

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

LAUREA TRIENNALE IN CHIMICA

**Monitoraggio all'esposizione da PFAS nella
regione Veneto e possibili effetti tossici:
ricerca bibliografica**

Relatore:

Prof. Valerio Di Marco

Laureando:

Michele Nuciari

Matricola n°1197203

ANNO ACCADEMICO 2021 - 2022

“E la Terra sentii nell’Universo.
Sentii, fremendo, ch’è del cielo anch’ella.
E mi vidi quaggiù piccolo e sperso
errare, tra le stelle, in una stella.”
(Il bolide - Giovanni Pascoli)

SOMMARIO:

- Capitolo 1, Sostanze Perfluoroalchiliche

<i>Introduzione</i>	pagina 1
1.1 <i>Classificazione ed utilizzo dei PFAS</i>	pagina 1
1.2 <i>Tempi di vita e Ciclo Ambientale dei PFAS</i>	pagina 3
1.3 <i>Tecniche Chimiche per rivelare la presenza di PFAS</i>	pagina 8
1.4 <i>Tecniche di depurazione e smaltimento da PFAS a catena lunga ed alternative al loro utilizzo</i>	pagina 10
1.5 <i>PFAS emergenti</i>	pagina 14
1.6 <i>Scopo della Tesi</i>	pagina 15

- Capitolo 2, Monitoraggio dei PFAS nella regione Veneto

2.1 <i>Aree colpite dall'inquinamento individuato in Veneto</i>	pagina 17
2.2 <i>Monitoraggio condotto in Veneto in soggetti sottoposti ad alta esposizione di PFAS</i>	pagina 20
2.3 <i>Associazione tra livelli sierici di PFAS elevati e sindrome metabolica (MetS)</i>	pagina 23
2.4 <i>Associazione tra esposizione a PFAS e mortalità del Covid-19 ad inizio pandemia</i>	pagina 28
<i>Conclusioni</i>	pagina 29
<i>Bibliografia</i>	pagina 30

RIASSUNTO

Attraverso vari monitoraggi della macro-classe di inquinanti denominati PFAS si è portata alla luce l'analogia tra la presenza degli stessi e possibili effetti nocivi nel mondo vegetale e animale, osservando anche una correlazione nell'uomo con malattie a lungo termine. Anche in Veneto sono stati condotti vari studi a partire dal 2013 in alcune aree delle province di Vicenza, Padova e Verona, a causa della presenza di un'industria locale che ha inquinato le falde con decenni di versamento di PFAS nell'ambiente. In questa tesi viene quindi trattato, attraverso una ricerca bibliografica, un monitoraggio relativo a possibili effetti tossici dovuti a queste sostanze nei cittadini residenti in Veneto nelle zone coinvolte.

ABSTRACT

Through various monitoring of the macro-class of pollutants called PFAS, the analogy between the presence of the same and possible harmful effects in the plant and animal world was brought to light, thus observing the correlation in humans with long-term diseases. Also in Veneto, since 2013, various studies have been conducted in some areas of the provinces of Vicenza, Padua and Verona due to a local industry that has polluted the water tables with decades of PFAS pouring into the environment. In this thesis, through a bibliographic research, the monitoring of possible toxic effects due to these substances in citizens residing in the involved areas of Veneto is treated.

CAPITOLO 1. - *Sostanze Perfluoroalchiliche*

INTRODUZIONE

I PFAS, *sostanze poli- e per- fluoroalchiliche*, sono una classe di composti chimici che comprende ad oggi più di 4700 sostanze, sintetizzati a cominciare dagli anni '30 del secolo scorso. Il loro utilizzo ha rappresentato un'importante innovazione tecnologica dovuta alle loro interessanti proprietà anfifiliche: sono caratterizzati da una testa con un gruppo idrofilo ed una coda con un gruppo idrofobico. Vengono ampiamente utilizzati in molti prodotti di uso comune come padelle antiaderenti, schiume anti-incendio, tessuti impermeabili, fertilizzanti e prodotti per la cura della persona.

In pochi anni la loro presenza si è estesa in tutti i comparti ambientali in quanto hanno una grande capacità di bioaccumulo che aumenta con le dimensioni della catena di atomi di carbonio. (Conder, 2019) Prendono infatti il nome di “Sostanze Chimiche per sempre” (Brendel, 2018) proprio per la caratteristica di persistere nell'ambiente, aumentata dal fatto che possono essere trasportati mediante molteplici vettori: in particolare l'acqua verso cui hanno una forte affinità e l'aria in quanto vengono adsorbiti dalle polveri sottili (PM₁₀ e PM_{2.5}) spesso altamente presenti nell'atmosfera soprattutto nei centri cittadini.

A partire dagli anni 2000 si sono riscontrati valori elevati di PFAS in varie parti del mondo, dovuti principalmente a fuoriuscite da impianti industriali o in zone particolarmente vicine ad aeroporti o basi militari. Si è ritenuto necessario limitarne l'utilizzo e delineare dei valori massimi di esposizione per l'uomo: varie sostanze perfluoroalchiliche sono state inserite nella *Candidate list* delle sostanze estremamente preoccupanti (SVHC); tra queste vi sono i due principali PFAS utilizzati fino a pochi anni fa in ambito industriale, l'acido perfluorottansolfonico (PFOS) e l'acido perfluorottanoico (PFOA).

1.1 Classificazione ed utilizzo dei PFAS

La famiglia dei PFAS è costituita da composti organici di sintesi formati da una catena alchilica (lineare o ramificata) fluorurata di lunghezza variabile generalmente tra i 4 ed i 16 atomi di carbonio a cui sono legati atomi di fluoro e idrogeno (sostanze poli fluoro alchiliche) oppure solo atomi di fluoro (sostanze per fluoro alchiliche). (Istituto di ricerche farmacologiche “Mario Negri”, 2019) La presenza di numerosi legami C – F (carbonio – fluoro) rende molto stabili i PFAS. Si tratta infatti di un legame molto forte, anzi è considerato essere il più

forte legame conosciuto in ambito organico, avente un'energia di dissociazione che può arrivare a 544 kJ/mol.

Proprio grazie a questa forza di legame, i PFAS sono particolarmente resistenti alle reazioni comunemente presenti nell'ambiente: idrolisi, fotolisi e degradazione microbica. Vengono quindi classificati come sostanze "PBT" (sostanze persistenti, bioaccumulabili e tossiche). In particolare, la persistenza (P) indica che la sostanza è in grado di resistere ai processi di degradazione, restando inalterata per lunghi periodi, il bioaccumulo (B) indica che la sostanza ha la tendenza ad accumularsi negli organismi viventi riguardando anche ecosistemi a grande distanza dalla fonte di rilascio della sostanza stessa, e la tossicità (T) è identificata generalmente attraverso studi specifici che permettono di determinare effetti nocivi a carico degli organismi.

I PFAS con un maggior numero di atomi di carbonio nella catena sono caratterizzati da una grande persistenza nell'ambiente e nell'uomo dovuta alla loro elevata emivita (ossia tempo di decadimento per dimezzare la concentrazione di una sostanza) che può arrivare ad essere anche di vari anni.

Tra i PFAS più utilizzati a livello industriale e quindi maggiormente presenti nell'ambiente possiamo inserire 12 composti i quali sono stati osservati, in percentuali variabili, all'interno del monitoraggio condotto in Veneto tra il 2017 ed il 2019 per valutare la contaminazione da PFAS in un ampio campione di giovani adulti esposti a queste sostanze. Tali sostanze sono elencate in Tabella 1.

Tabella 1: I 12 PFAS analizzati in Veneto

PFOS*	<i>acido perfluorottansolfonico</i>	$C_8F_{17}SO_3H$
PFOA*	<i>acido perfluorottanoico</i>	$C_8F_{15}O_2H$
PFHxS*	<i>acido perfluorottanoico</i>	$C_6F_{13}SO_3H$
PFBA	<i>acido perfluorobutanoico</i>	$C_4F_7O_2H$
PFBS	<i>acido perfluorobutansolfonico</i>	$C_4F_9SO_3H$
PFPeA	<i>acido perfluoropentanoico</i>	$C_5F_9O_2H$
PFHxA	<i>acido perfluoroesanoico</i>	$C_6F_{11}O_2H$
PFHpA	<i>acido perfluoroeptanoico</i>	$C_7F_{13}O_2H$
PFNA	<i>acido perfluorononanoico</i>	$C_9F_{17}O_2H$
PFDeA	<i>acido perfluorodecanoico</i>	$C_{10}F_{19}O_2H$
PFUnA	<i>acido perfluoroundecanoico</i>	$C_{11}F_{21}O_2H$
PFDoA	<i>acido perfluorododecanoico</i>	$C_{12}F_{23}O_2H$

*principali PFAS rilevati in Veneto; presenti in almeno l'80% dei soggetti esaminati e di cui si sono svolti diversi monitoraggi per comprenderne la tossicità per l'uomo.

La Figura 1 riporta i due principali PFAS, cioè PFOS e PFOA, che sono studiati data la loro grande presenza ed il loro largo utilizzo.

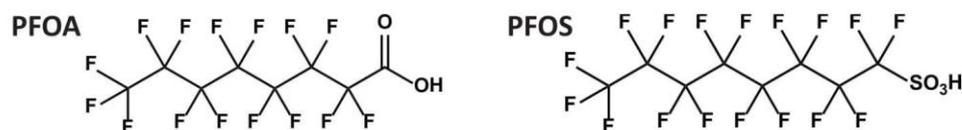


Figura 1: *Struttura di PFOA e PFOS* (figura tratta da legambienteveneto.it, 2014)

Come citato sopra, quando si considerano i PFAS si deve sottolineare una divisione tra le sostanze in cui i legami C – H sono completamente sostituiti da atomi di fluoro (perfluoroalchiliche) o solo parzialmente (polifluoroalchiliche). A questa differenziazione è importante aggiungerne una seconda, ovvero la possibilità di avere sia sostanze presenti in forma molecolare sia in forma polimerica utilizzata soprattutto per la creazione di materiale plastico atto a contenere frequentemente alimenti; questi ultimi materiali si ritengono sicuri per la salute nonostante continui la ricerca di possibili alternative al loro utilizzo. (*EcolStudio*, 2017) Le principali applicazioni di uso comune nelle quali si ritrovano i PFAS sono il settore agricolo (in quanto presenti in grandi quantità nelle acque destinate ad irrigazione ed in molti fertilizzanti chimici), il packaging (essendo utilizzati in molti imballaggi di prodotti alimentari (es. *fast-food*), e ritrovati anche in prodotti biodegradabili come cannucce in bambù e cellulosa biodegradabile), il settore tessile (in quanto aumentano impermeabilità nei tessuti, ad es. *Gore-tex*), la cosmetica (prodotti per la casa, per l'igiene personale arrivando fino alla loro presenza nel filo interdentale), e la cucina (data la loro presenza nelle pentole antiaderenti come politetrafluoroetilene – teflon). (*Borgacci*, 2020)

1.2 *Tempi di vita e Ciclo Ambientale dei PFAS*

Come precedentemente accennato, il problema nel trattare i PFAS rispetto ad altre sostanze altamente tossiche e inquinanti è dato dalla loro difficoltà ad essere separati ed alla loro mobilità nell'ambiente; di fatto vengono a crearsi numerose fonti di esposizione per l'uomo, visualizzate schematicamente in Figura 2.

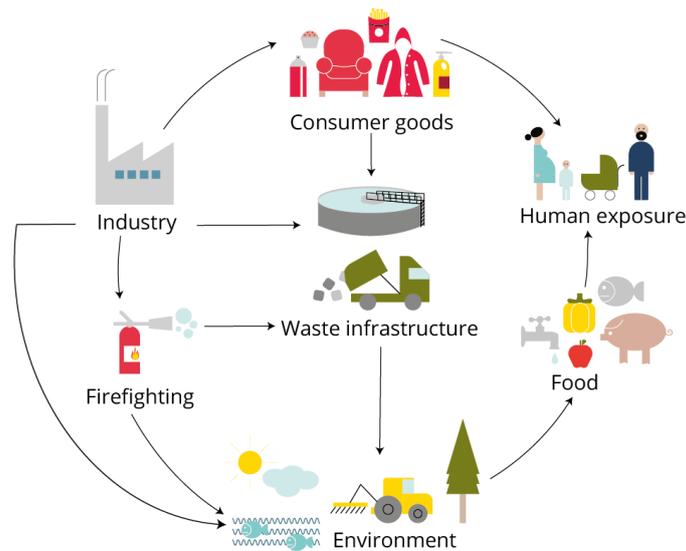


Figura 2: "Ciclo" dei PFAS (figura tratta da Agenzia Europea per l'Ambiente, *Rischi chimici emergenti in Europa - "PFAS" 2020*)

Recenti studi hanno analizzato l'acqua piovana in varie parti del globo constatando la presenza di varie tipologie di PFAS *ovunque*, con poche eccezioni limitate alle alture maggiori al mondo. Persino in Antartide si sono riscontrati livelli significativi di sostanze perfluoroalchiliche. (Giannace, 2022) Apparentemente non si è interessati all'acqua piovana in quanto non viene direttamente utilizzata per l'uomo. Questo purtroppo non si può generalizzare alla popolazione mondiale, in quanto sono molte le realtà povere che necessitano della pioggia come fonte principale di accumulo d'acqua per idratarsi.

Per l'uomo la principale fonte di PFAS è l'acqua delle falde. Sebbene la concentrazione di inquinanti in tali matrici sia bassa, l'ingestione in quantità elevate di acqua può causare un lento accumulo grazie alla loro capacità di essere trattenuti dall'organismo umano. Il bioaccumulo avviene anche negli animali di cui tipicamente si nutrono gli esseri umani, aumentando l'esposizione di queste sostanze ad esempio attraverso l'assunzione di specie ittiche, molluschi, carni e sottoprodotti animali come latte e uova. (Borgacci, 2020)

Un altro vettore di trasporto è l'aria che permette ai PFAS di arrivare ovunque e quindi essere inalabili dall'uomo grazie alla peculiarità di essere adsorbiti dalle polveri sottili; tale fenomeno è particolarmente rilevante soprattutto nei centri urbani e nelle zone altamente inquinate.

Come anticipato, tali sostanze hanno un'elevatissima capacità di accumularsi nei tessuti biologici, soprattutto dato che esse risultano molto stabili nel tempo. Si parla infatti di un elevato tempo di emivita ovvero della propensione di queste sostanze a dimezzare la loro concentrazione nel siero o nel plasma in assenza di

ulteriori esposizioni. La Tabella 2 riporta i tempi medi di emivita dei principali PFAS nel sangue.

Tabella 2: *Emivita media dei PFAS nel sangue umano (dati tratti da Pfas- Sostanze Perfluoroalchiliche, aulss8.veneto, (Olsen, 2007)).*

<i>PFAS</i>	<i>Tempo emivita nell'uomo</i>
PFOS (8 atomi C)	5.4 anni
PFOA (8 atomi C)	3.8 anni
PFBS (4 atomi di C)	30 giorni
PFBA (4 atomi di C)	3 giorni

La dispersione dei dati è molto elevata, poiché l'effettiva emivita dipende molto in base al sesso ed all'età della persona coinvolta. Negli esseri umani i tempi sono estremamente più lunghi rispetto a vegetali o animali (per i quali solitamente si è nell'ordine di grandezza di ore o giorni), probabilmente per un assorbimento molto rapido da parte dell'organismo, che fa sì che i composti si leghino alle proteine del plasma senza essere metabolizzati dall'organismo. Queste sostanze si stabilizzano quindi nel plasma, nel fegato ed in misura inferiore nei reni: proprio da questi ultimi vengono eliminate, ma molto lentamente, in quanto, dopo essere stati filtrati, subiscono un processo di riassorbimento che nell'essere umano serve a recuperare molecole fondamentali per l'organismo (riassorbimento tubolare renale). Tale processo permette di riacquisire fino al 99% dei PFAS filtrati. (*aulss8berica – Pfas, Sostanze Perfluoroalchiliche, 2021*)

A conferma dei dati relativi al tempo di emivita, negli anni compresi tra il 2000 e il 2017 si è monitorato il livello di PFOA e PFOS in un campione di 35 dipendenti dell'azienda "Miteni" di Trissino, ovvero dell'azienda che è considerata essere responsabile del 97% dei PFAS rinvenuti nelle falde acquifere di 30 comuni in Veneto tra le provincie di Vicenza, Padova e Verona. L'indagine ha riguardato 81 misurazioni di PFOA e 85 di PFOS in soggetti maschili di età compresa tra 21.9 e 62.5 anni. I lavoratori sono stati assunti tra il 1968 ed il 2002 ed hanno abbandonato il lavoro in date variabili tra il 1996 ed il 2017. La maggior parte dei dipendenti (57.1%) ha lavorato per almeno 6 mesi nel reparto di produzione dei perfluorurati. Le misurazioni sono state effettuate tra i 3 mesi ed i 20 anni successivi alla fine del contratto di lavoro (media 3.35 anni).

La Figura 3 mostra i risultati ottenuti. Si nota un ordine di grandezza in meno di concentrazione di PFOS rispetto al PFOA constatando un andamento decrescente nel tempo per entrambe le sostanze.

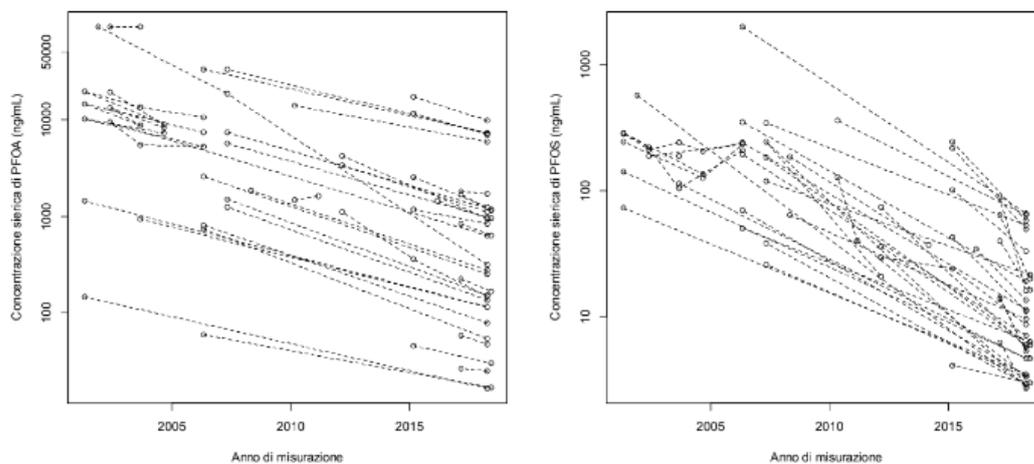


Figura 3: Concentrazioni sieriche di PFOA e PFOS per anno. Misurazioni in ng/mL (scala logaritmica), (Figura tratta da Girardi e Merler, 2018)

Per stimare l'emivita si è supposto che vi sia linearità tra concentrazione e tempo con una normalità distributiva della variabile di risposta: a questo proposito è stata utilizzata una scala logaritmica per i valori dei PFAS. Il modello utilizzato è stato stimato mediante il programma statistico *R* utilizzando la libreria *Ime4* (Bates e Macheler, 2014). Si è quindi attribuito il valore zero alla data di termine del contratto di lavoro e calcolata la differenza temporale fino ad una successiva misurazione di PFAS (Figura 4).

Il modello utilizzato è risultato essere esprimibile dall'equazione:

$$\log Y_{ij} = \beta_o + \alpha_i + (\beta_1 + b_i) * t_j + \varepsilon_{ij}$$

dove Y_{ij} è la concentrazione sierica del i -esimo lavoratore ($i = 1, 2, \dots, 34$) misurata al tempo t_j , il parametro β_o è il valore di *baseline* (valore medio del logaritmo da stimare), β_1 indica la varianza tra il tempo delle due misurazioni, α_i è l'effetto casuale di ogni soggetto (si assume che segua la distribuzione $\alpha_i \approx N^*(0, \sigma_{\alpha}^2)$), ed ε_{ij} riassume l'errore casuale delle misurazioni ($\varepsilon_{ij} \approx N^*(0, \sigma_{\varepsilon}^2)$). Si è inserito anche il termine angolare " b_i " per tenere conto della pendenza della retta, ossia delle possibili differenze, in termini di emivita, tra i vari soggetti.

I valori di partenza dei PFAS risultavano compresi tra 26.8 ed 91900 ng/mL (media geometrica = 1489 ng/mL); i valori finali sono compresi tra 16.6 ed 91900 ng/mL (media geometrica = 597 ng/mL).

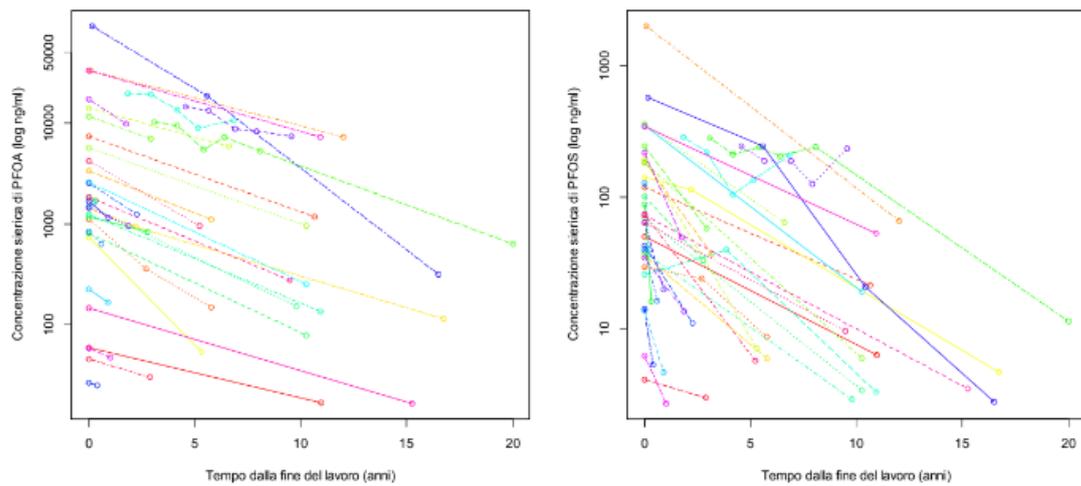


Figura 4: Concentrazioni sieriche di PFOA e PFOS confrontate con il numero di anni dalla fine del contratto di lavoro con l'azienda "Miteni". Misurazioni in ng/mL (scala logaritmica), (figura tratta da Girardi e Merler, 2018)

Il dato relativo alla misurazione di PFOA, pari a 91900 ng/mL, è stato rilevato anche nella seconda misurazione. Il dato "anomalo" è stato quindi considerato errato ed eliminato in quanto si è supposto che fosse la soglia massima di misurazione dello strumento. Sono quindi stati considerati 34 soggetti e 81 misurazioni per PFOA e 35 soggetti con 83 misurazioni per PFOS, secondo lo schema visualizzato in Figura 5.

	log(PFOA)				log(PFOS)		
	B	s.e.	P		B	s.e.	p
Effetti fissi				Effetti fissi			
(Intercetta)	7,625	0,352	<.001	(Intercetta)	4,399	0,243	<.001
Tempo	-0,207	0,017	<.001	Tempo	-0,245	0,018	<.001
Effetti casuali				Effetti casuali			
N _{id}	34			N _{id}	35		
Osservazioni	81			Osservazioni	83		
R ² / Ω ₀ ²	0,999 / 0,999			R ² / Ω ₀ ²	0,930 / 0,926		

Figura 5: Schema esplicativo dei risultati di uno studio delle concentrazioni di PFAS in lavoratori Miteni (figura 3 e figura 4), (figura tratta da Girardi e Merler, 2018)

Si può osservare sia per PFOS che per PFOA una buona significatività statistica (valore di R^2/Ω_o^2 tendente ad 1, soprattutto per PFOA).

Il coefficiente angolare rappresenta il decadimento logaritmico della concentrazione del PFOS sierico che ogni anno risulta essere mediamente pari a 0.245. Si può quindi ricavare il tempo di emivita attraverso $\log(0.5)/\beta_t$ che risulta essere pari a 2.82 anni (IC 95%, 2.48 – 3.28). Per il PFOA si ottiene un valore maggiore corrispondente a 3.35 anni (IC 95%, 2.89 – 3.99).

I dati ottenuti sono inferiori a quelli presenti in letteratura. In uno di questi, ad esempio, erano coinvolti pensionati ex-lavoratori addetti alla produzione di sostanze fluorurate, successivamente non ulteriormente esposti professionalmente a PFAS, e da tale studio sono risultati valori medi di 5.4 anni per PFOS e 3.8 per PFOA (Olsen, 2007). La discrepanza coi dati di letteratura può essere dovuta al fatto che nel lavoro di Girardi e Merler è stato considerato un numero ristretto di campioni e con pochi dati per ogni soggetto monitorato. Inoltre, l'età, il fatto di aver lavorato con esposizione differente ai PFAS, e le tempistiche differenti, possono considerarsi fattori determinanti sulle variazioni riscontrate. In ogni caso si è confermato che la permanenza delle sostanze perfluoroalchiliche nel corpo umano anche dopo la fine dell'esposizione è nell'ordine degli anni. (Girardi, 2018)

1.3 *Tecniche Analitiche per l'analisi dei PFAS*

Data la pericolosità di questa classe di composti chimici è necessario poterli rivelare anche in presenza di tracce ed in ogni matrice ambientale. La loro inerzia chimica rende ancora più difficoltosa la loro determinazione e, di fatto, la principale metodica oggi impiegata fa uso della cromatografia in fase liquida (HPLC) con rivelatore a spettrometria di massa (MS), eventualmente a triplo quadrupolo (MS/MS) per esaltare i limiti di rivelabilità.

È necessario operare in condizioni di massima rivelabilità in quanto lo *standard di qualità ambientale – media annua* (SQA-MA) per il PFOS è pari a 0.65 ng/L, per cui a livello normativo si impone un limite di quantificazione pari al 30% dello standard per considerare valida l'analisi. (Gazzetta Ufficiale, 2015) Attraverso l'HPLC-MS/MS è possibile raggiungere questi valori ottenendo limiti di quantificazione di 0.2 ng/L. (SNPAmbiente, 2018)

Un secondo metodo utilizzabile per l'analisi dei PFAS, sicuramente più vantaggioso in termini di costi e velocità, è di tipo elettrochimico. Si è infatti ottenuto un sensore elettrochimico in grado di individuare tracce nanomolari (in

Italia è stato fissato un cosiddetto *limite di prestazione* per PFOS nelle acque sotterranee e potabili a 30 ng/L) di PFAS in molte matrici ambientali. Il metodo prevede di depositare film polimerici sulla superficie di elettrodi, tali da interagire selettivamente con l'analita mediante complessamento o scambio ionico. I polimeri utilizzati sono a Stampo Molecolare (MIP) per essere molto selettivi. (Figura 6) La caratteristica interessante dei sensori elettrochimici basati su MIP è che consentono di rivelare analiti non elettroattivi, sfruttando la competizione per i siti di legame nel MIP tra l'analita e una sonda redox. Uno studio eseguito nel 2018 (*Sensori ACS*, 2018) ha dimostrato come l'utilizzo di una tecnica elettrochimica voltammetrica possa arrivare a competere con HPLC-MS/MS nella determinazione del PFOS in campioni d'acqua.

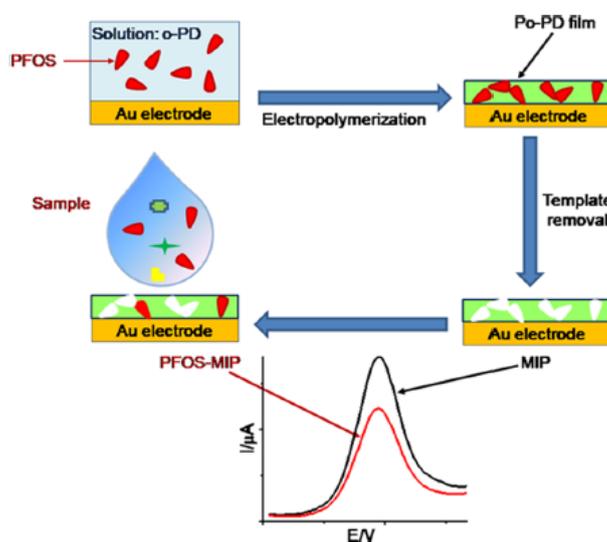


Figura 6. Schema di funzionamento di uno strumento elettrochimico con impronta molecolare (figura tratta dallo studio Karimian, 2018).

Poiché il PFOS è elettricamente inattivo, è stato supportato dall'acido ferrocenecarbossilico (FcCOOH) il quale viene utilizzato come sonda redox reversibile, in quanto agisce come una molecola reporter in grado di competere con i PFOS per i siti di riconoscimento a imprinting molecolare. Si osserva che il segnale voltammetrico FcCOOH sull'elettrodo MIP diminuisce progressivamente quando il sensore è immerso in campioni contenenti PFOS. Nell'esperimento l'elettrodo utilizzato è del tipo a piatto d'oro funzionalizzato con poli o-PD elettropolimerizzati con impronta molecolare al fine di migliorare la capacità di analisi e l'applicabilità generale del sensore. La Figura 7 riassume un confronto tra le prestazioni dei metodi HPLC-MS/MS ed elettrochimico.

Campione	PFOS (nM)	PFOS - MIP (nM)	PFOS - HPLC-MS (nM)
Acqua distillata	2.00	1,64 ± 0,20	---
	4.96	4,70 ± 0,17	---
Acqua di rubinetto	2.00	1,71 ± 0,10	---
Acqua minerale in bottiglia	1,50	1,56 ± 0,09	1,52 ± 0,23
	1.80	1,77 ± 0,15	1,80 ± 0,24
	2.00	1,95 ± 0,18	---
	2.20	2,44 ± 0,2	2,22 ± 0,05
	3.20	3,18 ± 0,05	3,20 ± 0,01
	4.96	4,84 ± 0,28	---

Figura 7. Confronto tra efficacia tecnica HPLC-MS/MS e metodo elettrochimico MIP* (figura tratta dallo studio Karimian, 2018)

*il simbolo “---” indica una mancanza di misurazione, solo alcune misure sono state ripetute mediante HPLC per validare lo studio.

PFOS (nM) = concentrazione di PFOS dei campioni in nanomoli (nM);

PFOS - MIP (nM) = concentrazione (nM) di PFOS misurata mediante tecnica elettrochimica;

PFOS - HPLC-MS (nM) = concentrazione (nM) di PFOS misurata mediante HPLC-MS/MS

1.4 Tecniche di depurazione e smaltimento da PFAS a catena lunga ed alternative al loro utilizzo

I PFAS, come sostanze altamente inquinanti, necessitano di idonei sistemi di contenimento che permettano di isolarli ed eliminarli. Ciò è vero soprattutto per quelle aziende che ne fanno un largo utilizzo e che potrebbero essere fonti di contaminazione. Si è dimostrato che le tecniche convenzionali utilizzate per depurare l'acqua, cioè coagulazione, filtrazione, aerazione, ossidazione e disinfezione, sono inefficaci sui PFAS. Si ricorre quindi all'utilizzo di tecniche che consentano di adsorbire le sostanze perfluoroalchiliche. L'azienda Miteni di Trissino ha ad esempio utilizzato il *Carbone Attivo Granulare (GAC)* dal 2013 al 2018 (anno di chiusura dell'impianto). Questo sistema permette di “spostare” l'inquinante su un secondo mezzo (carbone attivo) per rimuoverlo dagli scarichi. Dopo aver separato le sostanze nocive si procede ad un trattamento termico (incenerimento) per eliminarle, introducendo tuttavia come effetto secondario un notevole effetto inquinante nell'atmosfera. (McNamara, 2018)

Ulteriori tecniche sviluppate per contenere l'inquinamento da PFAS possono essere lo scambio anionico (AIX), la nanofiltrazione (NF) e l'osmosi Inversa (RO). Queste tecniche sono efficaci, ma notevolmente costose; in particolare le resine utilizzate in AIX devono venire rigenerate dopo aver assorbito i PFAS attraverso solventi volatili e pericolosi per l'ambiente. (Merino, 2016)

Attualmente si stanno proponendo nuove tecniche più economiche e meno inquinanti per far fronte al bisogno globale di filtrare i PFAS dall'ambiente, tenendo anche conto del fatto che i tempi di emivita di tali sostanze in matrici acquose sono molto elevati, ad esempio superiori ai 40 anni per PFOS e 90 anni per PFOA ad una temperatura di 25°C. (Banks, 2020)

L'elettrocoagulazione (EC) rimuove i contaminanti formando aggregati insolubili proprio come nella coagulazione normalmente presente all'interno dei sistemi di depurazione delle acque municipali. Questa tecnica produce una quantità di aggregati nettamente superiore alla coagulazione classica coinvolgendo tre meccanismi nel processo: elettrocoagulazione (EC), elettroflottazione (EF) ed elettro-ossidazione (EO). (Sahu, 2013) Quando l'anodo sacrificale viene caricato, esso libera ioni metallici e ioni $[OH^-]$ al catodo; entrambe le cariche positive e negative contribuiscono a neutralizzare le cariche dei contaminanti sospesi, emulsionati o disciolti. L'elettroflottazione accompagna il sistema creando, durante l'elettrolisi, bolle di idrogeno e ossigeno che, nel salire in superficie, pongono in agitazione gli aggregati presenti all'interno della soluzione. Attraverso l'elettro-ossidazione si decompongono poi i materiali organici presenti. Con l'utilizzo dell'elettrocoagulazione non è necessario aggiungere coagulanti, e si producono meno fanghi da trattare successivamente. Sono stati anche eseguiti diversi esperimenti con lo scopo di testare l'utilizzo di diversi materiali come elettrodi, in modo da ottimizzare il processo di rimozione. Ad esempio si è valutato un catodo composto da acciaio inossidabile accompagnato da un anodo di zinco: l'efficienza di rimozione così ottenuta è tra le più alte ed è pari al 99,7% per PFOA e PFOS. (Wang, 2016)

Nell'ultimo decennio si è inoltre osservato che determinati ceppi batterici hanno la capacità di decomporre i PFAS producendo composti a catena più corta. Nel 2013 è stato isolato un batterio mesofilo di tipo bastoncello *Pseudomonas aeruginosa* ceppo HJ4. Tale batterio decompone il PFOS per il 67% in 48 ore se si opera ad una temperatura compresa tra i 30 ed i 37 gradi centigradi, ad un pH neutro/leggermente basico (valori tra 7 e 9), e con una concentrazione iniziale di 1400 - 1800 µg/L. (Kwon, 2014) Altri studi sono riportati in letteratura, ma in tutti i casi il problema sostanziale è rappresentato dagli elevati tempi richiesti per ottenere risultati efficienti di riduzione dell'inquinante.

Un'ulteriore tecnica che permette l'eliminazione dei PFAS prevede l'utilizzo di processi ossido-riduttivi molto energici. Il problema, infatti, è che i PFAS sono altamente resistenti all'attacco di agenti ossidanti a causa degli atomi di fluoro che, data la loro elettronegatività, riducono la densità elettronica dei gruppi funzionali presenti ($-\text{SO}_3^-$ per PFOS e $-\text{CO}_2^-$ per PFOA) (Lee, 2017). Si deve quindi ricorrere all'utilizzo di radicali liberi come OH^\bullet comunemente preparati da reagenti ossidanti come il reagente di Fenton (Santos, 2016). L'utilizzo dei radicali sui PFAS da solo non è però sufficiente, ma dev'essere accompagnato da un pH estremamente acido, dalla presenza di raggi UV oppure dalla presenza di altri reagenti come il persolfato. (Santos, 2016) Le rese di degradazione ottenute con tali processi sono elevate; tuttavia, essi comportano la formazione di PFAS a catena corta di cui ancora non sono stati studiati accuratamente gli effetti che possono dare sull'uomo e nell'ambiente.

Altre tecniche ossido-riduttive che creano molto probabilmente sottoprodotti meno nocivi sono i *processi di ossidazione avanzata (AOP)* e quelli di *riduzione avanzata (ARP)*. In tali processi si utilizzano pressioni e temperature prossime all'ambiente e si producono radicali molto reattivi per portare alla degradazione degli inquinanti. Di seguito sono dati alcuni esempi.

Il *processo meccanochimico* consiste nella creazione di un plasma attraverso collisioni tra sfere in acciaio (diametro 5 – 10 mm) fatte ruotare ad elevata velocità e l'inquinante da trattare. La temperatura del substrato aumenta per effetto delle collisioni aiutando la degradazione. Vengono inoltre aggiunti agenti chimici a supporto della tecnica meccanica; particolarmente usati sono idrossido di sodio, idrossido di potassio, silice e ossido di calcio, i quali favoriscono la creazione di radicali OH^\bullet che facilitano la degradazione. Tale processo porta ad una degradazione dei PFAS superiore al 90% dopo 6 ore. (Zhang, 2013)

Il processo *Elettrochimico* è simile ai processi "EC" in quanto viene applicata elettricità agli elettrodi col fine di adsorbire i contaminanti e degradarli all'elettrodo o nel mezzo liquido. (Radjenovic e Sedlak, 2015) Tra i migliori elettrodi sviluppati vi è il BDD-Pt ovvero diamante drogato con boro all'anodo e platino metallico al catodo: in tali situazioni si raggiunge una rimozione del 76% anche operando basse concentrazioni. I risultati migliori sono stati ottenuti per PFOS piuttosto che per PFOA, e ciò rappresenta un'ulteriore vantaggio di questa tecnica in quanto, solitamente, è il primo inquinante ad essere quello più difficile da eliminare.

La *sonolisi* è un processo di degradazione di sostanze chimiche attraverso l'utilizzo di onde sonore a bassa frequenza (20 – 1100 KHz). Le onde, passando attraverso la soluzione, generano micro-bolle al cui interno pressione e temperatura aumentano fino ad un punto critico dopo il quale collassano (Figura

8). L'energia termica rilasciata dall'interno delle bolle collassate può arrivare ai 5000 K, e può quindi avviare la decomposizione dei PFAS. Il meccanismo di degradazione è ancora sconosciuto, ma si suppone che possa avvenire attraverso la scissione dei legame C - C e C - S; si formano in effetti ioni fluoruro ma non sottoprodotti a catena corta (Hao, 2019). In altri esperimenti condotti in condizioni differenti, tuttavia, si è evidenziata la formazione di PFAS a catena corta (Rodriguez-Freire, 2015)

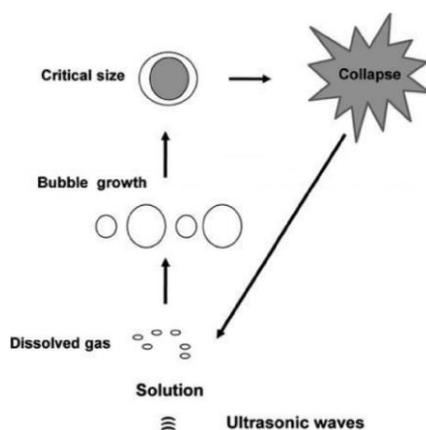


Figura 8. Collasso di una bolla formata mediante sonolisi. (Figura tratta da Leung, 2022)

L'utilizzo di *raggi Gamma* (lunghezze d'onda inferiori ad un decimo di nanometro) può essere efficace per la rimozione dei PFAS. Un esperimento condotto nel 2014 (Zhang, 2014) ha dimostrato la completa degradazione di PFOA dopo 6 ore con una sorgente di raggi gamma di ^{60}Co in ambiente saturo di N_2 a pH 13.0. Non si può operare in presenza di ossigeno in quanto vengono a prodursi intermedi indesiderati.

È anche possibile trattare i campioni mediante *fasci di elettroni*: questa tecnica fornisce contemporaneamente un elevato potere ossidante e riducente senza l'aggiunta di sostanze chimiche. Si generano elettroni a flusso continuo altamente energetici attraverso acceleratori di elettroni. T. Kim e S. Lee (2019) hanno dimostrato come l'effetto combinato di elettroni con perossido di idrogeno e persolfato ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) comporti un significativo aumento della degradazione del PFOS: mentre con la sola presenza di elettroni (dose assorbita 100 KGy) ad una concentrazione di PFOS pari a 0.1 mg/L l'efficienza è inferiore al 30%, in presenza di 5.0 mM di persolfato si arriva a 79.8%. Non sono stati rilevati acidi perfluoroalchilsolfonici, ma è stata osservata la presenza di acidi perfluorocarbossilici, indicando quindi la scissione completa del legame C - S nel PFOS.

Un'altra tecnica molto usata per degradare inquinanti, e non solo per i PFAS, prevede l'uso del *plasma*, come ad esempio il plasma termico. Il plasma si può ottenere mediante scariche ad arco o torce, si raggiungono temperature tra i 4000 ed i 20000 K, dove si ha un equilibrio termico tra elettroni liberi e molecole di gas. L'azione degradante del plasma termico nei confronti dei PFAS avviene per pirolisi ed ossidazione. Il meccanismo non è ancora chiaro, ma si ritiene che le molecole di PFAS vengano adsorbite sulla superficie delle bolle d'acqua in cui la sezione carica dei PFAS (positivamente o negativamente) incontra gli ioni con l'energia più alta nel plasma. (Hayashi, 2015)

Oltre al plasma termico esiste anche il plasma non-termico. Esso risulta meno impattante in termini energetici, ma presenta rese inferiori di degradazione degli inquinanti. Il plasma non-termico può essere ottenuto attraverso scarica a scintilla, scarica corona o scarica a bagliore; in questi processi gli elettroni scaricati vengono eccitati con l'aumento della loro temperatura e come conseguenza entrano in collisione con le molecole di gas di massa producendo elettroni secondari, radicali, ioni e fotoni. Un esperimento condotto nel 2018 ha utilizzato un generatore di plasma atmosferico a getto di gas attivo (300 W, 20 KHz) per generare plasma atmosferico non-termico e valutare l'efficienza nella degradazione di PFOS e PFOA. In un tempo di trattamento inferiore ai 5 minuti, con volumi tra i 35 ed i 45 mL, e ad una concentrazione inferiore ad 1 µg/L, si è osservata una diminuzione di concentrazione di PFOS del 64% ed una diminuzione di PFOA del 90%.

1.5 *PFAS emergenti*

I cosiddetti “*Emerging PFAS*” sono delle sostanze utilizzate a livello globale poiché ancora non proibite dalla Convenzione di Stoccolma. La caratteristica di questa nuova classe di composti (appartenente sempre alla macro-categoria dei PFAS) è la possibilità di sfruttare le particolarità tecnologiche dei PFAS ed evitare il bioaccumulo in quanto sono sostanze a minor peso molecolare con una catena di atomi di carbonio di lunghezza inferiore ai “*legacy-PFAS*” come PFOA e PFOS proibiti per l'appunto rispettivamente nel 2019 e 2009 dalla Convenzione di Stoccolma.

Le alternative di uso corrente includono PFAS con legami fluoroalchiliteri (– CF₂ – O – CF₂ –) riportanti nomi commerciali quali *Gen-X (HFPO-DA)*, *ADONA*, *F-53B* oppure cloroperfluoropolietere carbossilati (*Cl-PFPE-CA*) prodotti da Solvay. Di interesse tecnologico si ricordano anche il perfluoropolietere a catena corta

(C6O4) (Morganti, 2021) e le sostanze fluorotelomeriche con gruppi funzionali di testa non fluorurati.

Sebbene si ritengano meno dannose dei loro predecessori in quanto hanno emivita inferiore e potenzialmente una minore capacità di bioaccumulo, i dati registrati sulla loro tossicità per l'uomo e per l'ecosistema rimangono tutt'ora pochi ed insufficienti per fare una corretta previsione sulla loro pericolosità. Alcuni studi già hanno dimostrato corrispondenza tra la loro presenza ed effetti a livello cellulare (Pierozan, 2022). In particolare, desta molta preoccupazione l'acido perfluoroesansolfonico (PFHxS), in quanto è stato associato ad effetti tumorali al seno negli studi epidemiologici. (Pierozan, 2022)

Un secondo monitoraggio ha valutato possibili effetti negativi del C6O4 sul profilo di attivazione delle piastrine: la presenza di C6O4 è stata associata ad un aumento della risposta piastrinica che si traduce in un possibile aumento del rischio di eventi cardiovascolari nella popolazione agonistica. (Minuz, 2021)

1.6 Scopo della Tesi

Lo scopo di questa tesi è quello di condurre una ricerca bibliografica ponendo l'attenzione su un disastro ecologico svoltosi in Veneto, quasi completamente ad opera di un'azienda di Trissino (VI), tra la fine degli anni sessanta del secolo scorso ed il 2013, soffermandosi sulle ripercussioni osservate tra i cittadini delle aree coinvolte dall'esposizione di PFAS.

Si è quindi seguito un monitoraggio che ha coinvolto un gran numero di soggetti dimoranti nelle zone compromesse dalla contaminazione per identificare una possibile correlazione tra effetti avversi alla salute umana e la concentrazione sierica dei livelli di PFAS nell'uomo.

CAPITOLO 2. – *Monitoraggio dei PFAS nella regione Veneto*

2.1 *Area colpita dall'inquinamento individuato in Veneto*

Nel 2006, a seguito di un progetto europeo di controllo dei valori di PFAS nelle acque dei maggiori fiumi del continente, *Progetto Europeo PERFORCE*, sono stati riscontrati valori molto alti nel fiume Po, il quale rientrava nell'indagine. I valori erano del tutto anomali rispetto la media europea. (Voogt, 2006) Nel 2011 è stato completato uno studio per valutare le concentrazioni di sostanze perfluoroalchiliche nei maggiori bacini italiani, commissionato dal *Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM)* al *Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)*. Lo studio ha portato a un risultato, pubblicato il 25 marzo 2013, che mostrava un significativo inquinamento da PFAS nelle acque del bacino Agno e Fratta Gorzone con concentrazioni totali di PFAS superiori a 2000 ng/L. Il solo PFOA risultava essere presente ad una concentrazione pari a 1000 ng/L. (Arpa.Veneto, 2013)

Dall'estate del 2013 sono stati introdotti filtri granulari ai carboni attivi per ridurre la concentrazione di PFAS nell'acquedotto dei comuni interessati per un costo medio di 600000 euro all'anno. (legambienteveneto.it, 2014) Questi filtri hanno una superficie compresa tra i 500 ed i 1500 m² per grammo di materiale poroso e quindi presentano una grande capacità di adsorbimento. L'acqua viene fatta passare all'interno di un serbatoio cilindrico metallico verticale del diametro di 2- 2.5 m ed un'altezza di 3 - 4 m per un totale di più di 10 tonnellate di materiale. Quando il filtro diventa saturo necessita di essere rigenerato attraverso l'utilizzo di un forno con temperature fino ai 1100°C per degradare gli inquinanti ed un successivo flusso di vapore per terminare l'estrazione. Purtroppo, le temperature non sono sufficienti per eliminare in modo efficace i PFAS, i quali sono probabilmente immessi nell'atmosfera mediante incenerimento. (Bertanza, 2020)

L'inquinamento registrato nei fiumi è attribuibile per il 97% alla presenza di un'azienda nel comune di Trissino (VI) la cui produzione era incentrata sulle sostanze perfluoroalchiliche. Il principale prodotto era il PFOA e poi il PFOS. L'azienda nasce nel 1968 e ha continuato a produrre PFAS da tale data versando grandi quantità di prodotti nelle falde in quanto non presentava fino al 2013 filtri che limitassero la perdita di inquinanti. La valutazione dei dati riguardanti la produzione dell'azienda sono possibili solo dal 2001 (non si hanno registri passati) e vede una media di 250 tonnellate di PFOA lavorate all'anno fino al 2014, anno di termine della loro produzione, mentre per il PFOS si ha una media di 37

tonnellate/anno fino al 2011 (fine produzione). Tra il 2013 ed il 2017 sono state prodotte 100 tonnellate/anno di PFAS a catena corta, contenenti tra i 4 ed i 8 atomi di carbonio; tali composti, come visto, sono considerati meno pericolosi. (Pitter, 2020)

L'area interessata dall'inquinamento coinvolge le provincie di Vicenza, Padova e Verona comprendendo una popolazione di quasi 300000 abitanti. In particolare sono coinvolti 30 comuni corrispondenti a circa 140000 cittadini che sono stati considerati "Zona Rossa" (inizialmente comprendeva 21 comuni, Zona Rossa A, lungo il corso della falda contaminata, poi ampliati per analogia di valori sierologici di PFAS ad altri 9 comuni, Zona Rossa B) per un'estensione territoriale di circa 595 km², dei quali 180 km² rientranti nel percorso della falda contaminata. La Figura 9 raffigura la superficie coinvolta.

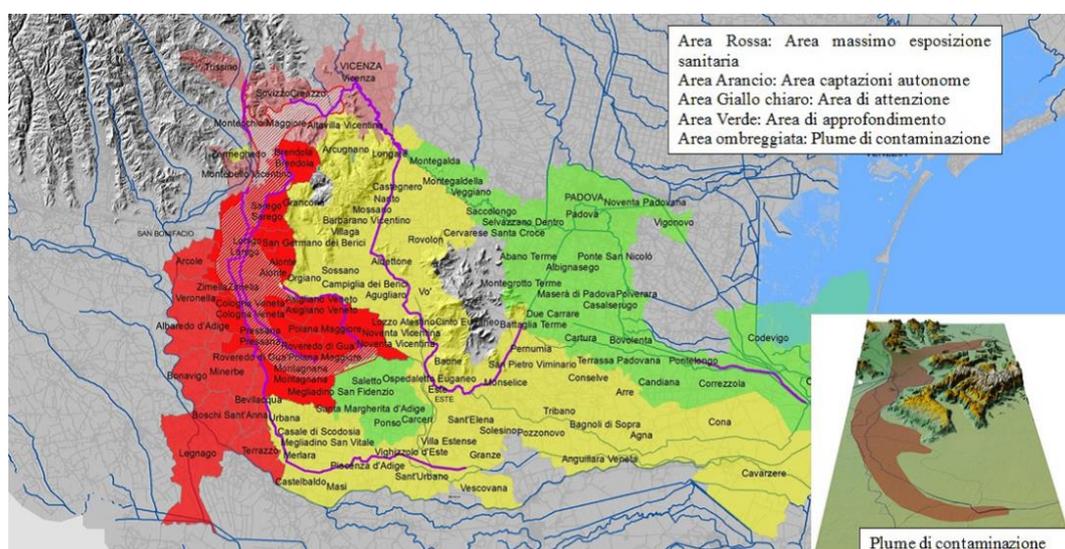


Figura 9: Area del Veneto coinvolta dall'inquinamento di PFAS. (Marchesi, ARPAV 2019)

Dopo la scoperta del contaminante presente nelle falde acquifere, si sono monitorate le concentrazioni degli inquinanti all'interno di acquedotti e pozzi della zona coinvolta. Tra luglio ed agosto 2013 sono stati raccolti e analizzati 152 campioni valutando i 12 principali PFAS individuati nelle precedenti indagini. I risultati sono riassunti in Tabella 3.

Tabella 3: Valori dei PFAS (ng/L) nel monitoraggio svolto nell'estate del 2013 in 152 campioni di acqua da acquedotti e pozzi (dati tratti da Pitter, 2020). Il LOQ (limite di quantificazione) è stato impostato a 10.0 ng/L.

Inquinante	Valore Minimo	95° percentile	Valore Massimo	% campioni ≥ LOQ
PFBA	<10.0	359.4	625.0	88.8%
PFPeA	<10.0	210.6	370.0	90.1%
PFHxA	<10.0	185.8	330.0	89.5%
PFHpA	<10.0	56.0	151.0	67.1%
PFOA	<10.0	1123.2	1475.0	89.5%
PFNA	<10.0	<10.0<10.0	76.0	0.7%
PFDeA	<10.0	<10.0<10.0	81.0	0.7%
PFUnA	<10.0	<10.0<10.0	95.0	1.3%
PFDoA	<10.0	<10.0<10.0	10.0	0.0%
PFBS	<10.0	382.1	765.0	89.5%
PFHxS	<10.0	26.0	66.0	40.1%
PFOS	<10.0	66.5	117.0	77.6%

Si può notare che la concentrazione di PFOA sia indubbiamente più elevata rispetto agli altri PFAS studiati, anche se l'inquinante non è quello maggiormente presente tra i campioni. Il PFOS è presente in quantità inferiori ma è considerato tra i più pericolosi come capacità di bioaccumularsi, rendendo quindi preoccupanti anche concentrazioni inferiori. Si noti che i dati della Tabella 3 sono riferiti all'assenza dei filtri granulari ai carboni attivi, che sono infatti stati adottati nei mesi successivi del 2013 dai comuni interessati dalla contaminazioni.

Dopo la conferma di elevate concentrazioni di PFAS negli acquedotti locali si è proceduto instaurando un programma di monitoraggio sanitario gratuito atto ad ottenere informazioni sulla concentrazione di PFAS nell'uomo ed effetti correlati proponendo eventualmente delle cure alle patologie riscontrate. Sono stati quindi inseriti nel programma i cittadini della Zona Rossa dai 14 ai 65 anni per un totale di 85000 persone coinvolte su base volontaria.

2.2 *Monitoraggio condotto in Veneto in soggetti sottoposti ad alta esposizione di PFAS*

Il primo monitoraggio condotto in Veneto ha riguardato giovani di età compresa tra i 14 ed i 39 anni per valutare le concentrazioni di PFAS a livelli sierici e la presenza di sintomi possibilmente legati a future patologie. Il campione preso in considerazione comprendeva inizialmente solo la popolazione dei 21 comuni della Zona Rossa A, poi implementati nel 2019 con i 9 comuni della Zona Rossa B. Lo screening, iniziato nel 2017, ha indagato la storia residenziale, sociale, l'istruzione e l'occupazione, per poi proseguire con domande abitudinarie sul consumo alimentare, tipologia di consumo di acqua potabile e fonti, l'attività fisica, abitudini al fumo ed all'alcol, terminando con la famiglia, storia personale di malattia e riproduttiva, indicando infine altezza e peso approssimati per valutare automaticamente l'indice di massa corporea (BMI).

Dopo il colloquio si è proceduto ad analizzare la pressione sanguigna secondo le raccomandazioni della Società Europea di Ipertensione (*Williams, 2018*) ovvero considerare pressione sanguigna elevata se i valori misurati risultano superiori a 140 mmHg per la pressione arteriosa sistolica o superiori a 90 mmHg per la pressione diastolica. Se una prima misurazione indica una pressione elevata, si ripete la misura: nel caso il livello sia inferiore al limite nella seconda misurazione si considera pressione normale, altrimenti pressione elevata.

Sono stati raccolti campioni di sangue ed urina a digiuno per valutare la presenza dei 12 PFAS analizzati nelle acque ed effettuare un'analisi dei valori di trigliceridi, colesterolo totale, colesterolo HDL, creatinina sierica, acido urico, aspartato aminotransferasi (ATS), alanina aminotransferasi (ALT), ormone stimolante la tiroide (TSH), emoglobina glicata ed il rapporto tra albumina urinaria e creatinina. Viene poi calcolata la velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) con l'equazione CKD-EPI (*Levey, 2009*)

I partecipanti con valori di PFAS compresi nel 95° percentile della popolazione italiana vengono esclusi da ulteriori esami e controlli (i valori di riferimento del 95% in Italia sono 14.79 ng/L per il PFOS e 8.00 ng/L per il PFOA). (*Ingelido, 2010*)

Le analisi delle concentrazioni di PFAS nei campioni sono state eseguite in una struttura di laboratorio mediante un manipolatore di liquidi robotico per la preparazione del campione (*Microlab® STARlet; Hamilton Co.*) aggiungendo acetonitrile (ACN) per terminare la precipitazione proteica. L'analisi effettiva viene condotta attraverso HPLC-MS/MS ovvero cromatografia liquida ad alte prestazioni abbinata ad uno spettrometro di massa come rivelatore (*Prominence UFLC XR 20 Shimadzu accoppiato con API 4000™ LC-MS/Sistema MS Sciex*).

I campioni sono stati inseriti senza cappuccio, scongelati, all'interno di 96 pozzetti mappati per eseguire l'analisi. Come eluente si utilizza una miscela composta da ammonio e metanolo, mentre la colonna è una *Supelco™ Ascentis® Express RP-Amide* avente lunghezza 7.5 cm, diametro 2.1 mm e porosità 2.7 µm. (Pitter, 2020)

Il metodo utilizzato presenta limiti di rilevabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) per i PFAS pari rispettivamente a 0.1 ng/mL e 0.5 ng/mL. In base all'analita studiato si hanno diversi intervalli di linearità del metodo. Ad esempio, per PFOA si arriva a 500 ng/mL.

La popolazione potenzialmente iscritta al programma di screening comprendeva 33793 residenti, ma solo 18122 hanno partecipato, alcuni perché hanno rifiutato, altri perché hanno vissuto in zona rossa meno di un anno o hanno compiuto 40 anni nell'anno del sondaggio.

Per il trattamento dei dati, si è calcolata la percentuale di campioni con una concentrazione quantificabile per ogni PFAS (ovvero maggiore del LOQ), e solo gli inquinanti quantificabili in almeno l'80% dei campioni sono stati successivamente considerati. Delle 12 sostanze indagate, solo 3 sono risultate quindi idonee ad ulteriori verifiche: PFOA, PFOS e PFHxS, che erano presenti rispettivamente nel 99.9%, 99.8% e 98.1% dei campioni. Per normalizzare la distribuzione dei dati si è proceduto a calcolarne i logaritmi naturali; la normalità si è verificata con il test di *Shapiro-Wilk*, mentre la *Correlazione di Spearman* si è utilizzata per descrivere le relazioni a coppie tra i 3 PFAS. (Pitter, 2020)

Le concentrazioni sieriche dei 3 inquinanti erano tra loro correlate con coefficienti di Spearman di 0.89 per PFOA e PFHxS, 0.66 per PFOS e PFHxS ed infine 0.62 per PFOS e PFOA.

I risultati ottenuti sono mostrati in Tabella 4.

Tabella 4: Valori di PFOA, PFOS e PFHxS in ng/mL ai vari percentili (dati tratti da Pitter, 2020)

PFAS	Minimo	5%	Mediano	75%	95%	Massimo	%campioni ≥ LOQ
PFOA	<0.5	5.1	44.4	84.9	189.7	1400.0	99.9%
PFOS	<0.5	1.4	3.9	5.8	10.7	142.0	99.8%
PFHxS	<0.5	0.7	3.9	7.4	18.1	127.0	98.1%

La varianza registrata nei valori è attribuibile ad un insieme di fattori socio-culturali che indubbiamente modificano le concentrazioni di PFAS. In Tabella 5

si riportano in particolare i tre dati che maggiormente hanno portato a variazioni significative calcolati mediante regressione multivariata per l'intera popolazione.

Tabella 5: Referente utilizzato per le analisi e spiegazione della varianza totale per le tre classi principalmente influenti (dati tratti da Pitter, 2020)

Differenza % (IC 95%)				
Predittore	n (%)	PFOA	PFOS	PFHxS
Genere				
Femmina	8892 (49.1%)	referente	referente	referente
Maschio	9230 (50.9%)	66 (61;71)	42 (39;45)	93 (88;98)
Spiegazione della varianza		11.52	9.94	18.17
Comune di Residenza (Zona Rossa A/B)				
Terrazzo (B)	288 (1.6)	referente	referente	referente
Spiegazione della varianza		12.57	6.70	14.84
Tempo residenza Zona Rossa				
< 5 anni	1082 (6.0)	referente	referente	referente
Spiegazione della varianza		3.40	0.91	5.34

Spiegazione della varianza totale rispetto ai 25 parametri analizzati dal questionario: PFOA 37.44 PFOS 22.61 PFHxS 43.10

Le maggiori variazioni si hanno per sesso, comune di residenza e tempo di permanenza nel comune; molto meno marcate sono le differenze dovute ad età o abitudini di vita. Si presume che i livelli bassi di PFAS nelle donne siano dovuti in parte alla perdita di sangue durante il ciclo mestruale, dando quindi luogo ad un'importante via di escrezione per questi composti. (Harada, 2005)

Non si riesce a spiegare la maggior parte della varianza, soprattutto per il PFOS, probabilmente dovuta anche ai diversi tempi di emivita delle singole sostanze.

Il dato più significativo della Tabella 4 è il valore mediano del PFOA, pari a 44.4 ng/mL: tale dato è nettamente superiore al valore sierico mediano della popolazione veneta fuori dalla Zona Rossa, pari a 1.64 ng/mL.

Il monitoraggio condotto è servito come base per ulteriori studi successivi atti a verificare la correlazione tra aumento del rischio di malattie cardiovascolari rispetto alla presenza di elevate concentrazioni di PFAS. (Pitter, 2020)

2.3 Associazione tra livelli sierici di PFAS elevati e sindrome metabolica (MetS)

La “MetS”, nota anche come sindrome da Insulino-Resistenza, comprende un *cluster* di tratti metabolici che permettono di identificare soggetti maggiormente esposti a future malattie cardiovascolari e a diabete di tipo 2. La correlazione si basa sul confronto di alcuni fattori spesso associati tra loro: obesità addominale, ipertensione, dislipidemia e iperglicemia.

Il campione considerato comprende la popolazione tra i 20 ed i 39 anni iscritta al programma di sorveglianza sanitaria in quanto dimoranti in comuni rientranti nella Zona Rossa. Vengono esclusi soggetti in stato di gravidanza e considerati i restanti soggetti che hanno partecipato all’indagine per un totale di 15876 persone. Si è considerato esito positivo “presenza di MetS” qualora vi sia la presenza di almeno 3 criteri tra i seguenti: obesità (BMI ≥ 30), trigliceridi ≥ 175 mg/dL o trattamento farmacologico per trigliceridi elevati, ridotto HDL-C (< 40 mg/L uomini; < 50 mg/L donne) o trattamento farmacologico per HDL-C ridotto, ipertensione ≥ 130 mmHg di pressione arteriosa sistolica o ≥ 85 mmHg di pressione diastolica o trattamento farmacologico antipertensivo, ed infine glicemia elevata a digiuno o trattamento farmacologico per elevata concentrazione di glucosio. La Tabella 6 riassume i risultati ottenuti.

Tabella 6: Popolazione esposta a parametri elevati indicanti la presenza di MetS (tratto da Jeddi, 2021)

Prevalence of MetS	Total		Men		Women	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
MetS JIS * definition	743	4.68	507	6.57	236	2.89
Prevalence of MetS components						
BMI ≥ 30 (obesity)	1383	8.71	698	9.04	685	8.4
Diabetics (modified parameters)	135	0.85	74	0.96	61	0.75
HbA1c $\geq 6.1\%$ or ≥ 43 mmol/mol	121	0.76	65	0.84	56	0.69
Medication, or self-reported diagnosis of type 2 diabetes	74	0.47	40	0.52	34	0.42
Elevated TG	1823	11.48	1382	18	441	5.41
TG ≥ 175 (mg/dL)	1820	11.46	1379	17.87	441	5.41
Drug treatment for elevated TG (fibrates)	3	0.02	3	0.04	0	0
Reduced HDL-C	2418	15.23	1071	14	1,347	16.51
HDL-C: < 40 mg/L (M); < 50 mg/L (F)	2374	14.95	1041	13.49	1,333	16.34
Drug treatment for reduced HDL-C (statin)	65	0.41	45	0.58	20	0.25
Elevated blood pressure	5381	33.89	3722	48	1,659	20.34
Systolic ≥ 130 mmHg	4571	28.79	3331	43.16	1,240	15.2
Diastolic ≥ 85 mmHg	2484	15.65	1611	20.87	873	10.7
Antihypertensive drug treatment in a person with a history of hypertension	293	1.85	176	2.28	117	1.43

* The Joint Interim Statement on MetS definition (JIS).

Dalla Tabella 6 si denota come solo il 4.68% della popolazione coinvolta soffre di MetS, intesa con i parametri che sono stati scelti precedentemente, e quindi possono presentare possibili futuri problemi legati a malattie cardiovascolari e/o diabete di tipo 2. Se però si valutano i singoli disturbi si può constatare una elevata percentuale di pressione sanguigna e di trigliceridi elevati tra gli uomini, rispettivamente del 48% e del 18%. Il confronto tra le persone esposte a MetS e non esposte, tenendo presente tutti i parametri indagati attraverso il questionario circa lo stato socio-culturale e le abitudini di vita, non ha portato ad evidenziare particolari correlazioni. Tuttavia, la concentrazione logaritmica dei 4 PFAS considerati nell'indagine (PFOA, PFOS, PFHxS e PFNA) è risultata, nei vari modelli utilizzati, associata positivamente con ipertensione e diminuzione del rischio di riduzione di HDL-C, come riportato in Tabella 7.

Tabella 7: Associazione tra la presenza di PFAS e alcuni componenti del MetS (tratto da Jeddi, 2021).

PFAS	Elevated Blood Pressure			HDL-C		Elevated Triglycerides			Diabetes Status *		BMI ≥ 25		BMI ≥ 30					
	OR	CI 95%		OR	CI 95%	OR	CI 95%		OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%				
log-PFOA																		
Model 1	1.04 **	1.01	1.08	0.94	0.90	0.98	1.08	1.03	1.13	0.74	0.64	0.86	0.95	0.92	0.99	0.97	0.92	1.03
Model 2	1.05	1.01	1.08	0.93	0.89	0.97	1.10	1.05	1.16	0.74	0.63	0.85	0.94	0.91	0.97	0.97	0.91	1.02
log-PFOS																		
Model 1	1.04	0.98	1.11	0.75	0.70	0.81	0.87	0.79	0.95	0.59	0.45	0.78	0.83	0.78	0.89	0.70	0.63	0.77
Model 2	1.10	1.03	1.17	0.79	0.73	0.86	0.97	0.88	1.07	0.63	0.47	0.83	0.86	0.80	0.91	0.73	0.65	0.80
log-PFHxS																		
Model 1	1.07	1.03	1.12	0.96	0.91	1.01	1.08	1.02	1.14	0.90	0.74	1.08	1.02	0.98	1.07	1.03	0.97	1.10
Model 2	1.07	1.03	1.12	0.94	0.89	0.99	1.09	1.02	1.16	0.89	0.73	1.07	1.01	0.97	1.05	1.01	0.95	1.08
log-PFNA																		
Model 1	1.07	0.97	1.18	0.79	0.70	0.90	0.98	0.86	1.13	0.90	0.56	1.44	0.92	0.84	1.01	0.85	0.72	1.00
Model 2	1.10	0.99	1.21	0.79	0.69	0.90	1.06	0.92	1.23	0.95	0.58	1.53	0.93	0.84	1.03	0.87	0.74	1.03

^a Model 1 adjusted age, gender, Time-lag between the beginning of the study and blood sampling center where BP has been measured, Education, Number of deliveries, Physical activity, Country of birth, Diet, alcohol intake, and smoking status; Model 2 adjusted for Model 1 + other components of the metabolic syndrome. * Diabetes status includes participants with HbA1c ≥ 6.1% (≥43 mmol/mol) or self-reported diabetes or drug treatment of elevated glucose (hypoglycemic medicines). ** The bold values are indicating the statistically significant associations ($p < 0.05$).

Le concentrazioni di PFAS risultano maggiori per le persone esposte a MetS rispetto a quelle non-esposte, come riportato in Tabella 8. Ciò tuttavia non è sufficiente per considerare una correlazione positiva tra la presenza di PFAS ed un aumento di MetS.

Tabella 8: Relazione tra concentrazione PFAS e presenza MetS (dati tratti da Jeddi, 2021)

	Presenza di MetS	Assenza di MetS
PFAS	Concentrazione ($\mu\text{g/L}$)	Concentrazione ($\mu\text{g/L}$)
PFOA	67.66	59.37
PFOS	7.54	5.89
PFHxS	4.54	4.63
PFNA	0.58	0.53

Altri monitoraggi condotti in diverse parti del mondo hanno portato a risultati simili con analogie tra concentrazioni di PFAS e sindrome metabolica; si ricordano in particolare 2 monitoraggi condotti in Cina: il primo è rappresentato da un campione di 148 persone tra i 19 ed i 60 anni, mentre il secondo studio si è basato su 1501 adulti (Yang, 2018), ed ha permesso di trovare una correlazione tra la concentrazione di PFAS ed un rischio di MetS pari a OR: 1.99 (95%, CI 1.40 – 2.83) considerando età e abitudini di vita.

A conferma di associazioni positive tra i quattro principali PFAS e parametri cardio-metabolici rientra un secondo monitoraggio condotto su 232 dipendenti della Miteni (il 33% dei dipendenti totali di sempre), il quale ha confermato un aumento di TC, LDL-C e pressione sanguigna in soggetti che presentavano notevoli concentrazioni di PFAS. (Batzella, 2022) Si è osservata una minore linearità per concentrazioni elevate, in particolare se maggiori di 50 ng/mL, nel senso che il rapporto risposta/esposizione diviene minore. Il dato conferma la preoccupante ipotesi che variazioni a basse concentrazioni di sostanze perfluoroalchiliche implicano differenze sugli effetti nella salute umana più marcate che ad elevate concentrazioni. (Canova, 2020)

Un ulteriore studio effettuato sempre in Veneto ha coinvolto bambini ed adolescenti esposti, con le modalità come precedentemente descritte, in quanto si sono riscontrati, proprio nella popolazione giovanile, le maggiori concentrazioni di PFAS. Lo scopo è di controllare associazioni tra PFAS e lipidi sierici. Il campione preso in esame ha considerato 2693 bambini di età compresa tra gli 8 ed i 11 anni assieme a 6669 adolescenti tra i 14 ed i 19 anni iscritti al programma di sorveglianza sanitaria del Veneto. Le analisi effettuate hanno comportato il prelievo di un campione di sangue non a digiuno e valutato le concentrazioni di PFOA (presente nel 99.9% adolescenti e nel 99.9% bambini), PFOS (99.8% - 99.3%), PFHxS (97.6% - 96.6%) e PFNA (43.8% - 28.3%) assieme al controllo del colesterolo totale (TC), colesterolo HDL-C e trigliceridi. I risultati sono mostrati nella Tabella 9. (Canova, 2021)

Tabella 9: Concentrazione di PFAS (ng/mL) espressa in quartili negli adolescenti e nei bambini in seguito al monitoraggio condotto da Canova et al (tratto da Canova, 2021).

Adolescents				
PFAS	<i>Quartile</i>			
	1	2	3	4
PFOA	[0.354-20.1]	[20.1-38.9]	[38.9-68.8]	[68.8-599.3]
PFOS	[0.354-2.2]	[2.2-3.3]	[3.3-4.9]	[4.9-86.8]
PFHxS	[0.354-1.6]	[1.6-2.8]	[2.8-4.8]	[4.8-27.2]
	<i>Below LOQ</i>		<i>low</i>	<i>medium</i>
PFNA	0.35353		[0.354-0.6]	[0.6-3.7]
Children				
PFAS	<i>Quartile</i>			
	1	2	3	4
PFOA	[0.354-12.9]	[12.9-20.9]	[20.9-33.5]	[33.5-316.3]
PFOS	[0.354-1.6]	[1.6-2.2]	[2.2-3.0]	[3.0-96.0]
PFHxS	[0.354-1.2]	[1.2-1.9]	[1.9-2.8]	[2.8-14.6]
	<i>Below LOQ</i>		<i>low</i>	<i>medium</i>
PFNA	0.35353		[0.354-0.5]	[0.5-3.1]

Dai dati relativi al colesterolo HDL-C ed al colesterolo totale TC è stato calcolato il colesterolo a bassa densità LDL-C. Si è proceduto misurando la pressione arteriosa sistolica e diastolica dei soggetti ed è stato calcolato l'indice di massa corporea. Per valutare i risultati, le concentrazioni di PFAS sono state espresse in scala logaritmica (logaritmo naturale) valutando l'effetto della miscela di PFAS sui singoli risultati con il metodo dei quantili (quartili) ponderati. Tra gli adolescenti sono state riscontrate delle correlazioni marcate tra TC e LDL-C ed ogni PFAS, mentre nei bambini solo PFOS e PFNA hanno dato correlazioni significative con TC, LDL-C. Per quanto riguarda l'HDL-C, tutti i PFAS, sia in bambini che in adolescenti, hanno dato correlazione positiva, ma questa era poco marcata tra gli adolescenti come riportato in Tabella 10.

Tabella 10: Valutazione per ogni PFAS del peso relativo rispetto ad ogni risultato nel monitoraggio condotto da Canova et al. (tratto da Canova, 2021).

ADOLESCENTS							
Outcome	TC	HDL-C	LDL-C	TG	BMI	SBP	DBP
β^*	2.35	0.68	1.79	0.01	-0.08	-0.04	-0.05
95% CI	[1.47, 3.23]	[0.34, 1.01]	[0.99, 2.59]	[0, 0.02]	[-0.12, -0.04]	[-0.46, 0.37]	[-0.33, 0.24]
PFAS	Weights for each outcome						
PFOA	0.03	0.00	0.08	0.99	0.22	0.57	0.06
PFOS	0.83	0.99	0.54	0.00	0.78	0.00	0.00
PFHxS	0.14	0.01	0.38	0.01	0.00	0.43	0.94
CHILDREN							
Outcome	TC	HDL-C	LDL-C	TG	BMI	SBP	DBP
β^*	2.43	1.14	1.49	-0.01	-0.1	-0.38	0.19
95% CI	[1.24, 3.62]	[0.58, 1.70]	[0.41, 2.58]	[-0.03, 0.01]	[-0.17, -0.03]	[-0.87, 0.1]	[-0.22, 0.61]
PFAS	Weights for each outcome						
PFOA	0.03	0.09	0.03	0.52	0.09	0.01	0.61
PFOS	0.96	0.82	0.94	0.40	0.51	0.92	0.32
PFHxS	0.01	0.09	0.03	0.08	0.40	0.06	0.07

* β corrisponde l'aumento del livello di colesterolo e pressione sanguigna associato ad un aumento del quartile dell'indice WQS - Weighted Quantile Sum

Lo studio mostra correlazioni significative tra principali PFAS ed i bio-marcatori del metabolismo dei lipidi. In particolare, ciò risulta marcatamente vero per PFOS e PFNA soprattutto a livello infantile. I risultati ottenuti da Canova et al sono simili a quelli ricavati in uno studio condotto nel *Mid-Ohio Valley, USA*, dove un'azienda chimica, come in Veneto, ha contaminato le falde acquifere. (Frisbee, 2009)

Oltre questo primo *screening*, che ha interessato gran parte della popolazione dimorante nella Zona Rossa, in Veneto sono stati condotti altri monitoraggi, con l'intento di ottenere risultati per verificare la pericolosità delle sostanze perfluoroalchiliche, valutando aspetti differenti. Interessante è uno studio basato su 257 persone, con un età compresa tra i 20 ed i 51 anni, residenti in comuni collocati nella Zona Rossa da almeno 10 anni; in cui si valuta la concentrazione di PFAS nel sangue a confronto con 250 cittadini non dimoranti in zone a forte esposizione degli inquinanti. I risultati hanno portato ad una differenza molto marcata delle concentrazioni di PFAS tra soggetti esposti e non esposti: la maggior discrepanza si è osservata per il PFOA, ma anche altri otto PFAS hanno dato esiti mediamente maggiori tra i residenti della Zona Rossa. Il PFOA è risultato mediamente pari a 13.77 ng/g per gli esposti e 1.64 ng/g negli altri soggetti. La varianza osservata tra i 257 residenti della Zona rossa è risultata molto ampia: il valore mediano per le persone residenti nell'ULSS 5 è pari a 74.21 ng/g, nettamente superiore al valore medio totale comprendente ULSS 5 ed ULSS 6, e più di 40 volte superiore ai dati relativi alle persone non esposte. (Ingelido, 2018)

2.4 Associazione tra esposizione a PFAS e mortalità del Covid-19 ad inizio pandemia

Un'interessante analisi ha valutato come la presenza di PFAS in Veneto abbia modificato il numero di decessi causati dal Covid-19 e riscontrati nell'area considerata Zona Rossa. Precedentemente si era rilevato come il PFBA (acido perfluorobutanoico) ha la capacità di bioaccumularsi nel tessuto polmonare (Pérez, 2013) aumentando la possibilità di gravi forme di Covid-19 dovute essenzialmente alla capacità della malattia di colpire i polmoni come organi bersaglio. Lo studio si è svolto nei 30 comuni della zona rossa (Figura 10, immagine di sinistra) ed ha considerato la mortalità dovuta al Covid-19 rispetto alla media degli altri comuni considerati (a parità di rischio mortalità) in tutto il territorio escludendo capoluoghi di provincia.

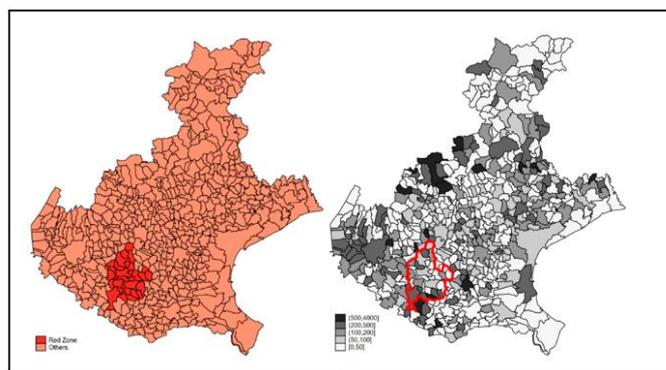


Figura 10: Sinistra: comuni inseriti nella zona rossa; destra: tasso di mortalità media per Covid-19 su 100000 abitanti nel periodo tra il 21 febbraio ed il 15 aprile 2020. (figura tratta da Catelan, 2021)

Lo studio si è basato sulla mortalità dovuta al Covid-19 confrontando il numero di decessi per 100000 abitanti riscontrati tra il 21 febbraio ed il 15 aprile e lo stesso arco temporale dei 5 anni precedenti al 2020. Si osserva che dove la popolazione registra tra il 2015 ed il 2019 una mortalità elevata, anche i decessi su 100000 abitanti per Covid-19 sono maggiori. Il risultato è un aumento di decessi nei comuni della Zona Rossa probabilmente dovuto ad un effetto immunodepressivo causato dalla presenza di alte concentrazioni di PFAS nei cittadini. Non sono stati svolti ulteriori studi atti a valutare la differenza di mortalità in base alla concentrazione delle varie sostanze perfluoroalchiliche per verificare ed escludere effetti casuali determinati da altri possibili fattori.

CONCLUSIONI

Le sostanze perfluoroalchiliche sono state ampiamente utilizzate nel corso degli ultimi cinquant'anni per le loro interessanti proprietà in diversi ambiti. Ad oggi, purtroppo, non si dispone di sostanze analoghe che permettano di essere utilizzate con il medesimo fine, ma disponendo di accertate condizioni di non-tossicità per l'uomo e l'ambiente. Molti sono gli studi condotti che contribuiscono a dichiarare non casuali le correlazioni tra PFAS e disfunzioni lipidiche in soggetti esposti ad alte concentrazioni. Preoccupante risulta il confronto tra l'aumento di concentrazione di PFAS nell'uomo e problemi legati a sindromi metaboliche, in quanto si osserva una varianza maggiore soprattutto a basse concentrazioni, confermando la pericolosità di queste sostanze anche in tracce, quindi comprendendo non solo persone coinvolte in disastri ambientali, ma anche quelle sottoposte ad un'esposizione di fondo tipica della presenza dei PFAS nell'ambiente. In Veneto si è osservata una delle principali contaminazioni da PFAS a livello mondiale seguita da un monitoraggio molto ampio tra i cittadini coinvolti. I risultati, solo in parte descritti in questa tesi, rappresentano un'importante fonte di conoscenza per questa tipologia di sostanze proponendo vari effetti causali dovuti ad alte esposizioni di inquinanti. Le difficoltà nell'ideare e condurre monitoraggi così ampi sono il numero elevato di fattori che possono modificare i risultati dell'indagine non rientranti nei questionari proposti ai soggetti durante l'intervista.

Osservando i dati risulta comunque evidente una forte correlazione tra la presenza di PFOA e PFOS ed un aumento di patologie per l'uomo soprattutto dovute alla persistenza di queste sostanze nell'individuo.

La "stagione" dei monitoraggi non può ovviamente dirsi terminata. Risulta fondamentale approfondire la conoscenza degli effetti avversi dei PFAS ed individuare possibili associazioni positive anche per i PFAS a catena corta di cui attualmente si fa (purtroppo) largo uso. E, naturalmente, risultano essenziali la prevenzione, la decontaminazione delle matrici contaminate in passato, nonché, si ritiene, anche l'informazione alla popolazione circa la pericolosità di tali sostanze e le precauzioni da adottare per il loro contenimento.

BIBLIOGRAFIA:

Agenzia Europea per l'Ambiente (2020) *Rischi chimici emergenti in Europa - "PFAS"* 22/01/2020

Aulss8 berica (2021) Pfas - Sostanze Perfluoroalchiliche 24/11/2021

Arpa.Veneto (2013) Sostanze perfluoro alchiliche (PFAS) ARPA Veneto-Vicenza prot.0075059/00.00 del 11/07/2013

ARPAV (2017) Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale del Veneto. *Pfas, arpav: acqua pulita in tutta l'area rossa*

Banks D. (2020) Selected advanced water treatment technologies for perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances. *separation and purification technology volume 231, 16 january 2020, 115929*

Bates D. e Mächler M. (2014) Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv: 1406.5823*

Batzella E. (2022) Perfluoroalkyl substance mixtures and cardio-metabolic outcomes in highly exposed male workers in the Veneto Region: A mixture-based approach. *Environmental Research (212) 2022, 113225*

Bertanza G. (2020) Long-term investigation on the removal of perfluoroalkyl substances in a full-scale drinking water treatment plant in the Veneto Region, Italy. *Sci total environ. 2020 Sep 10 734 139154*

Borgacci R. (2020) PFAS - sostanze perfluoroalchiliche, aprile 2020

Brendel S. (2018) Short-chain perfluoroalkyl acids: environmental concerns and a regulatory strategy under reach. *Environ Sci Eur. 2018; 30(1): 9*

Canova C. (2020) Associations between perfluoroalkyl substances and lipid profile in a highly exposed young adult population in the Veneto Region. *Environment International, 145, 106-117.*

Canova C. (2021) PFAS Concentrations and Cardiometabolic Traits in Highly Exposed Children and Adolescents. *Int. J. Environ. Res. Public Health 2021, 18(24), 12881*

Catelan D. (2021) Exposure to Perfluoroalkyl Substances and Mortality for COVID-19: A Spatial Ecological Analysis in the Veneto Region (Italy). *Int. J. Environ. Res. Public Health (2021) 18, 2734.*

Conder J. (2019) "Ecological Risks of Per and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS)" for the Australasian Land & Groundwater Association (ALGA) 12, 2019

De Voogt P. (2006) progetto europeo “Perforce”

Decreto Legislativo 13 ottobre 2015, n. 172 attuazione della direttiva 2013/39/ue, che modifica le direttive 2000/60/ce per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. (15G00186)

EcolStudio (2017) *Environmental Science & Technology Letters*, 02/2017

Frisbee S. J. (2009) The C8 Health Project: Design, Methods and Participants *Environmental Health Perspectives*, 117(12), 1799-A560

Giannace D. (2022) Acqua piovana: dannosa per la salute, 24 agosto 2022

Girardi P. (2018) La concentrazione di sostanze perfluorurate nel sangue dei dipendenti ed ex dipendenti delle ditte RIMAR e MITENI (Trissino, Vicenza). *Servizio Epidemiologico Regionale, Azienda Zero, Padova 27 dicembre 2018*

Girardi P, Merler E. (2018) Valutazione della mortalità degli addetti alla produzione di PFAS di un'azienda veneta. *InterCinD Annual Meeting, Venezia 01/06/2018*

Hao J. (2019) Degradation of perfluorooctane sulfonamide by *Acinetobacter* sp. M and its extracellular enzymes. *Chem. Asian J.*, 14 (2019), pp. 2780-2784

Hayashi R. (2015) Decomposition of perfluorinated compounds in water by DC plasma within oxygen bubbles. *Electr. Eng. Jpn.* 190 (2015), pp. 9-16

Harada K. (2005) Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ. Res.* 99, 253-261

Ingelido A.M. (2018) Biomonitoring of perfluorinated compounds in adults exposed to contaminated drinking water in the Veneto Region, Italy. *Environment International* 110 (2018) 149-159

Ingelido A.M. (2010) Perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoic acid exposures of the Italian general population. *Chemosphere* 80(10):1125-1130, 2010

IRF “Mario Negri (2019) Istituto di Ricerche Farmacologiche ‘Mario Negri’ *magazine*, 12/2019

Jeddy M.Z. (2021) Associations of Perfluoroalkyl Substances with Prevalence of Metabolic Syndrome in Highly Exposed Young Adult Community Residents—A Cross-Sectional Study in Veneto Region, Italy. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 1194.

Karimian N. (2018) Electrochemosensor for Trace Analysis of Perfluorooctanesulfonate in Water Based on a Molecularly Imprinted Poly(o-phenylenediamine) Polymer. *ACS Sens.* 2018, 3, 1291-1298

Kim T.-H., Lee S.-H. (2019) Decomposition of perfluorooctane sulfonate (PFOS) using a hybrid process with electron beam and chemical oxidants. *Chem. Eng. J.*, 361 (2019), pp. 1363-1370

Kwon B. G. (2014) Biodegradation of perfluorooctanesulfonate (PFOS) as an emerging contaminant. *Chemosphere*, 109 (2014), pp. 221-225

Lee J. H. (2017) Serum concentrations of per-andpoly-fluoroalkylsubstances and factors associated with exposure in the general adult population in South Korea. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 220(7) 1195-1198, 2017

LegAmbienteVeneto.it (2014) Inquinamento da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) delle acque superficiali e delle falde acquifere nei territori delle province di Vicenza, Verona e Padova. legambienteveneto.it/pfas-cosa-sono-e-come-incidono-sulla-salute-delluomo, 2014

Leung S. C. E. (2022) Emerging technologies for pfos/pfoa degradation and removal. *Science of the total environment volume 827*, 25 JUNE 2022, 153669

Levey A. S. (2009) A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate, 05/2009

Marchesi L. ARPAV(2019) I Piani nell'inquinamento da PFAS in Veneto: gli studi ambientali. 11/12/2019

McNamara J.D. (2018) Comparison of activated carbons for removal of perfluorinated compounds from drinking water. *J. Am. Water Works Assoc.* 110 (2018), pp. E2-E14

Merino N. (2016) Degradation and removal methods for perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in water. *Environ. Eng. Sci.*, 33 (2016), pp. 615-649

Minuz P. (2021) Interference of c6o4 on platelet aggregation pathways: cues on the new-generation of perfluoro-alkyl substance. *Environment International volume 154*, september 2021, 106584

Morganti M. (2021) Exposure assessment of PFAS-contaminated sites using avian eggs as a biomonitoring tool: A frame of reference and a case study in the Po River valley (Northern Italy). *Integr Environ Assess Manag* 2021 Jul 17(4):733-745

Olsen G. W. (2007) Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ. Health Perspect.*, 115 (2007), pp. 1298-1305

Pérez F. (2013) Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environment International*, 59, 354-362

- Pierozan P. (2022)** Tumorigenic activity of alternative per- and polyfluoroalkyl substances (pfas): mechanistic in vitro studies. *Science of the Total Environment* volume 808, 20 february 2022, 151945
- Pitter G. (2020)** Serum Levels of Perfluoroalkyl Substances (PFAS) in Adolescents and Young Adults Exposed to Contaminated Drinking Water in the Veneto Region, Italy: A Cross-Sectional Study Based on a Health Surveillance Program. *Environmental Health Perspectives* 128 (2), 02/2020
- Pitter G. (2020)** Perfluoroalkyl substances are associated with elevated blood pressure and hypertension in highly exposed young adults. *Environmental Health* (2020) 19.102
- Radjenovic J., Sedlak D. L. (2015)** Challenges and opportunities for electrochemical processes as next-generation technologies for the treatment of contaminated water *Environ. Sci. Technol.*, 49 (2015), pp. 11292-11302
- Rodriguez-Freire L. (2015)** Effect of sound frequency and initial concentration on the sonochemical degradation of perfluorooctane sulfonate (PFOS). *J. Hazard. Mater.* 300 (2015), pp. 662-669
- Sahu O. (2013)** Treatment of wastewater by electrocoagulation: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 21 (2013), pp. 2397-2413
- Santos A. (2016)** Use of Fenton reagent combined with humic acids for the removal of PFOA from contaminated water. *Sci. Total Environ.*, 563-564 (2016), pp. 657-663
- SNPAmbiente (2018)** Obiettivo "Zero Pfas" in Veneto: i controlli Arpav, 14/02/18
- Wang Y. (2016)** Electrocoagulation mechanism of perfluorooctanoate (PFOA) on a zinc anode: influence of cathodes and anions. *Sci. Total Environ.* 557-558 (2016), pp. 542-550
- William B. (2018)** Linee guida ESC/ESH 2018 per la diagnosi e il trattamento dell'ipertensione arteriosa.
- Yang Q. (2018)** Association of serum levels of perfluoroalkyl substances (PFASs) with the metabolic syndrome (MetS) in Chinese male adults: A cross-sectional study. *Sci. Total Environ.* 2018, 621, 1542-1549
- Zhang C. (2014)** Remediation of perfluoroalkyl substances in landfill leachates by electrocoagulation: remediation of perfluoroalkyl substances. *Clean Soil Air Water*, 42 (2014), pp. 1740-1743
- Zhang Y. (2013)** Biomonitoring of perfluoroalkylacids in human urine and estimates of biological half-life. *Environmental Science & Technology*, 47 (18): 10619-10627