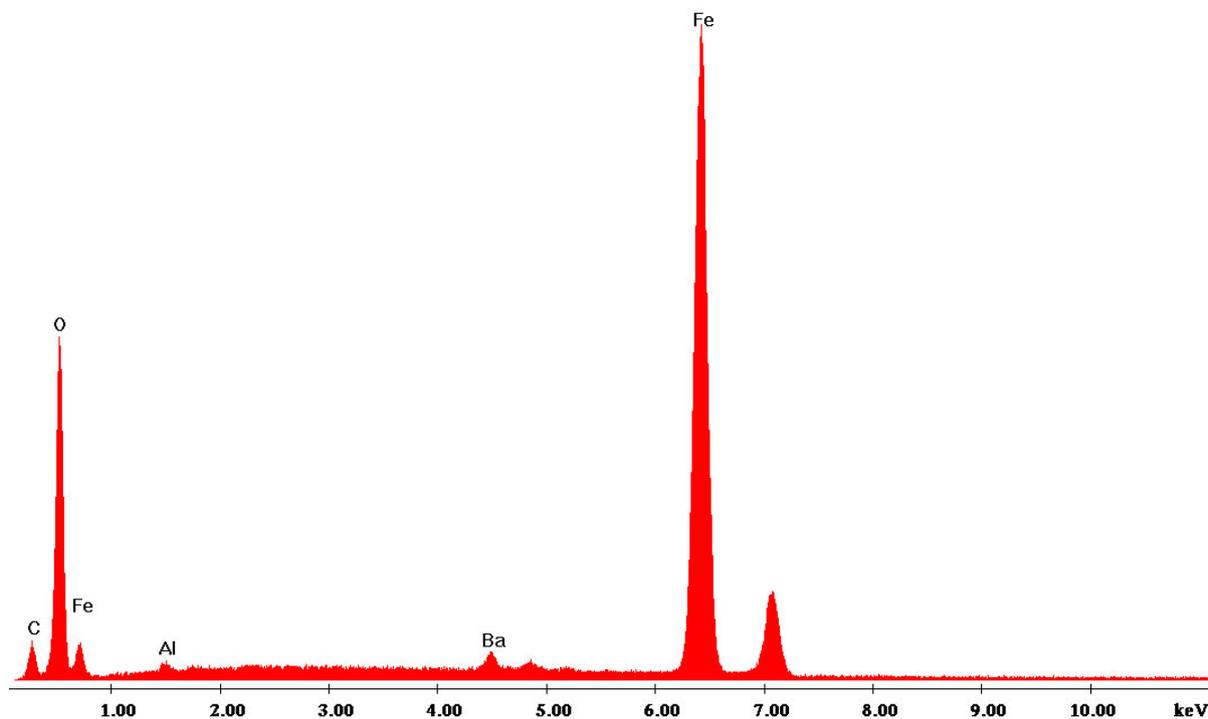
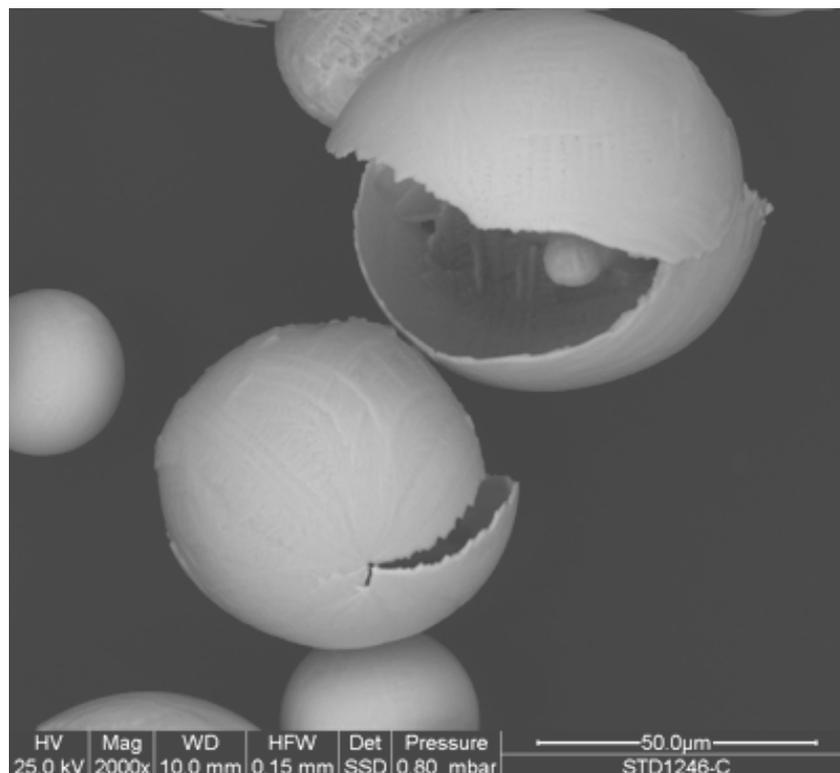
Analisi 7 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (3.171x) in cui è visibile una sferula da 70 micron. L'analisi EDS mostra che essa è composta da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



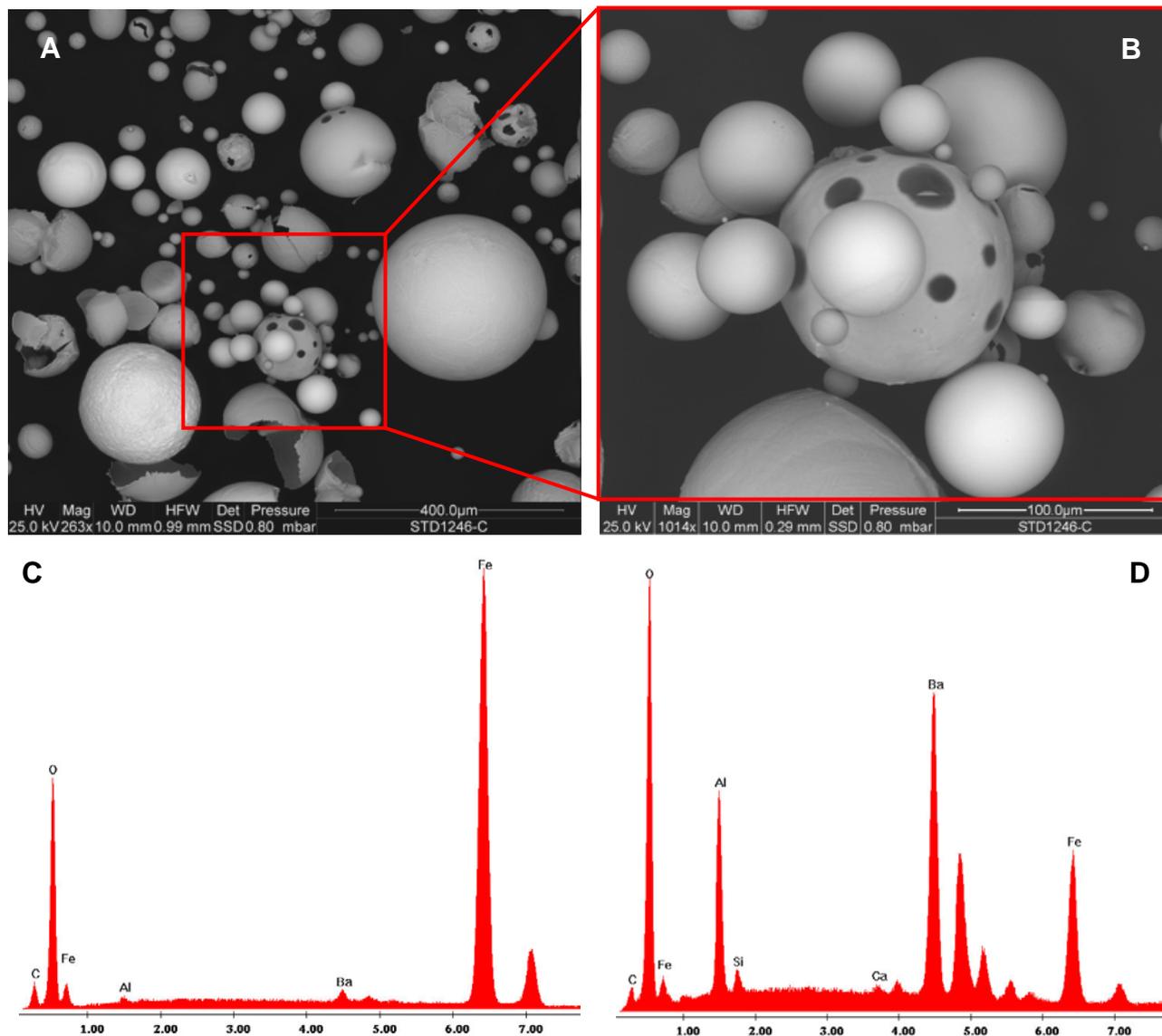
Analisi 8 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione a basso ingrandimento (400x) in cui sono visibili numerose sferule. L'analisi EDS mostra che la sferula da 200 micron con superficie rugosa (indicata dalla freccia) è composta da Ossigeno, Bario, Alluminio, Ferro, Silicio, Calcio e Carbonio.



Analisi 9 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (4.055x) in cui sono visibili due sferule da 4 e 9 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



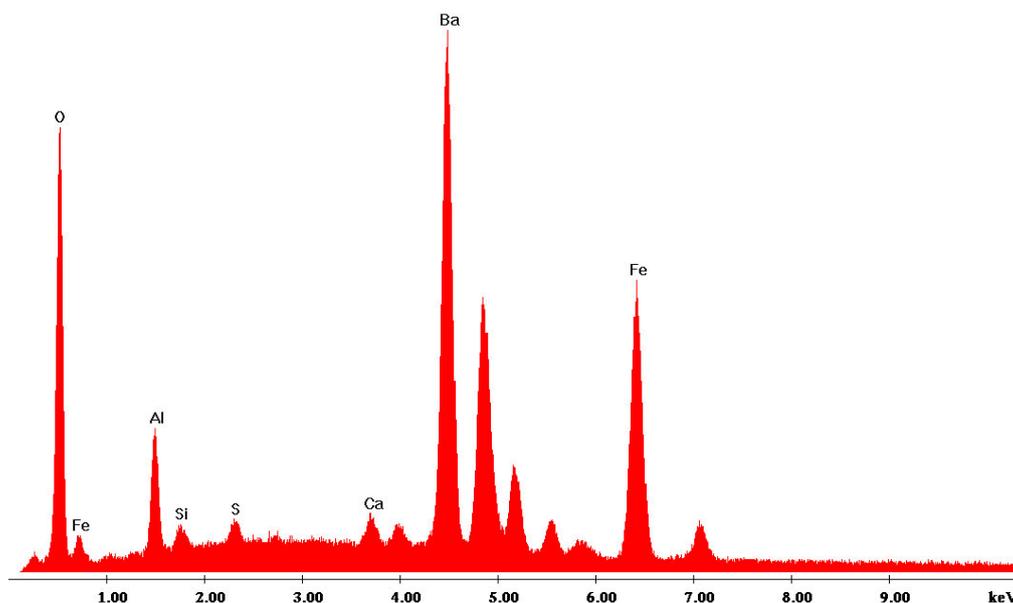
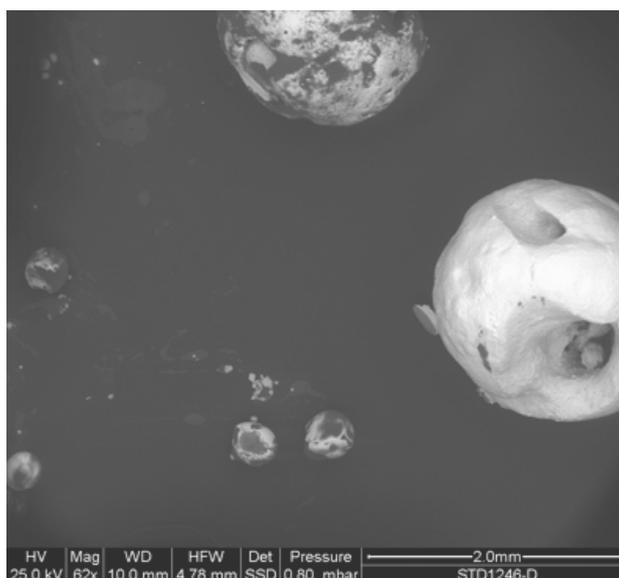
Analisi 10 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione ad alto ingrandimento (2.000x) in cui sono visibili alcune sferule (alcune delle quali cave) di dimensioni comprese tra 10 e 80 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio.



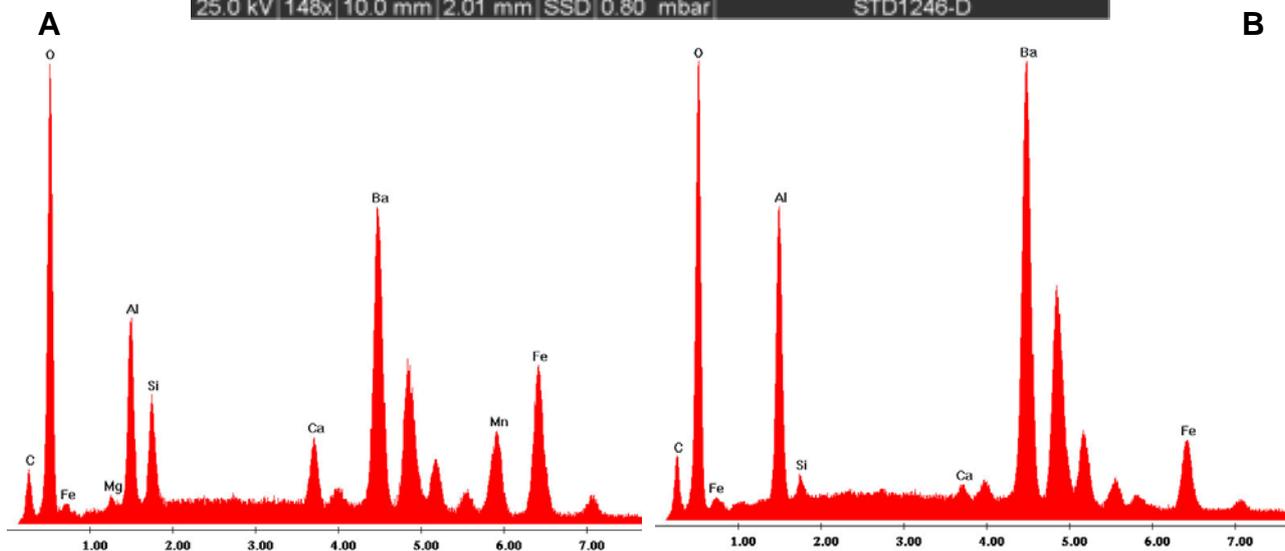
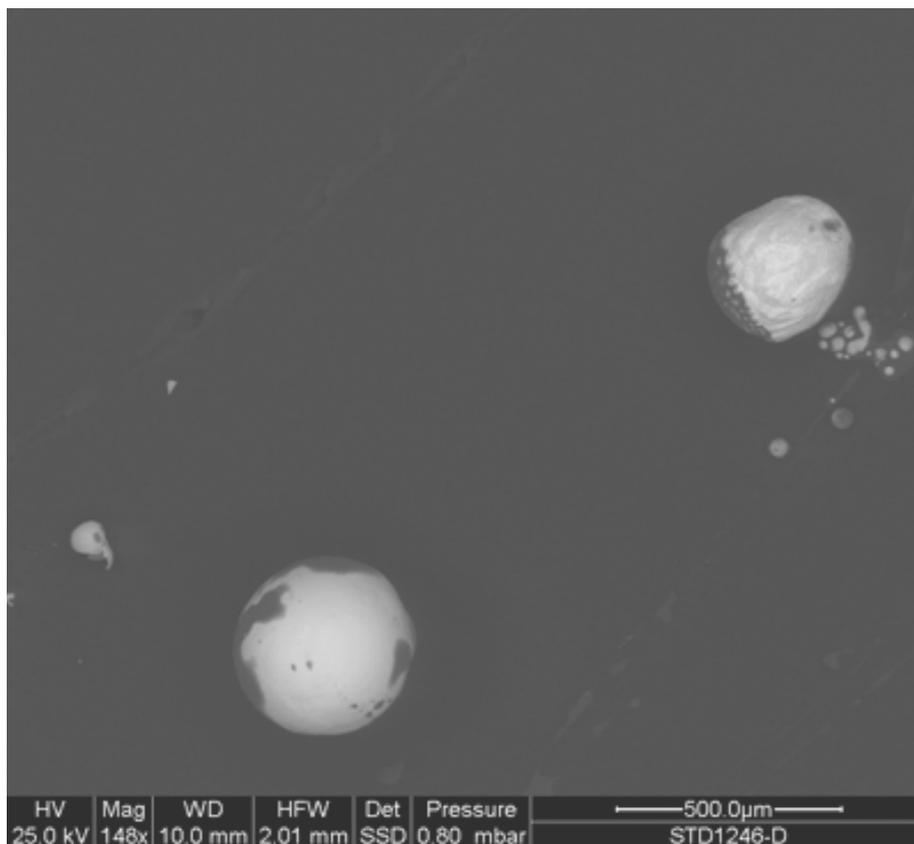
Analisi 11 della tabella II-A. La figura mostra una zona del campione a due differenti ingrandimenti (263x – 1.014x) in cui sono visibili alcune sferule di dimensioni comprese tra 5 e 250 micron. Le analisi EDS mostrano che esse sono composte da Ferro, Ossigeno, Carbonio, Bario e Alluminio (Fig. C) e da Ossigeno, Bario, Alluminio, Ferro, Silicio, Calcio e Carbonio (Fig. D).

Ceneri depositate su pasta dopo caduta durante combustione.**Tabella II-B. Analisi EDS del reperto 2.**

N. analisi	Descrizione	Elementi presenti
1	sferule 20-1800 μm - 60x	Ba,O,Fe,Al,Ca,S,Si
2	sferule 20-400 μm - 148x	O,Ba,Al,Fe,Si,Mn,Ca,C,Mg
		O,Ba,Al,Fe,C,Si,Ca



Analisi 1 della tabella II-B. La figura mostra una zona del campione a basso ingrandimento (62x) in cui sono visibili alcune sferule di dimensioni comprese tra 20 e 1800 micron (1,8 mm). L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Bario, Ossigeno, Ferro, Alluminio, Calcio, Zolfo e Silicio.



Analisi 2 della tabella II-B. La figura mostra una zona del campione a basso ingrandimento (148x) in cui sono visibili alcune sferule di dimensioni comprese tra 20 e 400 micron. L'analisi EDS mostra che esse sono composte da Ossigeno, Bario, Alluminio, Ferro, Silicio, Manganese, Calcio, Carbonio, Magnesio (Fig. A) e da Ossigeno, Bario, Alluminio, Ferro, Carbonio, Silicio, Calcio (Fig. B).

6. Conclusioni

I detriti particolati raccolti nel corso della combustione dei due prodotti mostrano evidenti analogie anche se le composizioni sono differenti. In ambedue i casi le particelle che si formano sono in grandissima prevalenza sferiche e, come è possibile osservare nei casi in cui queste particelle sono rotte, sono cave all'interno. Nel caso del reperto 1 le dimensioni del particolato appaiono essere di dimensioni inferiori rispetto a quelle raccolte dalla combustione del reperto 2. Questo potrebbe essere dovuto ad una differenza nelle temperature di combustione, una temperatura probabilmente più elevata nel caso del reperto 1.

Mentre nel reperto 1 si rileva una predominanza di Titanio e Cloro, nel reperto 2 predominano Ferro, Bario, e Alluminio.

Per ciò che riguarda la composizione chimica condivisa delle particelle, è da notare la presenza in ambedue i prodotti del Bario, un metallo alcalino-terroso particolarmente tossico che fonde alla temperatura di 727,2 °C, temperatura evidentemente superata nel corso della combustione delle due candele.

Va considerato il fatto che la forma sferica delle particelle è tipica della produzione ad alta temperatura: un fenomeno che si riscontra di prassi a livello di fonderie e di operazioni di saldatura di metalli. Quelle sfere sono di norma cave al loro interno e la loro superficie è composta da una crosta estremamente sottile e fragile, prona a frantumarsi al minimo urto. La conseguenza è che una particella relativamente grossolana origina numerosi frammenti, ovviamente di dimensione ben più piccola di quella della particella madre, e, dunque, assai più aggressive nei confronti dell'organismo.

Queste particelle, intere o frammentate che siano, vengono inalate e, nel caso dei due prodotti in esame, ingerite con l'alimento su cui questi sono stati posti. Attraverso meccanismi fisio-patologici ben conosciuti, le particelle arrivano potenzialmente ad ogni tessuto dove, percepite quali corpi estranei, innescano condizioni infiammatorie con tutti gli esiti noti.

Per valutare l'impatto sulla salute del particolato occorre ricordare che minore è la dimensione della particella, maggiore è la sua capacità di penetrazione all'interno dell'organismo, dei suoi tessuti e delle sue cellule. Se respirate o ingerite (come nel caso delle polveri cadute sulla torta) queste possono penetrare nel corpo e nei tessuti biologici

essendo le particelle di dimensione sub-micronica e, per questo, capaci di entrare spontaneamente all'interno dei nuclei cellulari dove vi è la possibilità di una loro interferenza con il DNA specie in fase di duplicazione.

A conclusione, appare evidente che consumare alimenti su cui sono stati posti prodotti come quelli esaminati e su cui, perciò, sono cadute le particelle osservate, è deleterio per la salute.

7. Riferimenti bibliografici

1. A.M. Gatti, S. Montanari "Nanopathology" Ed. Pan Stanford, Singapore, 2008, 1-298..
2. A.M. Gatti Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon (part II)
Biomaterials 2004, vol.25, 3, Feb 385-392. -
http://nano.cancer.gov/resource_center/sci_biblio_devices-machines.asp
3. A.M. Gatti, S. Montanari, E. Monari, A. Gambarelli, F. Capitani, B. Parisini Detection of micro and nanosized biocompatible particles in blood. J. of Mat. Sci. Mat in Med. 2004, 15 (4): 469-472.
4. A.M. Gatti, S. Montanari, Case studies in nanotoxicology and particle toxicology, Elsevier, USA, 2015, 1-262, .
5. International Agency for Research on Cancer – World Health Organization – Press release n. 221/17-10-2013