



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA**  
**FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI**

**DOTTORATO DI RICERCA**  
**IN SCIENZE CHIMICHE**  
XXIII CICLO

COORDINATORE Prof. Carlo Alberto BIGNOZZI

**STUDIO DELLA CARATTERIZZAZIONE CHIMICA DI**  
**COMPOSTI ORGANICI POLARI NEL PARTICOLATO**  
**ATMOSFERICO**

Settore Scientifico Disciplinare CHIM/01

**Dottorando**  
Dimitri Bacco

**Tutore**  
Prof. Francesco Dondi

**Anni 2008-2010**





Your E-Mail Address

bacco.dimitri@libero.it

Subject

Dichiarazione di conformità

Io sottoscritto Dott. (Cognome e Nome)

Bacco Dimitri

nato a

Ferrara

Provincia

Ferrara

il giorno

20/03/1978

avendo frequentato il corso di Dottorato di Ricerca in:

Chimica Analitica ed Ambientale

Ciclo di Dottorato

XXIII

Titolo della tesi in Italiano

Studio della caratterizzazione chimica di composti organici polari nel particolato atmosferico

Titolo della tesi in Inglese

Chemical characterization study of polar organic species in atmospheric airborne particulate

Titolo della tesi in altra Lingua Straniera

Tutore - Prof:

Dondi Francesco

Settore Scientifico Disciplinare (SSD)

CHIM/01

Parole chiave (max 10)

Particolato atmosferico, organici, polari, microinquinanti, derivatizzazione

Consapevole - Dichiaro

CONSAPEVOLE --- 1) del fatto che in caso di dichiarazioni mendaci, oltre alle sanzioni previste dal codice penale e dalle Leggi speciali per l'ipotesi di falsità in atti ed uso di atti falsi, decade fin dall'inizio e senza necessità di alcuna formalità dai benefici conseguenti al provvedimento emanato sulla base di tali dichiarazioni; -- 2) dell'obbligo per l'Università di provvedere al deposito di legge delle tesi di dottorato al fine di assicurarne la conservazione e la consultabilità da parte di terzi; -- 3) della procedura adottata dall'Università di Ferrara ove si richiede che la tesi sia consegnata dal dottorando in 4 copie di cui una in formato cartaceo e tre in formato .pdf, non modificabile su idonei supporti (CD-ROM, DVD) secondo le istruzioni pubblicate sul sito : <http://www.unife.it/dottorati/dottorati.htm> alla voce ESAME FINALE – disposizioni e modulistica; -- 4) del fatto che l'Università sulla base dei dati forniti, archiverà e renderà consultabile in rete il testo completo della tesi di dottorato di cui alla presente dichiarazione attraverso l'Archivio istituzionale ad accesso aperto "EPRINTS.unife.it" oltre che attraverso i Cataloghi delle Biblioteche Nazionali Centrali di

Roma e Firenze. --- DICHIARO SOTTO LA MIA RESPONSABILITA' --- 1) che la copia della tesi depositata presso l'Università di Ferrara in formato cartaceo, è del tutto identica a quelle presentate in formato elettronico (CD-ROM, DVD), a quelle da inviare ai Commissari di esame finale e alla copia che produrrà in seduta d'esame finale. Di conseguenza va esclusa qualsiasi responsabilità dell'Ateneo stesso per quanto riguarda eventuali errori, imprecisioni o omissioni nei contenuti della tesi; -- 2) di prendere atto che la tesi in formato cartaceo è l'unica alla quale farà riferimento l'Università per rilasciare, a mia richiesta, la dichiarazione di conformità di eventuali copie. --- PER ACCETTAZIONE DI QUANTO SOPRA RIPORTATO

Dichiarazione per embargo

6 mesi

Firma Dottorando

Ferrara, li 27/01/2011 Firma del Dottorando

Firma Tutore

Visto: Il Tutore Si approva Firma del Tutore

Francesco De... ..

## ELENCO DELLE PUBBLICAZIONI

1. Maria Chiara Pietrogrande, Dimitri Bacco, Mattia Mercuriali.  
“GC-MS analysis of low-molecular-weight dicarboxylic acids in atmospheric aerosol: comparison between silylation and esterification derivatization procedures.”  
*Analytical Bioanalytical Chemistry*, 396: 877-855, 2010.
2. Maria Chiara Pietrogrande, Dimitri Bacco.  
“GC-MS analysis of water-soluble organics in atmospheric aerosol: Response surface methodology for optimizing silyl-derivatization for simultaneous analysis of carboxylic acids and sugars.”  
*Analytica Chimica Acta*, Articolo in stampa.
3. Maria Chiara Pietrogrande, Gülcin Abbaszade, Jürgen Schnelle-Kreis, Dimitri Bacco, Ralf Zimmermann.  
“Seasonal variation and source estimation of organic compounds in urban aerosol of Augsburg, Germany.”  
Articolo sottoposto alla pubblicazione.

## CONTRIBUTI A CONGRESSI

1. D. Bacco; F. Dondi; M. Mercuriali; M.C. Pietrogrande.  
“Analisi GC-MS della componente organica idrosolubile di PM: confronto ed ottimizzazione di procedure di derivatizzazione di acidi dicarbossilici”.  
PM 2008: 3° Convegno Nazionale sul Particolato Atmosferico, Bari (BA), 2008 – Contributo Poster
2. D. Bacco; F. Dondi; M. Mercuriali; M.C. Pietrogrande.  
“Determination of low-molecular weight polar compounds in PM: comparison between silylation and esterification derivatization procedures for GC-MS analysis”.  
EAC2009: European Aerosol Conference, Karlsruhe (Germany), 2009 – Contributo Poster
3. D. Bacco.  
“Studio della caratterizzazione chimica del particolato atmosferico al fine della valutazione del suo impatto sull’ambiente e sulla salute umana”.  
IX Giornata della Chimica dell’Emilia Romagna, Bologna (BO), 2009 (Premio SCI-ER) – Contributo Orale
4. M.C. Pietrogrande; D. Bacco; L. Pasti.  
“Optimization of the silyl-derivation procedure for simultaneous determination of carboxylic acids and sugars in pm samples”.  
ISCC 2010: 34th Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda (TN), 2010 – Contributo Poster
5. D. Bacco; M.C. Pietrogrande; F. Dondi.  
“Studio di tecniche di analisi in GC-MS per la caratterizzazione chimica della frazione idrosolubile del particolato atmosferico”.  
PM 2010: 4° Convegno Nazionale sul Particolato Atmosferico, Venezia (VE), 2010 – Contributo Orale

# INDICE

SCOPO DEL LAVORO SVOLTO	1
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Particolato atmosferico	5
1.2 Frazione organica del PM	7
1.3 Sostanze traccianti e apporto delle sorgenti	9
1.3.1 Acidi carbossilici	10
1.3.2 Zuccheri	13
1.4 Progetto Monitor	16
2. MESSA A PUNTO DEL METODO ANALITICO	17
2.1 Scelta della procedura di derivatizzazione	17
2.1.1 Sililazione	19
2.1.2 Esterificazione	25
2.2 Confronto tra le due procedure di derivatizzazione	29
3. ESTENSIONE DEL METODO ALL'ANALISI DI ZUCCHERI	33
3.1 Disegno sperimentale	33
3.2 Ottimizzazione delle condizioni di derivatizzazione	37

4. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE: ESTRAZIONE ED EVAPORAZIONE	49
4.1 Direct Thermal Desorption	52
4.2 Applicazione della tecnica IDTD-GC-TOFMS	56
5. RISULTATI SPERIMENTALI	59
5.1 Campagna di campionamento estiva	63
5.2 Campagna di campionamento invernale	70
5.3 Studio delle sorgenti e del loro contributo	76
5.3.1 Concentrazione totale degli acidi dicarbossilici	76
5.3.2 Distribuzione media dei singoli acidi	77
5.3.3 Acido malonico e acido succinico	77
5.3.4 Acido adipico e acido azelaico	80
5.3.5 Levoglucosano	82
6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE	85
7. DATI SPERIMENTALI	89
7.1 Analisi di campioni di PM <sub>2.5</sub> eseguita con IDTD-GC-MS	89
7.1.1 Idrocarburi policiclici aromatici	89
7.1.2 Derivati ossidati dei PAH	92
7.1.3 Opani	94
7.1.4 Alcani lineari	96
7.1.5 Saccaridi	98
7.2 Analisi di campioni di PM <sub>2.5</sub> eseguita con SE-GC-MS e derivatizzazione con BSTFA	99
7.2.1 Alcani lineari	99
7.2.2 Saccaridi	100
7.3 Risultati relativi all'analisi di campioni di PM provenienti da una campagna di campionamento estiva (Giu-Lug '08)	101



7.4 Risultati relativi all'analisi di campioni di PM provenienti da una campagna di campionamento invernale (Gen-Mar '09)	109
7.4.1 Acidi carbossilici	109
7.4.2 Saccaridi	117
8. BIBLIOGRAFIA	121
9. PUBBLICAZIONI	127



## SCOPO DEL LAVORO SVOLTO

La tematica del presente progetto di Dottorato si riferisce allo sviluppo di metodi analitici innovativi per la caratterizzazione chimica di matrici complesse di interesse ambientale, quale l'aerosol atmosferico. In questo ambito è stato sviluppato un metodo analitico multiresiduo che risulta di estremo interesse in quanto può essere applicato nel monitoraggio ambientale in modo da ottenere il massimo numero di informazioni sulla composizione chimica con un ridotto impegno di tempo e lavoro.

Al fine di ridurre la manipolazione del campione, è stato anche investigato un approccio innovativo che si basa sull'analisi diretta del filtro di raccolta del particolato atmosferico mediante desorbimento termico direttamente accoppiato ad uno spettrometro di massa a tempo di volo (IDTD-GC-TOFMS). Questo studio è stato svolto nell'ambito di una collaborazione con il gruppo di ricerca del Prof. Ralf Zimmermann, presso l'Helmholtz Zentrum di Monaco di Baviera (Germania).

Entrambe queste ricerche sono state supportate dall'impiego di metodi matematici statistici che hanno permesso di ottimizzare le condizioni operative dei metodi analitici (Disegno Sperimentale) o di interpretare la grande quantità di dati analitici ottenuti dalle misure.

E' noto che si sta verificando un crescente interesse dell'opinione pubblica e delle autorità sulle proprietà e l'origine del particolato atmosferico (PM) poiché è stato accertato il suo impatto negativo sull'ambiente e sulla salute dell'uomo. In particolare, sta diventando sempre più importante riuscire a comprendere i meccanismi che portano alla formazione e alla diffusione del particolato atmosferico. Si tratta di un problema particolarmente difficile per la chimica analitica, in quanto il

particolato è formato da migliaia di sostanze, sia organiche che inorganiche, per cui a tutt'oggi non è stata ancora realizzata una totale speciazione. Inoltre i processi atmosferici di trasporto delle masse d'aria e di trasformazione dei composti che sono sottoposti ad agenti ossidanti e a reazioni fotochimiche rendono fondamentale l'individuazione delle sorgenti anche quando esse fossero molto distanti dal punto di raccolta del PM. A tale scopo tutti i moderni approcci, più che caratterizzare tutte le sostanze presenti, tendono ad individuare e limitare l'indagine a specifiche sostanze (*marker*) che siano caratteristiche di determinate sorgenti, che permettano di distinguere tra fonti biogeniche e antropogeniche e che diano indicazione del livello di trasformazione subito dai composti dal momento della loro emissione da sorgenti primarie (SOA: Secondary Organic Aerosol).

La finalità del lavoro svolto era di sviluppare un approccio multiresiduo innovativo da applicare ad un sistema complicato come quello dell'aerosol atmosferico in modo da ottenere informazioni sulle sorgenti presenti, sul contributo antropico e sullo stato di formazione del SOA, identificando e quantificando un'ampia gamma di composti. In questo contesto, il presente lavoro si è concentrato su un gruppo di sostanze presenti nel PM che potesse fornire informazioni importanti: la frazione organica idrosolubile (WSOC) del PM, che essendo la più biodisponibile potrebbe risultare anche la più interessante per stimare il rischio per la salute dell'uomo. I componenti principali di questa frazione sono gli acidi dicarbossilici e gli zuccheri.

Si tratta di composti presenti a concentrazioni molto basse, in media pochi  $\text{ng}/\text{m}^3$  di aria campionata, è quindi la loro analisi richiede tecniche molto sensibili: la tecnica principalmente utilizzata è la gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS) poiché possiede un grande sensibilità oltre che un eccellente potere separativo per riuscire ad identificare gli analiti di interesse in matrici estremamente complesse come il PM. Inoltre, l'analisi GC di questi composti costituisce un complesso problema analitico, poiché, è necessario un processo preliminare di derivatizzazione al fine di innalzare la volatilità di composti molto polari.

Pertanto il presente lavoro di tesi è iniziato considerando e confrontando le tecniche di derivatizzazione maggiormente diffuse, di sililazione ed esterificazione, al fine di scegliere quella che permettesse di raggiungere il livello di sensibilità, specificità e applicabilità necessario all'analisi di campioni ambientali. Tale confronto ha

dimostrato che la tecnica migliore è la silylazione con *N,O*-bis(trimetilsilil)-trifluoroacetammide (BSTFA): con questa procedura è stato messo a punto un metodo che permette di analizzare 15 acidi carbossilici con limiti di rilevabilità mediamente inferiori a 3ng/m<sup>3</sup>.

Lo studio si è successivamente sviluppato per poter estendere il numero e le proprietà degli analiti presenti nel WSOC: in particolare per poter analizzare anche gli zuccheri, in quanto *marker* molecolari specifici che forniscono importanti informazioni sulle sorgenti di composti organici nel PM. In particolare, si trattava di ottimizzare i parametri della reazione di derivatizzazione che hanno effetto sulla resa della reazione e quindi sulla sensibilità del metodo analitico, quali il tempo e la temperatura di reazione e la quantità/composizione dei reagenti. Si è utilizzato un approccio matematico/statistico per poter valutare simultaneamente l'effetto di questi fattori con un numero ridotto di prove sperimentali. Si è utilizzato un modello di disegno sperimentale, applicando un disegno centrale composito ai diversi parametri. Questo ha permesso di sviluppare un metodo che consente la determinazione simultanea di 15 acidi e 7 zuccheri presenti nel particolato atmosferico ad un livello di concentrazione inferiore a 10ng/m<sup>3</sup> nella maggior parte dei casi.

La procedura è stata applicata con successo ad una serie di campioni di particolato atmosferico, sia fine (PM<sub>2,5</sub>) che ultrafine (PM<sub>1</sub>), all'interno di un progetto integrato di monitoraggio ambientale di un'area locale intorno a Bologna (Progetto Monitor, sviluppato dall'ARPA-ER): consisteva in due campagne di campionamento, una estiva ed una invernale, su 8 siti, con caratteristiche urbane, rurali o intermedie. I dati analitici ottenuti hanno fornito informazioni significative sull'apporto antropogenico dovuto sia al trasporto urbano che al riscaldamento domestico, sul contributo dovuto all'attività agricola e allo stato di formazione di sostanze organiche originate da processi in atmosfera (SOA).

Nello sviluppo di metodi innovativi applicabili al monitoraggio ambientale, si è anche studiato un innovativo metodo di analisi dei campioni di PM, basato sul desorbimento termico diretto, con derivatizzazione *in situ*, e gas cromatografia accoppiata ad uno spettrometro di massa a tempo di volo (IDTD-GC-TOFMS). Questo studio è stato condotto durante un periodo svolto all'estero, nell'ambito della collaborazione esistente con il gruppo di ricerca del Prof. Ralf Zimmermann, presso

l'Helmholtz Zentrum di Monaco di Baviera (Germania). Questa tecnica permette l'analisi dei campioni ambientali evitando i più comuni trattamenti di estrazione del campione in quanto gli analiti vengono desorbitati termicamente direttamente dal filtro e possono, così, entrare nella colonna cromatografica. L'aggiunta dell'agente derivatizzante sul filtro porta alla reazione in fase gassosa dei composti polari che vengono silanizzati. L'applicazione di IDTD-GC-TOFMS a dei campioni di PM<sub>2.5</sub> ha portato all'identificazione contemporanea di specie sia polari, come gli zuccheri, che apolari come alcani e idrocarburi policiclici aromatici (PAH), con grande vantaggio in termini di tempo impiegato e perdite di analiti in fase di trattamento del campione. In conclusione, sono stati sviluppati metodi analitici con caratteristiche idonee per la loro applicabilità al monitoraggio ambientale in modo da ottenere informazioni sulla composizione chimica che possano essere integrate con altre informazioni di tipo fisico, meteorologico, ambientale per un approccio integrato di studio del particolato atmosferico e del suo impatto sull'ambiente e sull'uomo.

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 Particolato atmosferico

Il particolato atmosferico (PM, Particulate Matter) è una matrice estremamente complessa che include un grandissimo numero di specie diverse, sia organiche che inorganiche. Negli studi ambientali riuscire ad ottenere una caratterizzazione completa ed esauriente del PM sarebbe uno dei traguardi più importanti da raggiungere. Data la complessità del sistema, però, a tutt'oggi non è stato possibile separare e caratterizzare tutti i singoli componenti del PM arrivando ad una speciazione completa della miscela. Si rende necessario, di conseguenza, individuare precise sostanze, o classi di sostanze, in grado di fornire indicazioni sulla natura delle sorgenti che hanno generato il particolato, siano esse antropogeniche o biogeniche, e sul tempo di permanenza in atmosfera dello stesso (*marker* e *tracer* specifici).

Lo studio dell'aerosol atmosferico e del suo livello di inquinamento guadagna sempre maggiore interesse presso le istituzioni scientifiche e le agenzie pubbliche di controllo data la comprovata correlazione esistente tra il rischio per la salute pubblica e l'esposizione al particolato, in particolare a quello fine o ultra-fine, e, in dettaglio, alla sua componente organica [1].

Numerosi studi epidemiologici hanno identificato una relazione tra la concentrazione del particolato atmosferico e l'incidenza di malattie polmonari e cardiovascolari [2-4]. L'effetto diviene ancor più evidente quando si prende in considerazione la

concentrazione della frazione di particolato con diametro aerodinamico inferiore a  $2.5\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{2.5}$ , particolato fine).

Oltre al numero di particelle o alla concentrazione in massa delle stesse, anche la composizione chimica è importante, quando si prendono in esame gli effetti sulla salute, per determinare, ad esempio, le possibili reazioni che possono avvenire nel tratto respiratorio o le risposte immunitarie del corpo.

I risultati di studi epidemiologici, di tossicologia su animali ed esperimenti *in vitro* confermano l'ipotesi che le caratteristiche sia fisiche (dimensione, forma e area superficiale) che chimiche (reazioni catalitiche sulla superficie e specie disciolte o adsorbite) delle particelle inalate sono coinvolte nei meccanismi di intossicazione o carcinogenesi [5].

Recentemente è stato, inoltre, riconosciuto che le particelle ultra-fine ( $D_p < 100\text{nm}$ ) sono più dannose che non le particelle di maggior diametro ( $\text{PM}_{10}$ ) [6-8]: l'alto rapporto tra area superficiale e dimensioni e la possibilità di essere assorbite nei tessuti possono influenzarne notevolmente la tossicità cardio-polmonare.

La quantità di particolato ultra-fine, però, risulta spesso scarsamente correlata con i tagli di dimensioni maggiori, sia  $\text{PM}_{2.5}$  che  $\text{PM}_{10}$ , è ciò rende complicato interpretare l'interazione tra massa di particolato e effetti sulla salute.

L'influenza delle specie chimiche adsorbite sulla superficie non è stata ancora compresa appieno. Sono stati eseguite indagini epidemiologiche sull'effetto delle specie legate alle particelle solo riguardo alcune specie inorganiche [9]: il ruolo dei metalli di transizione (come ad esempio ferro, zinco o vanadio) in reazioni acute è ancora in discussione [10].

Si conosce ancora poco sull'effetto sulla salute delle specie organiche presenti sul particolato atmosferico. Finora tale influenza è stata valutata sul rapporto tra la concentrazione di carbonio elementare ed organico (EC/OC) [11].

Per eseguire studi di valutazione dell'influenza nel tempo degli inquinanti organici sono necessari dati giornalieri sull'andamento della concentrazione di tali composti, che, vista, anche, la scarsa concentrazione della maggior parte di queste specie nel aerosol atmosferico, non è sempre stato possibile ottenere.

Numerosi lavori studiano la composizione organica del particolato atmosferico utilizzando tecniche Gas Cromatografiche accoppiate alla Spettrometria di Massa



(GC-MS), viste le ottime capacità separative e riconoscitive mostrate nell'analisi di miscele complesse [12,13].

Lo studio sull'origine degli inquinanti atmosferici, su quali siano le principali sorgenti e l'apporto dovuto al trasporto di sostanze da regioni lontane (*Source Apportionment*) diventa sempre più importante alla luce delle nuove norme fissate per le particelle inferiori a  $10\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{10}$ ) nella direttiva 99/30/EC (EC Directive, 1999). Inoltre, la Air Quality Framework Directive 96/92/EC (EC Directive, 1996), ha reso necessario alle autorità delle zone che non si attengono ai limiti la valutazione dell'inquinamento da  $\text{PM}_{10}$  [14].

## **1.2 Frazione organica del PM**

Nell'atmosfera avvengono numerosi processi di formazione e trasformazione dei composti organici. Queste sostanze sono abbondanti ed ubiquitarie nell'aerosol atmosferico, tipicamente esse compongono tra il 20% e il 50% della massa delle particelle [15-19] e sono spesso intrinsecamente mescolate ai componenti inorganici [20-22]. Le specie organiche giocano un ruolo importante nella fase di formazione, crescita e rimozione dell'aerosol [23], hanno, inoltre, un peso significativo sulle caratteristiche di igroscopicità [24], tossicità [25], radiazione diretta [26,27] e sugli effetti indiretti [28] dell'aerosol atmosferico e, quindi, sulle conseguenti implicazioni riguardanti gli effetti climatici, la visibilità e la salute.

Per riuscire a chiarire il ruolo del particolato sulla città e a livello mondiale per via dei fenomeni di trasporto delle masse d'aria, nonché la sua origine e il suo destino, è necessario approfondire la conoscenza e la comprensione delle caratteristiche chimiche e microfisiche della frazione organica. Ciononostante, risulta estremamente complicato ottenere una completa caratterizzazione chimiche dell'aerosol a causa del grandissimo numero di specie presenti, della enorme complessità del sistema e dall'ampia varietà di proprietà chimiche e fisiche di tali composti [29].

Le specie organici sono componenti importanti dell'atmosfera e la formazione dell'aerosol organico è uno dei più importanti processi di rimozione dei composti organici volatili (VOC: Volatile Organic Compounds). Queste sostanze, quindi, hanno un ruolo importante nelle reazioni fotochimiche che portano alla produzione dell'ozono in atmosfera [30]. Inoltre competono con le sostanze inorganiche per specie ossidanti come l'ozono stesso e i radicali ossidrilici e nitrato [31].

Se l'aerosol organico si raccoglie in agglomerati di dimensioni nell'ordine del sub-micron può dare origine a nuclei di condensazione per la formazione di nubi [32]. Avendo proprietà ottiche e di diminuzione della visibilità, è stato collegato a variazioni indirette del clima [33], inoltre può variare le caratteristiche chimiche, ottiche e igroscopiche dell'aerosol inorganico [34].

La presenza di alcuni composti in particolare, come gli idrocarburi policiclici aromatici (PAH: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons), desta preoccupazione data le comprovate proprietà cancerogene o mutageniche di quest'ultimi [35-37]. La maggior parte della frazione organica dell'aerosol è associata a particelle sufficientemente piccole da poter entrare nell'apparato respiratorio [38].

L'aerosol organico secondario (SOA: Secondary Organic Aerosol) può formarsi da precursori sia biogenici, cioè naturali, che antropogenici, cioè prodotti dall'azione dell'uomo. Comunemente i composti di origine biogenica sono per la maggior parte terpeni, che possono arrivare a costituire il 80% del VOC prodotto dalle conifere. Le principali, e più diffuse, sorgenti antropogeniche sono il trasporto veicolare, che pesa per circa il 50%, e i siti industriali [31]. La formazione di SOA segue complesse vie di sintesi, la maggior parte delle quali sconosciute. Nonostante esistano numerose incertezze al riguardo, viene generalmente riconosciuto che l'aerosol organico è dovuto principalmente a specie aventi tra 5 e 10 atomi di carbonio ( $C_5-C_{10}$ ), perché composti con più di 10 atomi di carbonio tendono ad avere una bassa concentrazione, o comunque specie con basso peso molecolare ma aventi alte pressioni di vapore di saturazione [31], e anche quando i prodotti sono presenti ad una concentrazione inferiore, possono comunque condensarsi su particelle esistenti [39]. Le specie organiche possono, infatti, formare nuovo aerosol per condensazione o per reazione con aerosol pre-esistente [38]. Specie che rendono l'atmosfera ossidante, come il radicale ossidrilico e l'ozono, possono trasformare gli idrocarburi in composti

contenenti gruppi funzionali carbossilici (-COOH), carbonilici (-CO) o idrossilici (-OH): il radicale OH· attacca gli alcani. Il C4 innesca la reazione, si formano degli alcossidi radicalici come intermedi che, attraverso meccanismi di isomerizzazione, portano alla formazione di prodotti carbonilici. Nel caso di idrocarburi contenenti doppi legami, come gli alcheni, ad esempio, la reazione può essere innescata direttamente da agenti ossidanti come l'ozono o il radicale idrossile. Le reazioni successive portano alla formazione di prodotti come i chetoni, gli acidi carbossilici, gli acidi osso-carbossilici, ecc. [40-42].

Una comprensione dettagliata e precisa dei meccanismi di formazione dell'organico secondario (SOA) in atmosfera è essenziale per caratterizzare la composizione chimica dell'aerosol organico, in modo da poterli incorporare nei modelli sulla qualità dell'aria e essere in grado di ricavare nelle giuste proporzioni il contributo alla quantità totale di composti organici nell'aerosol all'azione dell'uomo piuttosto che a sorgenti naturali.

Nei campioni di aerosol urbano, rurale e, persino, marino sono stati individuati, ad esempio, alcani a lunga catena, chetoni, acidi alcanici e relativi sali, acidi dicarbossilici, idrocarburi policiclici aromatici e le relative forme ossigenate o nitate (PAH, o-PAH e Nitro-PAH) [42].

### **1.3 Sostanze traccianti e apporto delle sorgenti**

Lo studio della composizione della frazione organica del particolato atmosferico fine (PM<sub>2.5</sub>) è un ambito di ricerca multidisciplinare, importante per svariate ragioni.

In primo luogo, per controllare la concentrazione del particolato atmosferico in atmosfera è prima necessaria una profonda comprensione delle sorgenti di emissione. Tra le molte specie presenti nella frazione organica ce ne sono alcune che possono essere collegate a specifiche sorgenti, e quindi fungere da traccianti caratterizzanti, oppure prodotte esclusivamente, o quasi, da reazioni fotochimiche in atmosfera. Identificare il contributo in massa alla complessa miscela del PM<sub>2.5</sub> dato da queste

specie, fortemente collegate a precise sorgenti (marker), unitamente alle informazioni che si possono ottenere da modelli di bilancio di massa delle sostanze chimiche (CMB: Chemical Mass Balance), per esempio, può garantire un approccio quantitativo per stimare l'apporto di ogni singola sorgente alla formazione del particolato fine nelle aree urbane [43-45].

In secondo luogo, non è possibile finora avere una completa caratterizzazione della miscela di specie organiche componenti la frazione organica del  $PM_{2.5}$ : approssimativamente solo il 20% in massa di tale frazione è stato quantitativamente risolto nelle singole sostanze [43,44,46,47], ma il rimanente 80% di questa complessa miscela può contenere composti molto utili come indicatori ambientali di esposizione al particolato, ad esempio. Una descrizione incompleta della composizione organica del particolato fine ha reso più complesso e lento lo studio dei collegamenti esistenti tra i costituenti tossici del PM e gli indicatori della salute [48].

In particolare, gli acidi dicarbossilici a basso peso molecolare e gli zuccheri (o le sostanze da essi derivanti) sono due dei più importanti gruppi di composti, identificati nel particolato fine, provenienti da differenti sorgenti. A causa della loro ubiquità e, relativa, abbondanza sono potenzialmente utili come traccianti molecolari per determinare l'origine antropogenica o naturale dell'aerosol, ottenendo informazioni sulle sorgenti delle emissioni, sui processi e sui percorsi seguiti dalle sostanze organiche nell'aerosol atmosferico.

### **1.3.1 Acidi carbossilici**

Gli acidi dicarbossilici sono la classe di composti più abbondante tra i componenti organici del particolato atmosferico [43]. La considerazione di utilizzarli come indicatori dell'aerosol organico secondario risalgono alle prime osservazioni degli spettri di massa dell'aerosol atmosferico [49].

La formazione di acidi dicarbossilici in atmosfera è dovuta a reazioni fotochimiche in fase gassosa da un'ampia gamma di precursori sia di origine antropogenica che biogenica. Sono stati identificati, tramite esperimenti in smog chambre, come

derivanti dall'ossidazione delle ciclo olefine [50,51], ed è stata avanzata l'ipotesi che siano i prodotti, sempre in seguito a processi di ossidazione in atmosfera, delle degradazione di idrocarburi aromatici, acidi grassi e acidi dicarbossilici a maggior peso molecolare [52]. Sono collegabili alla formazione fotochimica di radicali [53] ed è plausibile, anche, che derivino da processi in fase acquosa nella nebbia o nelle nubi [54].

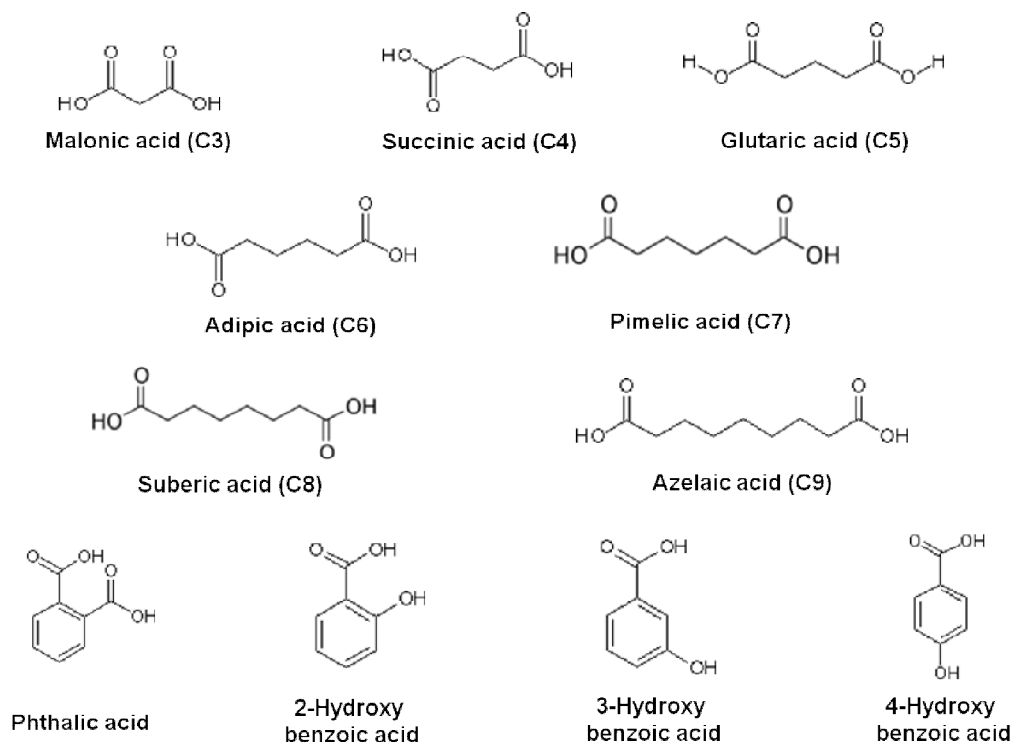
La, relativamente, alta concentrazione degli acidi dicarbossilici nel aerosol atmosferico e il fatto che derivino da una grande varietà di precursori differenti, rende molto interessante studiare il loro possibile ruolo di indicatori dello stadio di formazione dell'aerosol secondario (SOA).

Gli acidi dicarbossilici, inoltre, sono un'importante parte dell'insieme dei composti organici idrosolubili presenti sul particolato (WSOC: Water Soluble Organic Carbon) [16,43,50,52,55]. Vengono considerati con attenzione per il loro possibile ruolo nelle modificazioni climatiche. Dato la bassa tensione di vapore e l'alta solubilità in acqua, hanno un'influenza rilevante sulle caratteristiche chimiche e fisiche delle particelle di aerosol [56]. Ne consegue che possano avere un effetto diretto, o indiretto, sul bilancio radiativo terrestre, modificando lo scattering delle radiazioni solari che contrasta il riscaldamento globale innescato dai gas a effetto serra [57].

In questo studio sono stati analizzati gli acidi dicarbossilici a basso peso molecolare (LMW: Low Molecular Weight), tra cui gli acidi dicarbossilici lineari, dal C<sub>3</sub> al C<sub>9</sub>, l'acido ftalico e gli acidi 2-, 3- e 4-idrossi benzoico (Fig. 1).

Tra gli acidi dicarbossilici il più abbondante nell'aerosol atmosferico è l'acido ossalico (C<sub>2</sub>), seguito dal malonico (C<sub>3</sub>) e del succinico (C<sub>4</sub>) [52,58,59]. Sul carbonio totale presente nel particolato, la presenza dei diacidi incide per il 1-3% nelle aree urbane, e addirittura per il 10% negli ambienti marini [52,59,60,61,62].

L'uso degli acidi dicarbossilici come indicatori di SOA è reso più complicato dall'esistenza di sorgenti primarie sia biogeniche che antropogeniche: le sorgenti biogeniche includono particelle di terreno e emissioni di prodotti metabolici dalle piante; le antropogeniche sono i motori a benzina e gasolio [63].



**Fig. 1:** Alcuni degli acidi carbossilici a basso peso molecolare presenti nella frazione organica polare (WSOC) del PM. Questi composti risultano importanti nello studio dell'aerosol in quanto possono fornire informazioni sulla sua origine o sui processi ossidativi che avvengono in atmosfera.

In particolare la serie degli acidi dicarbossilici omologhi della serie lineare, da C<sub>3</sub> a C<sub>9</sub>, possono fornire una interessante misura del rapporto tra sorgenti antropogeniche e biogeniche dei rispettivi precursori [52,57,63,64,65]. È stato suggerito che il rapporto C<sub>3</sub>/C<sub>4</sub> possa dare un'indicazione dello stato di ossidazione del PM, in quanto, in seguito a successivi processi fotochimici, l'acido succinico (C<sub>4</sub>) potrebbe essere un precursore degli acidi ossalico (C<sub>2</sub>) e malonico (C<sub>3</sub>). Il rapporto C<sub>6</sub>/C<sub>9</sub> potrebbe essere, invece, indicatore dell'incidenza di sorgenti antropogeniche piuttosto che biogeniche, in quanto l'acido adipico (C<sub>6</sub>) deriverebbe dall'ossidazione dei cicloeseni, provenienti dal trasporto veicolare, mentre l'acido azelaico (C<sub>9</sub>) è stato supposto derivi da acidi grassi insaturi e monoterpeni [52,57,63,66].

### 1.3.2 Zuccheri

I saccaridi presenti nel PM atmosferico sono, comunemente, appartenenti a tre gruppi: i derivati disidratati dei monosaccaridi, come il levoglucosano; i saccaridi polioli, come l'arabitolio; i carboidrati primari, come il glucosio [67].

Elevate quantità di mono- o di-saccaridi, principalmente glucosio, fruttosio o micosio e, in concentrazioni più basse, galattosio e mannosio, ma anche una serie di polioli derivanti dagli zuccheri, come il mannitolo o l'arabitolio, sono individuabili nei campioni di aerosol atmosferico. Queste sostanze possono essere prodotte direttamente per stripping termico durante gli incendi oltre che essere liberati in atmosfera da specifiche sorgenti.

Il terreno è una miscela complessa formata sia da materiale inorganico che organico, in percentuale diversa a secondo della posizione geografica, dell'attività agricola o della natura stessa del terreno: una zona sabbiosa avrà circa un 1% di organico, un terreno poco dilavato fino al 10%. Le piante sono considerate la maggior fonte di sostanze organiche per il terreno, ma possono derivare anche da resti animali o da funghi o micro-organismi. Tra il 5% e il 20% delle sostanze organiche è formato da carboidrati [68].

Il passaggio in atmosfera di particelle di suolo può avvenire in diversi modi, sia naturali che antropogenici. L'azione naturale di erosione del vento produce particelle fini da numerose superfici: deserti, zone polverose, aride e campi coltivati. L'azione di risospensione generata dall'attività umana include l'agricoltura, l'edilizia e il traffico, soprattutto in zone non asfaltate. Si stanno iniziando a caratterizzare indicatori specifici per queste tipologie di sorgenti e i carboidrati, data la loro elevata concentrazione possono dare un importante contributo in questa direzione [69]: mono- e di- saccaridi, come il glucosio, il fruttosio o il micosio, sono tra i componenti principali della frazione organica del suolo, mentre polioli derivati dai carboidrati, come l'arabitolio o il mannitolo, sono generati dal metabolismo dei funghi [67].

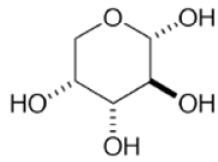
Le emissioni prodotte da una combustione dipendono direttamente dalle condizioni in cui avviene e dalla composizione chimica del combustibile. Per quanto concerne le biomasse, esistono numerose studi riguardo la combustione del legno [70,71,72]. Il

contenuto di umidità del combustibile è uno dei fattori che più influenzano il processo. Se il contenuto di umidità è troppo alto, buona parte dell'energia viene utilizzata per vaporizzare l'acqua, riducendo l'efficienza del processo e incrementando la formazione di fumo. [73] D'altra parte, un'umidità troppo bassa può rendere eccessiva la velocità della combustione causando una carenza di ossigeno e, quindi, una combustione incompleta che può portare ad un incremento della formazione di particelle di fumo incombusto.

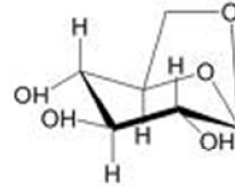
La decomposizione della cellulosa per riscaldamento, o per esposizione ad una fiamma, se avviene a temperature maggiori di 300°C, coinvolge la rottura di legami tramite trans-glicosilazione, scissione e disproporzione producendo zuccheri disidratati e sostanze volatili [74]. Questo genera marker specifici, principalmente il levoglucosano (1,6-anidro- $\beta$ -D-glucopiranosio), seguito, in concentrazioni minori, dal galattosano e dal mannosano.

Il levoglucosano è la sostanza predominante nel fumo generato dalle biomasse ed è individuabile in molti campioni, anche a notevole distanza dalle zone in cui avviene la combustione diretta [75]. Per contro, queste sostanze non sono assolutamente presenti nel fumo prodotto con carbone o altri combustibili fossili [76] e ciò li rende indicatori estremamente interessanti per la caratterizzazione dell'aerosol ambientale. Questo studio si è occupato della identificazione e della quantificazione in particolare di arabitosio, glucosio, mannosio, galattosio, maltosio, micosio e levoglucosano (Fig. 2).

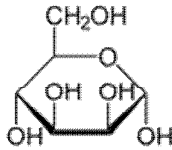




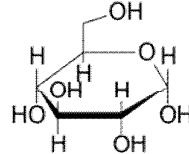
Arabibose



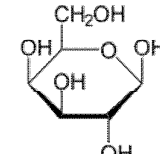
Levoglucosane



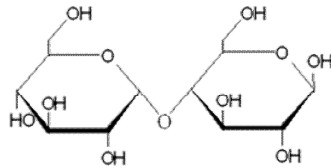
Mannose



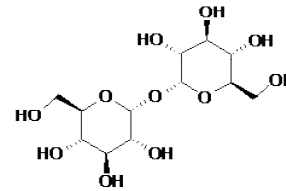
Glucose



Galactose



Maltose



Mycose

*Fig. 2: In questo studio sono stati considerati: pentosi (arabiosio), esosi (glucosio), disaccaridi (maltosio) e zuccheri disidratati (levoglucosano).*

## 1.4 Progetto Monitor

Il metodo di analisi sviluppato, come descritto altrove, per identificare e quantificare un elevato numero di marker molecolari nel particolato atmosferico, è stato applicato ad un elevato numero di campioni, più di mille, raccolti nell'ambito del Progetto Monitor ([www.arpa.emr.it/monitor/](http://www.arpa.emr.it/monitor/)) sviluppato dall'Agenzia Regionale Prevenzione ed Ambiente dell'Emilia Romagna (ARPA-ER) negli anni 2008-2010. Tale progetto si prefiggeva di sviluppare ed applicare nuove tecniche e modalità di controllo e monitoraggio ambientale al fine di realizzare un approccio integrato per individuare il possibile impatto di varie sorgenti emissive, tra cui un inceneritore RSU di nuova generazione, sull'ambiente e sulla salute pubblica.

Il progetto prevedeva un'attività molto ampia ed articolata in diversi aspetti riguardanti la modellistica, la caratterizzazione meteorologica e fisica dall'atmosfera, aspetti tossicologici, clinici ed epidemiologici: in questo ambito è stata svolta l'attività relativa alla linea progettuale 2, "Controllo della qualità dell'aria". In particolare, l'attività è stata dedicata alla caratterizzazione chimica del particolato campionato, in collaborazione, oltre ad ARPA-ER, ad altri gruppi dell'Università di Ferrara e dell'Università di Bologna, con particolare riferimento alla componente organico idrosolubile (WSOC: Water Soluble Organic Carbon) del particolato: acidi dicarbossilici e zuccheri.

Il progetto consisteva in due campagne di monitoraggio di circa 60 giorni ognuna, una svoltasi tra giugno e luglio 2008 e una tra gennaio e marzo 2009, su 8 siti di raccolta, nei quali è stato campionato particolato fine ( $PM_{2.5}$ ). In tre di questi punti è stato raccolto anche particolato ultrafine ( $PM_1$ ). I campionamenti sono stati eseguiti in un'area circostante la città di Bologna, in siti con caratteristiche molto diverse: da prevalentemente rurali a totalmente urbane.

La caratterizzazione di acidi dicarbossilici e zuccheri nei campioni esaminati è stata in grado di fornire informazioni sul tipo di sorgenti e sui processi in atmosfera dell'aerosol (aerosol primario o secondario), nonché sull'origine antropogenica o biogenica dei composti precursori.

## **2. MESSA A PUNTO DEL METODO ANALITICO**

La tecnica Gas Cromatografica accoppiata alla Spettrometria di Massa (GC-MS) è stata scelta da tempo per la caratterizzazione specifica dei singoli composti presenti nella frazione organica del particolato atmosferico grazie alla sua ottimata sensibilità e alla alta capacità separativa e riconoscitiva. L'alta polarità e bassa concentrazione (fino  $1\text{ng}/\text{m}^3$ ) della maggior parte dei composti presi in considerazione rendono particolarmente impegnativo l'obiettivo di identificarli e quantificarli, soprattutto perché devono subire un processo di derivatizzazione che ne esalti le caratteristiche di volatilità, prima di essere eluiti nella colonna gas cromatografica [52,63-66,77-88].

### **2.1 Scelta della procedura di derivatizzazione**

Un'analisi dei dati di letteratura ha mostrato che le procedure di derivatizzazione maggiormente utilizzati per la determinazione degli acidi dicarbossilici nei campioni di PM sono, principalmente, due:

- una reazione di sililazione, che usi un agente derivatizzante, come *N,O*-bis(trimetilsilil)-trifluoroacetammide (BSTFA), in particolare, in presenza di piccole quantità di trimetilclorosilano (TMCS), in grado di formare dei trimetilsilil-derivati [52,63,81,84-86,88-90].
- un meccanismo di esterificazione dei gruppi acidi ottenuto utilizzando, come agente derivatizzante, un alcool, nella maggior parte dei casi metanolo o 1-butanolo, in presenza di un acido di Lewis che inneschi la reazione, solitamente BF<sub>3</sub> o BCl<sub>3</sub> [52,57,66,78,79,82,86,91].

Le due tecniche si differenziano sotto vari aspetti: per velocità di applicazione, sottoprodotti in grado di interferire nell'analisi, stabilità delle specie derivatizzate, e altri ancora. In alcuni casi sono state utilizzate entrambe in processi di derivatizzazione *multistep* in cui, in un primo tempo, vengono esterificati i gruppi acidi (-COOH) con alcool/BF<sub>3</sub> e, quindi, i rimanenti gruppi idrossilici (-OH) vengono fatti reagire con agenti silicizzanti [86].

Nel presente studio le due tecniche sono state approfonditamente studiate e comparate al fine di verificare quale delle due desse i migliori risultati in termini di accuratezza, precisione e sensibilità se applicata allo studio degli acidi dicarbossilici presenti nei campioni ambientali di particolato atmosferico [92].

Il confronto è stato realizzato analizzando soluzioni standard componenti della serie degli omologhi lineari degli acidi dicarbossilici, tra C<sub>3</sub> e C<sub>9</sub>, preparate in metanolo (concentrazioni tra 500 e 1000mg/L). Queste soluzioni sono state quindi diluite con acqua (ottenuta tramite un sistema di depurazione Milli-Q, Millipore, Vimodrone-MI), per preparare standard alla concentrazione necessaria a valutare il recupero percentuale e a calcolare le curve di calibrazione per i singoli standard: un range di 1.7-28ng/μL di ogni acido. Queste quantità è stata stabilita assumendo di lavorare su campioni di particolato atmosferico raccolti su filtro per 24h tramite campionatori a basso volume, circa 2.3m<sup>3</sup>/h di aria, cioè un totale approssimato a 55m<sup>3</sup> di aria al

giorno. In base a queste considerazioni, le soluzioni risultano in una concentrazione compresa tra 1.5 e 25ng/m<sup>3</sup> di aria campionata.

### 2.1.1 Sililazione

Le reazioni di sililazione convertono i gruppi ossidrilici presenti sulle molecole negli equivalenti trimetilsilil derivati (Fig. 3), mostrando un prodotto principale per ogni sostanza e una alta efficienza di conversione [93,94]. Nell'analisi dei campioni ambientali vengono comunemente utilizzati diversi agenti sililanti: trimetil clorosilano (TMCS), *N*-metil-trimetilsilil trifluoroacetammida (MSTFA), *N,O*-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetammide (BSTFA) o *N*-(*t*-butildimetilsilil)-*N*-metil trifluoroacetammide (MTBSTFA) [52,64,81,84,93-98]. Spesso può essere preferito l'uso di MTBSTFA in quanto i suoi derivati mostrano uno spettro di frammentazione in MS piuttosto semplificato con un segnale avente notevole abbondanza relativa, solitamente a  $[M-57]^+$ , che permette di ottenere buoni limiti di rilevabilità. Tuttavia, l'ingombro sterico e la massa molecolare dell'analita, svolgono un ruolo importante nella scelta del reagente da utilizzare: l'uso di MTBSTFA per specie che abbiano siti ingombrati stericamente, ad esempio, può portare ad una risposta analitica molto bassa, o nulla del tutto, oppure l'uso del BSTFA per specie ad alto peso molecolare non genera segnali di frammentazioni caratteristici. BSTFA è considerata la scelta più adatta, invece, nell'analisi di sostanze a ridotto peso molecolare, come gli zuccheri [93]. Per questa ragione, in questo studio è stato utilizzato BSTFA, in modo da poter estendere lo spettro di sostanze analizzate, oltre agli acidi dicarbossilici, utilizzando un unico stadio di derivatizzazione.

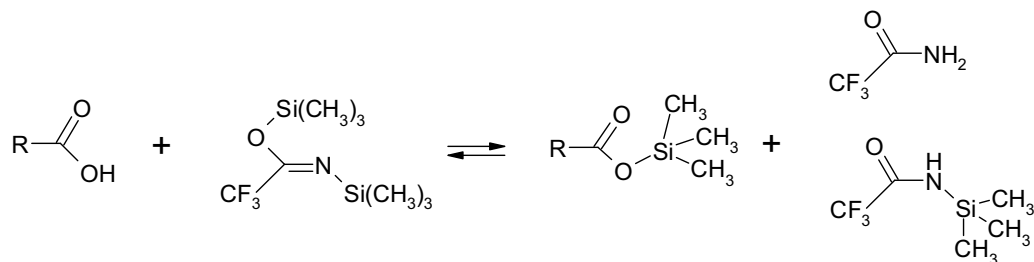


Fig. 3: Reazione di sililazione di un acido carbossilico con BSTFA.

Le reazioni con BSTFA sono sensibili alla presenza di acqua e richiedono condizioni blande per portare a completezza la derivatizzazione in modo da ottenere analisi GC-MS anche a concentrazioni molto basse [93,94,98]. Al contrario del processo di esterificazione, la sililazione non richiede passaggi di purificazione, quindi i derivati possono essere direttamente iniettati nel sistema gas cromatografico [93,94,98,99]. Presenta, però, anche alcuni svantaggi: il reagente sililante è pericoloso e si possono ottenere alcuni sottoprodotti di derivatizzazione [97,98].

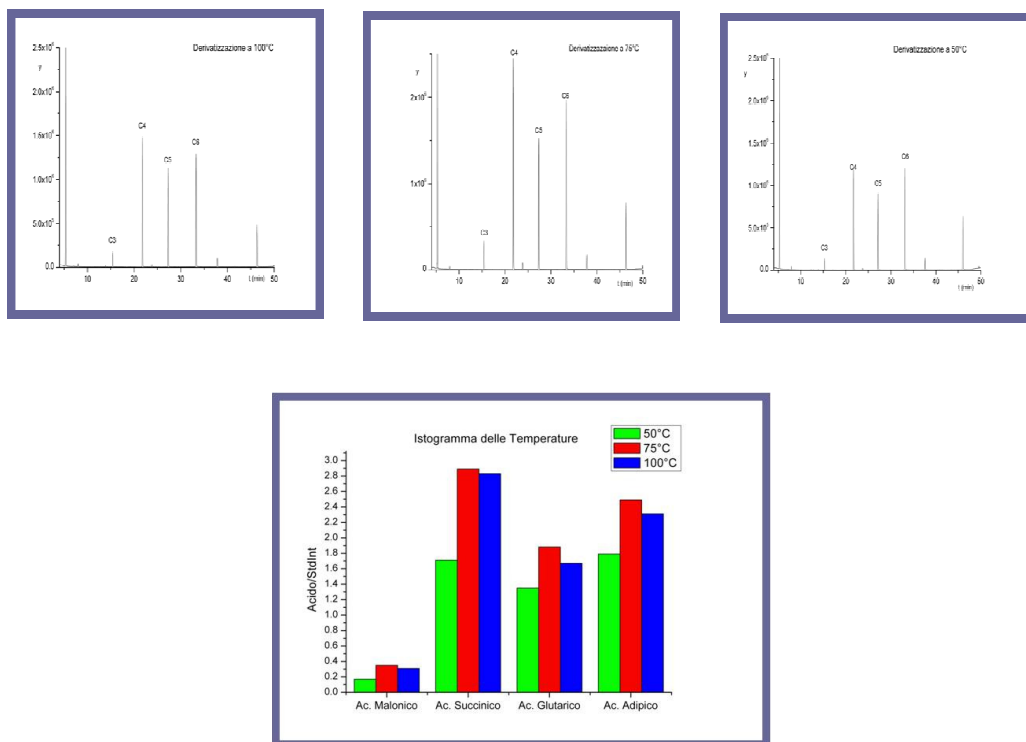
Gli spettri di massa delle sostanze derivatizzate con BSTFA, solitamente, mostrano segnali a  $m/z=73$  e  $m/z=75$ , rispettivamente attribuibili ai frammenti  $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$  e  $[\text{HO}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$ , originati dalla sostituzione dell'idrogeno ossidrilico con il gruppo  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ . Specie con due gruppi sililizzati, come gli acidi dicarbossilici, possono mostrare dei segnali intensi anche a  $m/z=147$  e  $m/z=149$ , corrispondenti a  $[\text{CH}_3\text{Si}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$  e alla sua idrogenazione che potrebbe avvenire all'interno della trappola ionica [93,94].

In questo studio si è partiti da un procedura di derivatizzazione con BSTFA, messa a punto da Dondi e collaboratori [94], e si è verificato se le condizioni di reazioni fossero ottimali per la sililazioni delle sostanze in esame, gli acidi dicarbossilici, analizzando la risposta degli standard alla singola variazione dei parametri operativi, temperatura e tempo di reazione e percentuale di trimetil clorosilano (TMCS) nel BSTFA, al fine di ottenere condizioni tali da avere un metodo rapido, riproducibile e quantitativo per analizzare le sostanze in tracce.

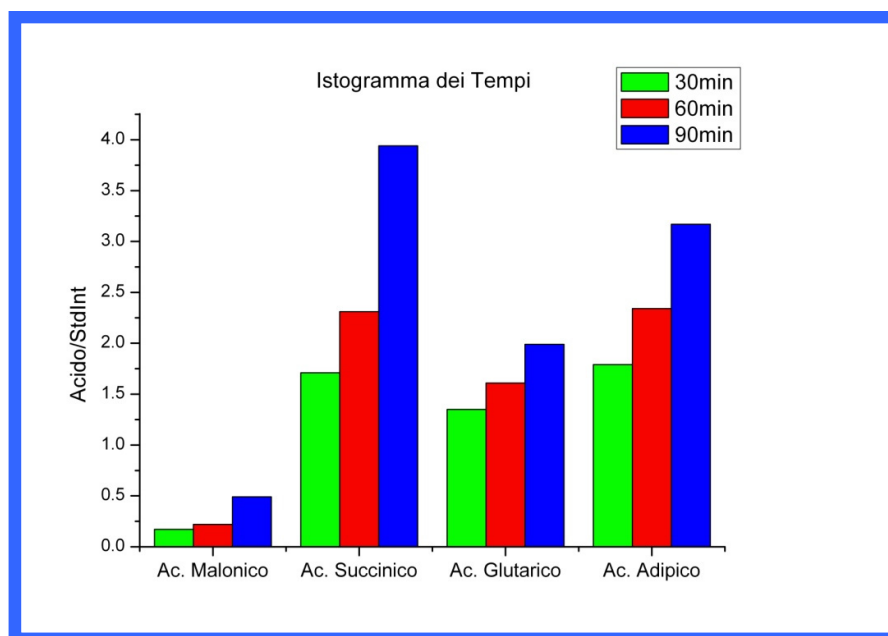
Le prove sperimentali sono state eseguite su soluzioni standard degli acidi dicarbossilici, dal C<sub>5</sub> (acido glutarico) al C<sub>9</sub> (acido azelaico), in concentrazione di 20 $\mu\text{g/mL}$ . Lo spettro di massa è stato registrato con scansioni in TIC (Total Ion

Current) tra  $m/z=50$  e  $m/z=600$  ogni 1s, la risposta è stata analizzata in SIM (Selected Ion Monitoring) sui segnali più abbondanti ( $m/z=147$  e  $m/z=149$ ). Il risultato è stato espresso dal rapporto tra l'area sottesa dal picco cromatografico di ogni analita in rapporto con quella dello standard interno ( $A_{ca}/A_{IS}$ ).

L'influenza della temperatura e del tempo di reazione è stata testata eseguendo prove di derivatizzazione a 50°C, 75°C e 100°C per 30', 60' e 90' (Fig. 4 e 5). I risultati hanno mostrato come la migliore resa del processo si abbia a 75°C per 90' (Tab. 1); prove eseguite ampliando ulteriormente il range dei tempi di derivatizzazione non hanno portato a nessun rilevante miglioramento del risultato ottenuto. La percentuale di TMCS non ha dato indicazioni di possedere un peso rilevante sulla resa dell'analisi, purchè sia presente e, quindi, si è deciso di operare con 1% di TMCS.



**Fig. 4:** Sililazione eseguita su quattro acidi dicarbossilici lineari ( $C_3$ ,  $C_4$ ,  $C_5$  e  $C_6$ ) a diverse temperature (50°C, 75°C e 100°C).



**Fig. 5:** Diversi tempi di reazione (30', 60' e 90') del processo di sililazione eseguito su quattro acidi dicarbossilici lineari ( $C_3$ ,  $C_4$ ,  $C_5$  e  $C_6$ ).

**Tab. 1:** Condizioni di reazione a cui è stata eseguita la sililazione su 4 acidi di carbossilici lineari ( $C_3$ ,  $C_4$ ,  $C_5$  e  $C_6$ ): in viola le condizioni che hanno mostrato resa maggiore.

TEMPO	TEMPERATURA
30'	50°C
60'	75°C
90'	100°C

Le prestazioni analitiche della procedura, così, ottimizzata sono state verificate costruendo le curve di calibrazione per una serie di acidi mono- e dicarbossilici di interesse ambientale nello studio del PM.

Le soluzioni standard sono state poste in vial da 1.5mL e portate a secchezza, a temperatura ambiente, sotto un debole flusso di azoto puro, quindi sono stati aggiunti 10µL di BSTFA (con 1% di TMSC) e 85µL di isoottano, oltre a 5µL di *n*-esadecano (0.5ng/µL), usato come standard interno per normalizzare l'iniezione (IS). La



reazione viene lasciata avvenire per 90' a 75°C. Vengono, direttamente, iniettati nel sistema GC-MS 2µL della soluzione finale.

I risultati mostrano che la procedura consente la quantificazione di tutti gli acidi studiati con buona sensibilità, in quanto raggiunge valori di limite di rivelabilità ( $X_{LOD}$ ) bassi, in quasi tutti i casi inferiore ad una concentrazione nell'aria campionata, supponendo campionatori a basso volume e raccolte di 24h, di 2.8ng/m<sup>3</sup>, corrispondenti a 3ng di analita iniettato nel sistema GC-MS (Tab. 2).

Lo studio di precisione (RSD%) ed accuratezza (recupero%) è stato eseguito sugli acidi dicarbossilici lineari tra il C<sub>3</sub> e il C<sub>9</sub>, ad una concentrazione di 20ng/m<sup>3</sup>. Un buon recupero percentuale si è evidenziato per tutti gli analiti, dal 78% dell'acido malonico al 115% dell'acido azelaico. La procedura mostra anche un buon livello di riproducibilità, come si vede dal valore di RSD%, calcolato su 3 repliche, compreso tra il 3% e il 10% (Tab. 3). Queste caratteristiche hanno dato pressappoco gli stessi risultati anche a livelli di concentrazione più bassi (10ng/m<sup>3</sup>) e più alti (30ng/m<sup>3</sup>).

**Tab. 2:** Curve di calibrazione relative agli acidi carbossilici studiati e corrispondente limite di rilevabilità espresso in ng/m<sup>3</sup> (supponendo campionamenti da 55m<sup>3</sup> di aria)<sup>(\*)</sup> o ng assoluti iniettati in colonna<sup>(\*\*)</sup>. I parametri  $b_1$  e  $b_0$  si intendono espressi con il relativo intervallo di confidenza.

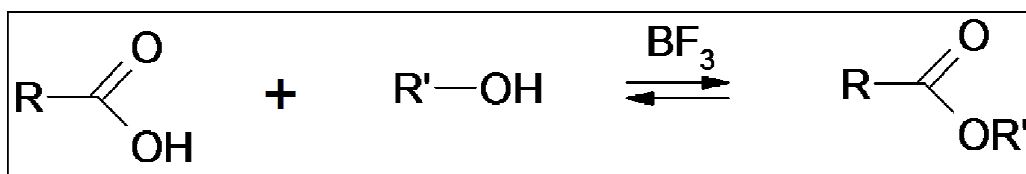
<b>Acido</b>	<b><math>b_1</math></b>	<b><math>b_0</math></b> (ng/m <sup>3</sup> )	<b><math>R^2</math></b>	<b><math>X_{LOD}^*</math></b> (ng/m <sup>3</sup> )	<b><math>X_{LOD}^{**}</math></b> (ng)
Malonico	0.100±0.003	-0.11±0.06	0.9968	2.6	2.9
Succinico	0.135±0.004	-0.09±0.06	0.9975	1.9	2.1
Glutarico	0.081±0.003	-0.06±0.05	0.9948	2.6	2.9
Adipico	0.036±0.001	-0.03±0.02	0.9971	2.1	2.3
Pimelico	0.032±0.001	-0.03±0.02	0.9951	2.7	3.0
Suberico	0.030±0.001	-0.03±0.02	0.9972	2.4	2.6
Azelaico	0.023±0.001	-0.02±0.01	0.9975	2.1	2.3
Nicotinico	0.170±0.008	-0.1±0.1	0.9941	2.8	3.1
Malico	0.159±0.007	-0.5±0.2	0.9941	3.0	3.3
Ftalico	0.22±0.02	-0.2±0.3	0.9804	5.2	5.7
2 HO Benzoico	0.105±0.009	-0.2±0.1	0.9789	5.2	5.7
3 HO Benzoico	0.25±0.02	-0.1±0.3	0.9849	4.8	5.3
4 HO Benzoico	0.29±0.01	-0.1±0.1	0.9965	1.7	1.9

**Tab. 3:** Valori di recupero percentuale e deviazione standard relativa del metodo per gli acidi considerati.

Acido	R%	RSD%
Malonico	78	6
Succinico	85	3
Glutarico	95	8
Adipico	99	5
Pimelico	107	9
Suberico	110	6
Azelaico	115	10

### 2.1.2 Esterificazione

Il processo di derivatizzazione tramite esterificazione degli acidi dicarbossilici con alcool metilico in presenza di  $\text{BF}_3$  (Fig. 6), applicata per la prima volta allo studio della frazione organica del particolato atmosferico da Kawamura e collaboratori [100], converte i gruppi acidi in esteri e i gruppi aldeidici in dialchil acetali [101,102].



*Fig. 6: Reazione di esterificazione.*

Sono state sviluppate numerose variazioni, ad esempio utilizzando alcool 1-propanoico o 1-butanoico anziché metanolo, oppure  $\text{BCl}_3$  piuttosto che  $\text{BF}_3$ , e viene ampiamente utilizzato nello studio delle specie ossigenate della frazione organica del particolato atmosferico [52,97,103-107]. In particolare, la procedura che utilizza

BF<sub>3</sub>/1-butanolo si è dimostrata la più vantaggiosa nella quantificazione dei composti a basso peso molecolare, in quanto i butil-derivati possiedono una minore volatilità e, quindi, minori perdite per evaporazione, rispetto ai metil-derivati. In questa procedura è necessario un processo preventivo di purificazione prima dell'iniezione dei derivati nel GC, a causa dei reagenti utilizzati e dei residui acidi presenti: questa purificazione si realizza aggiungendo acqua, saturata con cloruro di sodio ed estraendo con *n*-esano gli esteri che si procederà ad analizzare, dopo una nuova evaporazione, sempre a T<sub>amb</sub>, e ridissoluzione in un volume noto di solvente (*n*-esano).

Lo spettro di massa di queste sostanze ottenuto tramite frammentazione a impatto elettronico (EI) mostra alcuni frammenti comuni, derivanti dal sostituente -OC<sub>4</sub>H<sub>9</sub> [97], la perdita di un gruppo butile porta al generarsi di frammenti caratteristici con [M-73]<sup>+</sup>, in seguito, la perdita di un successivo frammento alchenico, genera un segnale a [M-129]<sup>+</sup>, che è il segnale principale per tutti gli acidi dicarbossilici da C<sub>3</sub> a C<sub>9</sub>.

Nel presente studio, si è partiti da una variazione [104] del metodo proposto da Kawamura [100], e si è, poi, studiato separatamente l'effetto delle principali condizioni di reazione, tempo e temperatura di reazione, sulla risposta ottenuta.

Lo studio è stato eseguito su soluzioni standard di acidi dicarbossilici, tra il C<sub>5</sub> e il C<sub>9</sub>, in una concentrazione dei singoli componenti di 20 µg/mL. L'analisi dello spettro di massa, registrato in TIC (Total Ion Current), è stata fatta in SIM (Selected Ion Monitoring) a valori di *m/z* caratteristici per i singoli composti, [M-129]<sup>+</sup>. La risposta è stata espressa come rapporto dell'area del picco cromatografico del singolo analita e quella dello standard interno (*A<sub>ca</sub>/A<sub>IS</sub>*).

L'influenza della temperatura e del tempo di reazione è stata testata eseguendo prove di derivatizzazione a 50°C, 70°C e 90°C per 30', 60' e 90' (Tab. 4). I risultati hanno mostrato come la migliore resa del processo si abbia a 70°C per 60'.

Le soluzioni in analisi vengono poste, in *vial* da 1.5mL, a evaporare a temperatura ambiente sotto un debole flusso di azoto. Una volta portate a secco si aggiungono 10 µL di miscela BF<sub>3</sub>/1-butanolo al 14% e 0.2mL di solvente, *n*-esano. Il tutto viene posto a reagire per 60' a 70°C, e, quindi, raffreddato di nuovo a temperatura

ambiente. Durante la reazione gli acidi dicarbossilici vengono convertiti nei rispettivi butil esteri.

**Tab. 4:** Condizioni di reazione a cui è stata eseguita l'esterificazione su 4 acidi di carbossilici lineari (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub> e C<sub>6</sub>): in viola le condizioni che hanno mostrato resa maggiore.

TEMPO	TEMPERATURA
30 min	50°C
60 min	70°C
90 min	90°C

Alla soluzione vengono aggiunti 0.2mL di acqua, saturata con cloruro di sodio, in modo da neutralizzare l' eccesso di BF<sub>3</sub>. Per facilitare l'estrazione della fase apolare, contenete le sostanze derivatizzate, si aggiungono 0.5mL di *n*-esano e si agita vigorosamente per circa 3 minuti. La fase organica viene trasferita in una nuova *vial* da 1.5mL e portata a secchezza, di nuovo, sotto un leggero flusso di azoto a temperatura ambiente.

Infine, vengono aggiunti 5µL di *n*-esadecano (0.5ng/µL), usato come standard interno per normalizzare l'iniezione (IS), e 95µL di *n*-esano, come solvente, per arrivare ad un volume totale di 100µL. Nel GC-MS vengono iniettati 2µL di soluzione.

Risultati attendibili sono stati ottenuti solo per gli acidi dicarbossilici con maggior peso molecolare, dal C<sub>5</sub>, dato che gli acidi più leggeri, malonico (C<sub>3</sub>) e succinico (C<sub>4</sub>), formano esteri troppo volatili, per evitare perdite consistenti nella fase di evaporazione successiva all'eliminazione del BF<sub>3</sub>, e troppo instabili, per essere quantificati con precisione [99,106]. Le curve di calibrazione sono state calcolate per gli acidi dicarbossilici dal C<sub>5</sub> al C<sub>9</sub> e mostrano sia una buona linearità di risposta che una sufficiente sensibilità, quasi indipendente dal peso molecolare dell'acido. I limiti di rilevabilità ottenuti sono sufficientemente bassi da essere compatibili con analisi ambientali sul PM: tra 2.9ng e 5.4ng di analita iniettato in colonna, corrispondenti a 2.6-4.9ng/m<sup>3</sup> di aria, supponendo raccolte di 24h con campionatori a basso volume

(Tab. 5). Questi, relativamente, alti valori di  $X_{LOD}$ , rispetto a quelli ritrovabili in letteratura, sono coerenti, considerando il basso volume di aria campionata ( $55m^3$ ), che risulta critico per gli acidi dicarbossilici più leggeri.

**Tab. 5:** Curve di calibrazione relative agli acidi carbossilici studiati e corrispondente limite di rilevabilità espresso in  $ng/m^3$  (supponendo campionamenti da  $55m^3$  di aria)<sup>(\*)</sup> o  $ng$  assoluti iniettati in colonna<sup>(\*\*)</sup>. I parametri  $b_1$  e  $b_0$  si intendono espressi con il relativo intervallo di confidenza.

Acido	$b_1$	$b_0$ ( $ng/m^3$ )	$R^2$	$X_{LOD}$ ( $ng/m^3$ )	$X_{LOD}$ ( $ng$ )
Glutarico	0.0112±0.0008	-0.01±0.01	0.992	4.9	5.4
Adipico	0.0117±0.0004	0.001±0.008	0.994	3.5	3.9
Pimelico	0.0110±0.0004	0.006±0.007	0.997	2.9	3.2
Suberico	0.0110±0.0005	0.01±0.01	0.995	2.6	2.9
Azelaico	0.0120±0.0006	0.02±0.01	0.997	2.9	3.2

Misure di recupero percentuale sono state eseguite arricchendo un filtro bianco di quarzo con una quantità nota ( $20ng/m^3$ ) di standard, cioè acidi tra  $C_5$  e  $C_9$ . Le analisi sono state ripetute 3 volte per poter quantificare, anche, RSD% del metodo. Il recupero varia dal 66% del più leggero, l'acido glutarico ( $C_5$ ), al 120% del più pesante, l'acido azelaico ( $C_9$ ). La deviazione standard relativa, RSD%, è per tutte le specie sotto il 15%, fatta esclusione per l'acido glutarico, 21%, quello con minor peso molecolare (Tab. 6). Ripetendo le prove a diverse concentrazioni, si osserva un aumentare di RSD% diminuendo con la concentrazione degli standard: RSD% è tra 16% e 24% a  $10ng/m^3$  e tra 6% e 14% a  $30ng/m^3$ .

**Tab. 6:** Valori di recupero percentuale e deviazione standard relativa del metodo per gli acidi considerati.

<b>Acido</b>	<b>R%</b>	<b>RSD%</b>
Glutarico	66	21
Adipico	88	12
Pimelico	90	9
Suberico	95	9
Azelaico	120	15

## 2.2 Confronto tra le due procedure di derivatizzazione

I risultati confermano che entrambi i metodi sono riproducibili ed in grado di essere applicati alla determinazione degli acidi dicarbossilici, presenti in tracce nei campioni ambientali. Esistono, tuttavia, differenze quando utilizzati per l'analisi degli acidi più leggeri, tra C<sub>3</sub> e C<sub>9</sub>, che devono essere considerate in funzione della loro rilevanza nelle misure sul particolato atmosferico.

I silil derivati sono più pesanti e meno volatili dei rispettivi butil derivati, ciò rende l'analisi GC più rapida per questi ultimi: sono necessari solo 30' per eluire il più trattenuto, cioè l'estere dell'acido azelaico (C<sub>9</sub>), contro i 50' necessari per il suo butil derivato. Ciononostante la maggiore volatilità comporta anche perdite rilevanti nella fase di evaporazione successiva all'esterificazione.

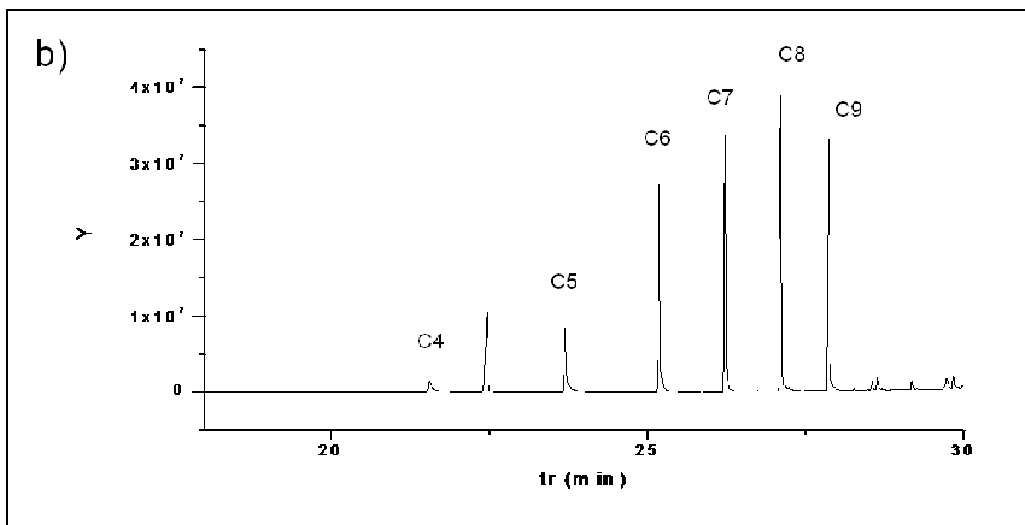
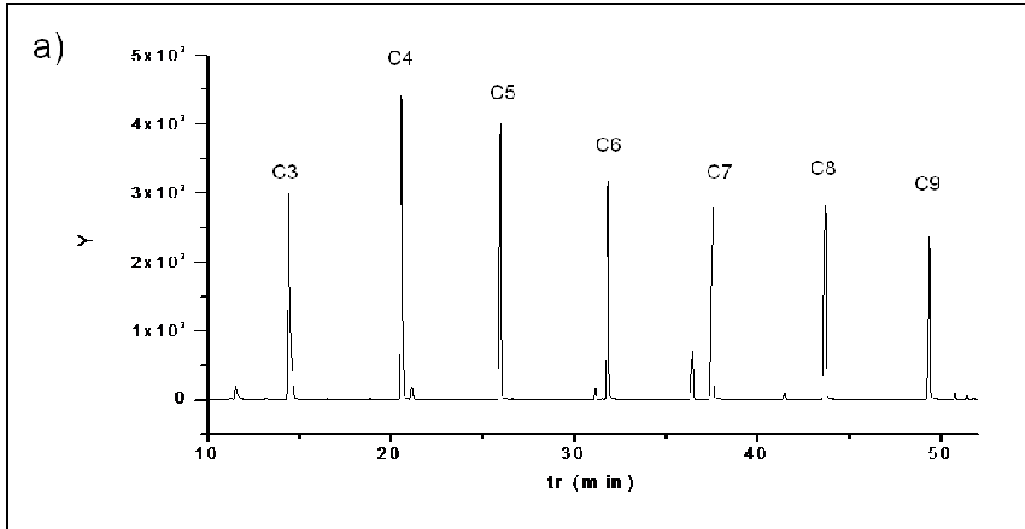
Lo spettro di massa dei derivati sililizzati mostra frammenti caratterizzanti comuni ( $m/z=73,147,149$ ) che semplificano la loro rivelazione sfruttando la modalità SIM (Selected Ion Monitoring). I derivati butilici, al contrario, non hanno frammenti comuni, il principale, solitamente è a  $[M-129]^+$ , e questo richiede di trattare lo spettro di massa singolarmente per ognuno degli analiti considerati (M diverse,  $m/z$  diverse).

Per le specie considerate, il metodo di sililazione possiede una maggiore sensibilità, probabilmente attribuibile ad una migliore resa di reazione o ad una maggiore stabilità dei derivati. La sililazione, di conseguenza, ha limiti di rilevabilità notevolmente più bassi rispetto alla esterificazione, per tutti gli analiti considerati. In particolare, la tecnica che porta ai butil derivati, mostra una sensibilità che dipende strettamente con il peso molecolare dell'analita considerato: è totalmente inaffidabile per i più leggeri, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, ma migliora, arrivando a limiti di rilevabilità paragonabili a quelli della sililazione, per i più pesanti, C<sub>7</sub>-C<sub>9</sub>. La scarsa sensibilità per i più volatili è sicuramente correlabile alle perdite per evaporazione durante la preparazione del campione. Questo è dimostrato dai cromatogrammi di figura v che riportano l'analisi GC-MS della stessa miscela contenente acidi dicarbossilici, C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>, utilizzando le due procedure di derivatizzazione: si può notare come la sililazione (Fig. 7a) permetta di ottenere la stessa sensibilità per l'analisi di tutti gli acidi, mentre vi è una significativa perdita di sensibilità (anche -100% per il C<sub>3</sub>) per gli acidi più leggeri, C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>, dopo l'esterificazione (Fig. 7b).

Questi risultati permettono di concludere che, benché entrambi i metodi siano utilizzabili con risultati accettabili nell'analisi di campioni ambientali, la sililazione sembra dare migliori prestazioni analitiche, in quanto permette di raggiungere limiti di rilevabilità mediamente più bassi, in particolare, per la quantificazione dei composti più volatili, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>. Questa caratteristica è, soprattutto, rilevante nel caso dell'analisi di filtri raccolti con campionamenti eseguiti a basso volume (55m<sup>3</sup> di aria per filtro) in cui la quantità di analita è particolarmente bassa. Chiaramente, queste limitazioni sono meno pesanti nel caso di campionamenti eseguiti con sistemi ad alto volume, in cui una quantità di materiale particolato raccolta sul filtro è notevolmente maggiore: in questo caso anche la procedura di esterificazione permette di ottenere la stessa accuratezza.

Un altro importante vantaggio del processo di sililazione è la possibilità di ottenere simultaneamente anche la derivatizzazione di altre famiglie di analiti rilevanti nel monitoraggio ambientale, come gli zuccheri, direttamente con un solo stadio di reazione, questo implica diminuire il tempo ed il lavoro richiesto dall'analisi di molti sostanze, nonché le perdite di analiti durante il processo di preparazione dei campioni.





**Fig. 7:** Cromatogramma di soluzioni standard degli acidi dicarbossilici, C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>, derivatizzati per sililazione (a) e per esterificazione (b).



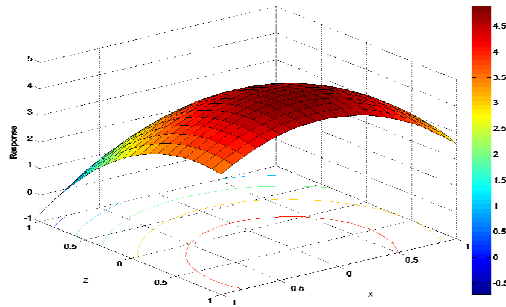
### **3. ESTENSIONE DEL METODO ALL'ANALISI DI ZUCCHERI**

Il metodo di sililazione, come detto in precedenza, essendo in grado di reagire con tutti i gruppi ossidrilici in generale e non esclusivamente quelli carbossilici, può essere simultaneamente applicato a diverse famiglie di specie idrosolubili presenti nel particolato, come gli acidi carbossilici e i carboidrati. Per tanto l'attività di ricerca è stata, successivamente, dedicata allo sviluppo di una procedura, in modo da massimizzare la risposta per il maggior numero di analiti considerati. A questo scopo si sono ottimizzate le condizioni operative di reazione utilizzando il metodo della superficie di risposta (RSM: Response Surface Methodology) all'interno di un modello di disegno sperimentale centrale composito (CCD: Central Composite Design) [108].

#### **3.1 Disegno sperimentale**

In generale, il disegno sperimentale (DOE: Design Of Experiment) è la progettazione di una serie di prove in diverse condizioni eseguite con l'obiettivo di massimizzare le informazioni sulla risposta di uno o più "oggetti" (gli analiti in esame) ad un

“trattamento” (la variazione delle condizioni di reazione) eseguito, e può essere applicato ad una enorme varietà di soggetti diversi, anche naturali o sociali. Scelte le variabili da studiare, dette fattori, si registra l’andamento della superficie generata dalla variabile scelta come indicatrice della risposta (Fig. 8).



**Fig. 8:** Esempio di superficie di risposta, ottenuta con RSM, in uno studio su due variabili.

Il primo approccio per eseguire questo tipo di studi è, supponendo di avere dei fattori che possano assumere solo valori discreti all’interno di un determinato intervallo, detti livelli, misurare la risposta in ogni possibile combinazione di livelli dei due fattori (Full Factorial Design; Tab. 7).

**Tab. 7:** Esempio di FFD con due fattori, A e B, per i quali sono possibili due livelli, + e -.

	Fattore A	Fattore B
Prova 1	-	-
Prova 2	+	-
Prova 3	-	+
Prova 4	+	+

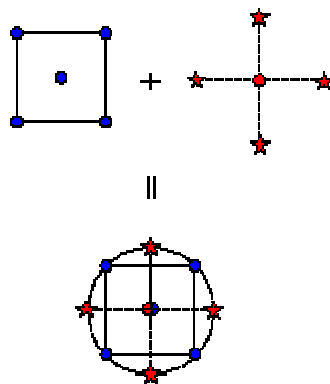
Ovviamente, aumentando il numero di fattori considerato si può arrivare ad un numero elevatissimo di prove:

$$n^{\circ} \text{ di esperimenti} = (n^{\circ} \text{ di livelli})^{n^{\circ} \text{ di fattori}}$$

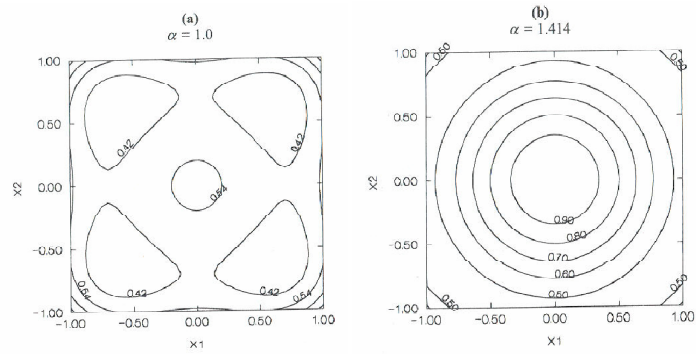
Per evitare questo genere di problema è possibile utilizzare un diverso approccio, Fractional Factorial Design, in un cui alcune delle combinazioni viene omessa. In pratica, si analizza solo un sottoinsieme, accuratamente scelto, delle prove possibili, per ottenere informazioni riguardo gli effetti più importanti sul sistema studiato.

Il Central Composite Design [108] progetta gli esperimenti da eseguire unendo tre set di punti da esplorare nell'area delimitata dai livelli dei fattori considerati: gli esperimenti di disegno fattoriale, il punto centrale ripetuto più volte e i punti stella, o assiali (Fig. 9). Dall'insieme di questi punti è possibile avere una migliore stima della superficie di risposta trovata. Mentre i punti fattoriali distano dal centro  $\pm 1$ , i punti stella si trovano a coordinate  $\pm\alpha$ , dove  $|\alpha| > 1$ . L'esatto valore di  $\alpha$  e il numero di ripetizioni da eseguire nel punto corrispondente al centro dello spazio esplorato, dipendono dalle proprietà desiderate per il disegno sperimentale. In particolare, se si vuole che il sistema possieda la proprietà di *rotabilità*, cioè se la varianza della risposta in un punto  $x$  dipende solo dalla sua distanza dal punto centrale (Fig. 10), il valore di  $\alpha$  deve essere:

$$|\alpha| = [n^{\circ} \text{ di punti fattoriali}]^{1/4}$$

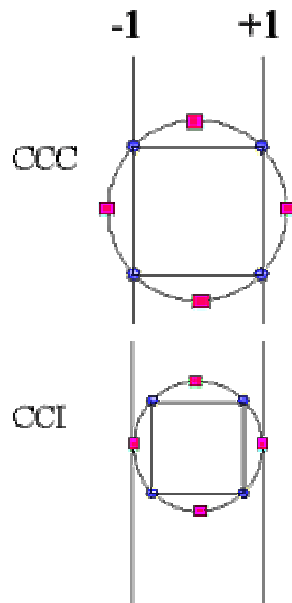


**Fig. 9:** Insieme dei punti esplorati in un CCD a due fattori e due livelli.



**Fig. 10:** Varianza della predizione della risposta in un sistema senza rotabilità (a), e in un sistema con rotabilità (b).

A seconda che i fattori analizzati nello studio siano o meno strettamente vincolati all'interno dello spazio generato dai livelli considerati, è possibile applicare diversi CCD (Fig. 11) [109].



**Fig. 11:** CCC Central Composite Circumscribed,  $|\alpha| > 1$ ; CCI Central Composite Inscribed,  $|\alpha| = 1$ .

### 3.2 Ottimizzazione delle condizioni di derivatizzazione

Nel presente studio sono state ottimizzate le condizioni operative del processo derivativo per renderlo adatto all'analisi simultanea di acidi e zuccheri. Si è partiti dalle condizioni, riportate in precedenza, di sililazione con *N,O*-bis(trimetilsilil) trifluoroacetammide (BSTFA). I parametri sperimentali di cui è stata studiata la risposta sono stati: la temperatura di reazione (T); la durata della reazione (t); la percentuale di reagenti derivatizzanti sul volume totale di reazione (%R); la percentuale di piridina rispetto alla quantità di derivatizzante (%Py). Le prove sono state eseguite su soluzioni standard di quattro acidi dicarbossilici lineari della serie omologa, gli acidi succinico (C<sub>4</sub>), glutarico (C<sub>5</sub>), adipico (C<sub>6</sub>) e azelaico (C<sub>9</sub>), un monosaccaride, il glucosio, e uno zucchero disidratato, il levoglucosano, tutti ad una concentrazione di 10ng/μL. È stato applicato un CCI, in quanto non era possibile uscire dall'intervallo presente tra i livelli considerati (+1 e -1): due dei fattori, la quantità di reagenti derivatizzanti e la quantità di piridina, sono stati espressi in percentuale. Nello studio sono stati considerati 4 fattori su 2 livelli (Tab. 8), con un totale di 30 esperimenti, di cui sei nel centro del dominio, ognuno duplicato in ordine casuale (60 prove totali).

**Tab 8:** Fattori e relativi livelli studiati nel CCI.

<i>Fattori</i>	<b>Temperatura</b>		<b>Tempo</b>		<b>% Reagenti</b>		<b>% Piridina</b>	
	<b>T (X<sub>1</sub>)</b>		<b>t (X<sub>2</sub>)</b>		<b>%R (X<sub>3</sub>)</b>		<b>%Py (X<sub>4</sub>)</b>	
	-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	+1
<i>Livelli</i>	50°C	90°C	60'	120'	10%	100%	0%	50%

Per descrivere la superficie di risposta, i dati sperimentali sono stati *fittati* con un'equazione polinomiale di secondo grado per considerare la natura non lineare della risposta.

(Eq.1)

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_1X_2 + b_6X_1X_3 + b_7X_1X_4 + b_8X_2X_3 + \\ + b_9X_2X_4 + b_{10}X_3X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{12}X_2^2 + b_{13}X_3^2 + b_{14}X_4^2$$

$Y$ : risposta studiata

$X_1$ : temperature di reazione

$X_2$ : durata della reazione

$X_3$ : percentuale di reagenti derivatizzanti sul volume totale di soluzione

$X_4$ : percentuale di piridina sul volume di derivatizzante utilizzato

$b_0$ : valor medio della risposta

$b_1$ - $b_4$ : parametri relativi alle singole variabili

$b_5$ - $b_{10}$ : termini di interazione

$b_{11}$ - $b_{14}$ : termini quadratici

Sono stati studiati 3 modelli: gli acidi (A); gli zuccheri (S); entrambe le specie contemporaneamente (AS). La superficie totale dei picchi ( $A_i/A_{IS}$ ) è stata scelta come funzioni di risposta per rappresentare il segnale di tutte i composti che possono essere determinati allo stesso tempo ed è stata calcolata come la somma dell'area del picco di ciascun composto (ognuno presente ad una concentrazione di 10ng/ $\mu$ L) incluso nel modello, normalizzata rispetto al suo valore massimo, in modo da rendere la superficie di risposta indipendente dal numero di composti considerati. I risultati sono stati *fittati* con l'equazione 1 (Tab. 9) e si è stimata la significatività statistica dei parametri utilizzando il *Student's t-test*: i coefficienti con livelli di significatività ( $p$ ) inferiori al 5% sono stati considerati rilevanti (evidenziati in grassetto in tabella) [109]. I valori di  $F$  ed  $R^2$  sono stati utilizzati per verificare la significatività o meno del modello. Infine, la bontà statistica del *fitting* è stata descritta dallo scarto quadratico medio (*rmse*), per valutare l'errore standard, e dall'errore quadratico medio (*sse*), per stimare l'errore presente sulla somma dei quadrati [109].

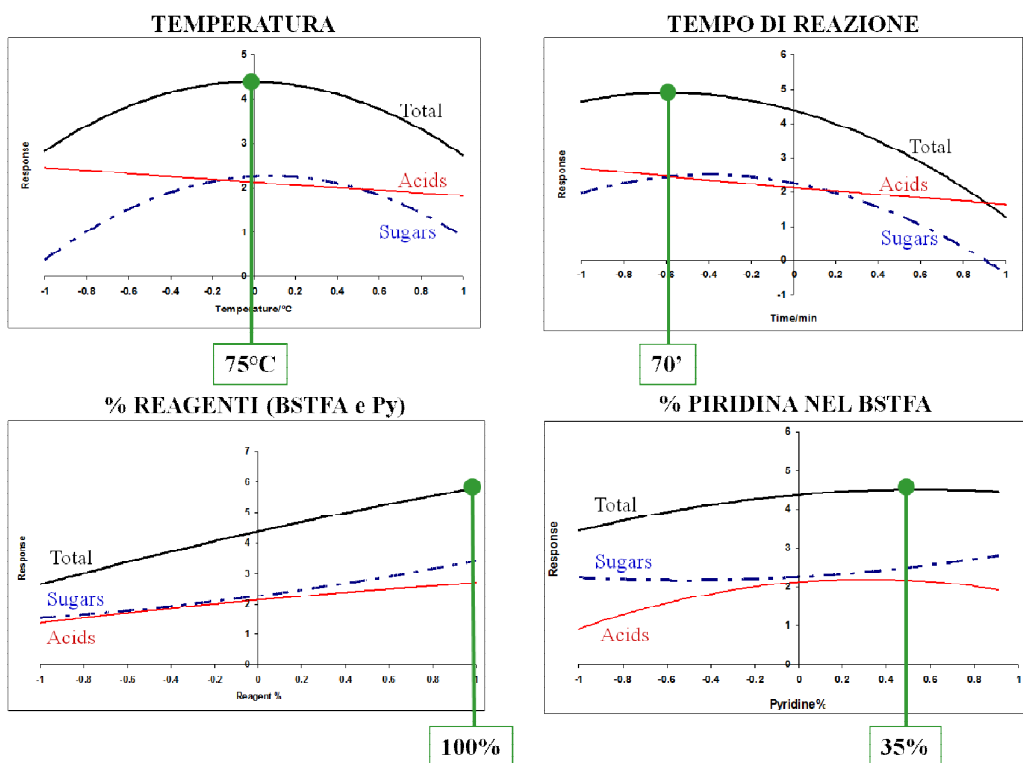


**Tab. 9:** Coefficienti e parametri statistici relativi alle equazioni polinomiali di secondo ordine ottenute dai risultati sperimentali, relative a acidi (A), zuccheri (S) ed entrambe le specie (AS). Gli elementi statisticamente rilevanti sono riportati in grassetto.

	A	S	AS
$b_0$	2.13	2.25	4.24
$b_1 (X_1)$	-0.31	0.26	-0.05
$b_2 (X_2)$	<b>-0.52</b>	<b>-1.17</b>	<b>-1.68</b>
$b_3 (X_3)$	<b>0.66</b>	<b>0.94</b>	<b>1.59</b>
$b_4 (X_4)$	<b>0.45</b>	<b>0.03</b>	<b>0.49</b>
$b_5 (X_1, X_2)$	0.72	-0.29	0.43
$b_6 (X_1, X_3)$	0.38	0.61	1.00
$b_7 (X_1, X_4)$	0.08	0.76	0.85
$b_8 (X_2, X_3)$	-0.65	-0.67	-1.33
$b_9 (X_2, X_4)$	-0.04	-0.76	-0.81
$b_{10} (X_3, X_4)$	-0.18	0.23	0.05
$b_{11} (X_1^2)$	-0.03	<b>-1.35</b>	<b>-1.33</b>
$b_{12} (X_2^2)$	-0.01	-1.19	-1.16
$b_{13} (X_3^2)$	-0.14	0.21	0.11
$b_{14} (X_4^2)$	<b>-0.74</b>	0.31	<b>-0.44</b>
$R^2$	0.69	0.59	0.73
$p$	0.006	0.05	0.001
$F$	3.38	2.17	4.17
$rmse$	0.18	1.05	0.90
$sse$	3.76	22.1	18.9

Anche se i coefficienti di determinazione sono bassi ( $R^2 < 0.75$ ), i valori di  $p$ , che mostrano un *fitting* statisticamente rilevante ( $p < 0.1$ ) per tutti i modelli, e i bassi valori di  $rmse$  e  $sse$ , indicano che l'equazione trovata può adeguatamente predire i risultati sperimentali, cioè che la superficie individuata stima in modo soddisfacente l'andamento della risposta.

Per rendere più semplice la visualizzazione e, quindi, la comprensione dell'effetto dei singoli parametri sulla resa di derivatizzazione ne è stato riportato l'andamento in funzione della variazione di ogni singolo parametro nell'intero intervallo da -1 a +1, tenendo gli altri 3 fissi al valore centrale del dominio. (Fig. 12). Maggiore è la curvatura, o la pendenza, della linea, maggiore è l'influenza di quella variabile sulla resa del processo di derivatizzazione.



*Fig. 12: Andamento della resa di derivatizzazione in funzione dei singoli parametri ottimizzati.*

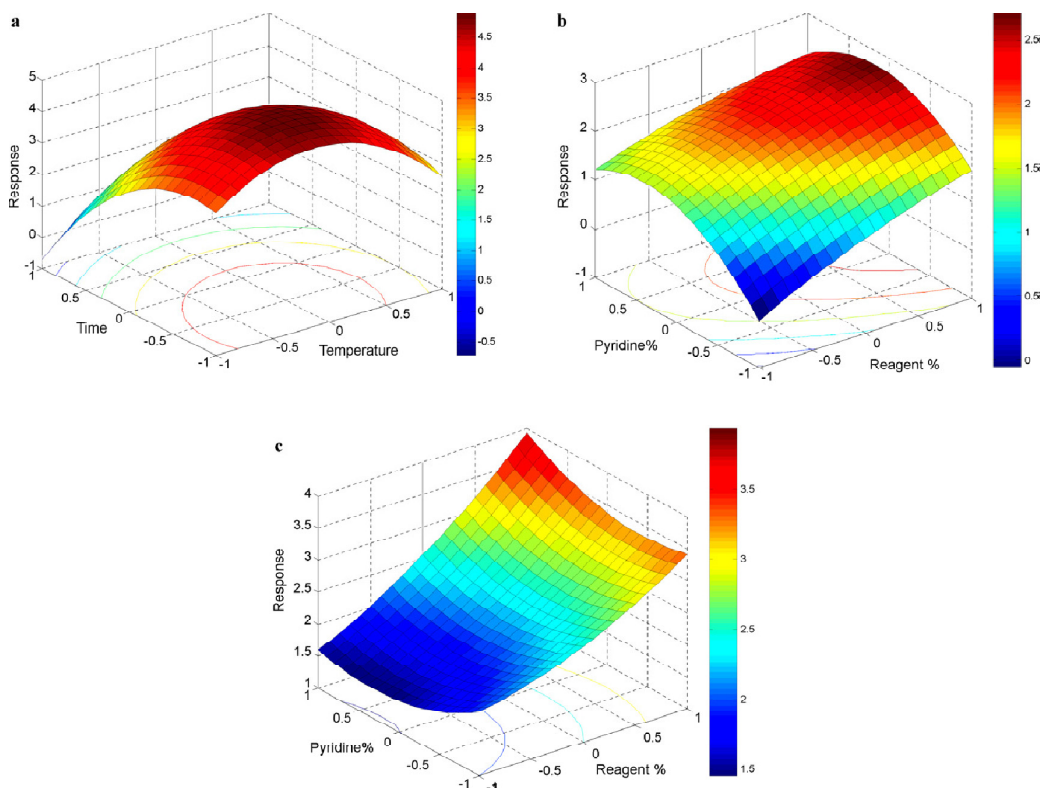
Temperatura e durata della derivatizzazione hanno mostrato lo stesso comportamento sulla resa di reazione: un andamento parabolico per gli zuccheri e una retta con pendenza negativa sugli acidi. Considerando entrambe le famiglie di analiti, sembra essere maggiore l'effetto esercitato sui saccaridi (Fig. 12, a e b). L'andamento può essere studiato anche riportando l'effetto contemporaneo delle due variabili si

osserva lo stesso andamento con un massimo di rendimento a 75°C ( $X_1=0.2$ ) e 70° ( $X_2=-0.6$ ) (Fig. 13, *a*).

L'aumento della percentuale di reagenti porta ad un costante incremento lineare della risposta sia per gli acidi che per gli zuccheri, indicando il massimo al limite del dominio, 100% di reagenti ( $X_3=1$ ) (Fig. 12, *c*).

La concentrazione di piridina produce una variazione debole della risposta degli zuccheri e un andamento parabolico per gli acidi. L'effetto simultaneo sulle due classi, di nuovo con andamento parabolico, mostra un massimo al 35% di piridina usata rispetto al volume di derivatizzante ( $X_4=0.5$ ) (Fig. 12, *d*).

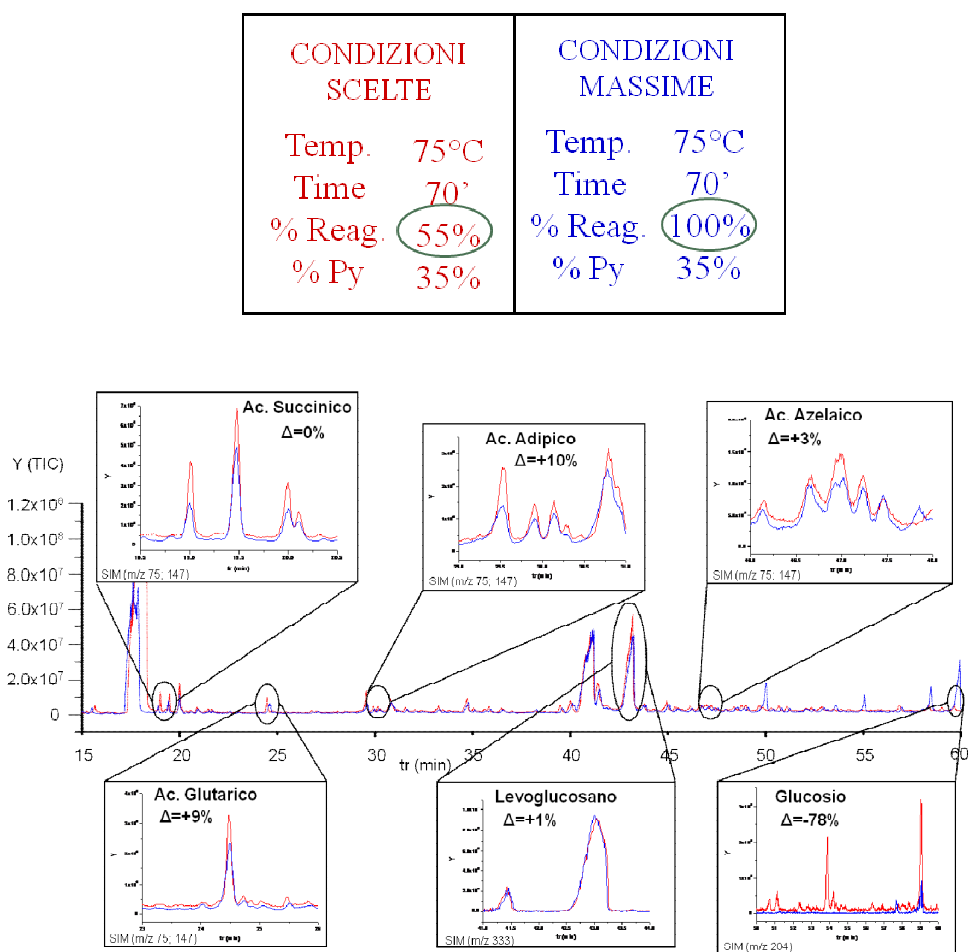
L'effetto di interazione tra la concentrazione di derivatizzante e piridina può essere esplorato osservando l'andamento della risposta alla variazione di entrambi i parametri, tenendo le altre due variabili fisse al centro del dominio. La resa massima si ha al massimo di concentrazione del derivatizzante, con andamento diverso per la quantità di piridina per le due classi di sostanze: al centro dell'intervallo per gli acidi ( $X_{3A}=1$ ;  $X_{4A}=0.5$ ); al limite del dominio ( $X_{3S}=1$ ;  $X_{4S}=1$ ) per gli zuccheri (Fig. 13, *b* e *c*).



**Fig. 13:** Il grafico delle superfici 3D mostra l'effetto dell'interazione di due parametri di derivatizzazione (considerando gli altri costanti nel centro del dominio). (a) Effetto di interazione tra tempo e temperatura di derivatizzazione ( $X_1$  e  $X_2$ ) su tutti i composti considerati (AS); (b) effetto di interazione tra la percentuale di reagenti e la quantità di piridina ( $X_3$  e  $X_4$ ) sulla resa di derivatizzazione degli acidi (A); (c) effetto di interazione tra la percentuale di reagenti e la quantità di piridina ( $X_3$  e  $X_4$ ) sulla resa di derivatizzazione degli zuccheri (S).

Nella scelta delle condizioni ottimali, è necessario porre attenzione al concomitante insorgere di inconvenienti operativi che si verificano con l'utilizzo di una alta concentrazione di agente sililante (BSTFA). Il primo problema è la possibile formazioni di sottoprodotti di derivatizzazione secondari o artefatti di derivatizzazione che possono contribuire a rendere ancora più complessa l'interpretazione del segnale MS, in quanto gli eventuali sottoprodotti potrebbero mostrare lo stesso *pattern* di frammentazione di alcuni degli analiti in analisi [86,110-112]. Inoltre, la presenza nel campione iniettato di derivatizzante che non avesse reagito potrebbe essere dannoso per il sistema GC, contribuendo ad

abbreviare la durata della colonna cromatografica [111,113]. Alla luce di ciò, si è scelta per utilizzare il valore centrale del dominio come percentuale di reagenti derivatizzanti ( $X_3=0$ ) in quanto offre una resa sufficientemente buona sia per gli acidi che per gli zuccheri, permettendo di operare in condizioni blande di analisi cromatografica (Fig. 12, c). Questa scelta è stata confermata da prove su campioni reali di particolato atmosferico: le condizioni scelta (reagenti al 55%) non modificano significativamente la resa di reazione (in media meno del 10%) rispetto alle condizioni ottimali (reagenti 100%) (Fig. 14, Fig. 15).



**Fig. 14:** Campione di PM<sub>2.5</sub> raccolto nella provincia di Bologna nell'inverno 2008, derivatizzato nelle condizioni di massimo (blu) e in quelle scelte (rosso).

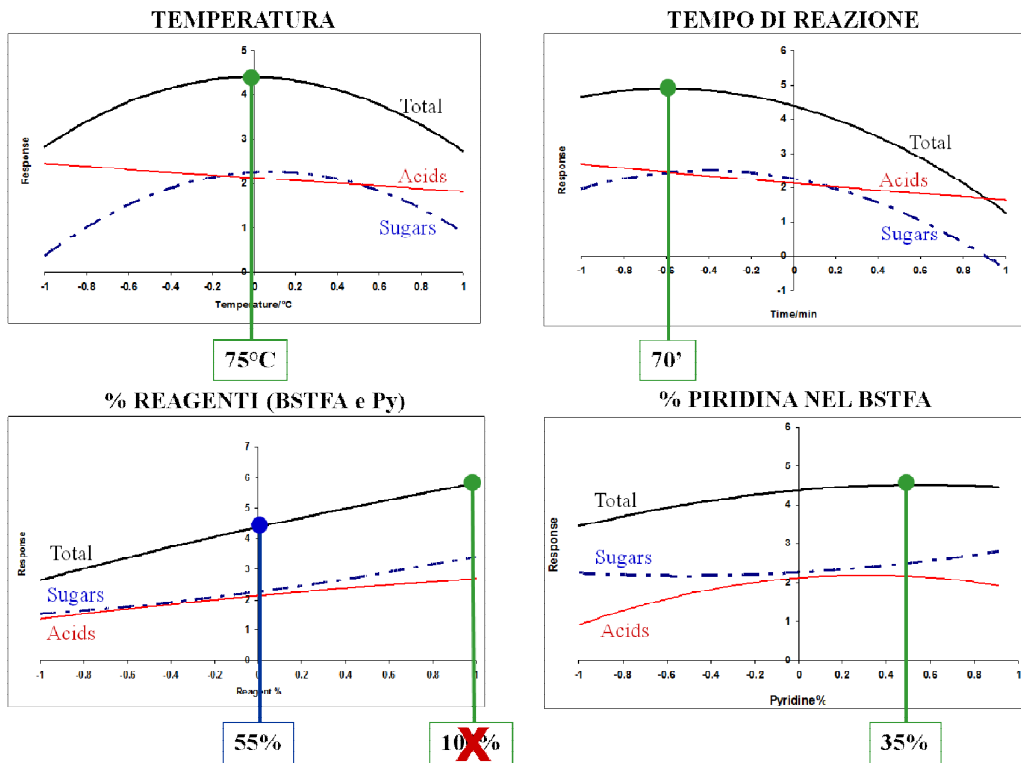


Fig. 15: Risposta dei singoli parametri ottimizzati e condizioni scelte.

La riproducibilità e l'efficienza della procedura sono state valutate tramite misure ripetute di standard a due diverse concentrazioni, 5ng/μL e 10ng/μL (Tab. 10).

Nelle condizioni di reazione ottimizzate (Tab. 11) è stato possibile costruire curve di calibrazione, utilizzando soluzioni standard multicomponente, di numerosi acidi carbossilici e saccaridi di interesse ambientale, trovando coefficienti di correlazione lineare molto buoni, sempre  $R^2 > 0.99$ , e limiti di rilevabilità compatibili con l'obiettivo di individuare e quantificare tali specie nei campioni di particolato atmosferico (Tab. 12 e 13). Infatti il metodo è stato applicato a numerosi campioni con diversa concentrazione degli analiti target, in quanto il particolato è stato raccolto in diversi siti e stagioni.

**Tab. 10:** Valutazione delle performance analitiche della procedure ottimizzata: recupero percentuale (R%) e precisione (RSD%). Soluzioni standard a 5ng/μL e 10ng/μL. La concentrazione misurata è espressa con la relativa incertezza.

Specie	Concentrazione ng/μL	Concentrazione misurata ng/μL	R%	RSD%
Acido Succinico	5	4.6±0.6	92	14
	10	9.4±0.8	94	8
Acido glutarico	5	4.8±0.5	95	10
	10	9.6±0.6	96	6
Acido adipico	5	4.8±0.5	96	10
	10	9.8±0.5	98	6
Acido azelaico	5	4.9±0.4	98	9
	10	9.9±0.5	99	6
Glucosio	5	4.8±0.4	97	8
	10	9.9±0.4	99	5
Levoglucoosano	5	4.9±0.5	99	10
	10	10.0±0.5	101	6

**Tab. 11:** Condizioni di derivatizzazioni ottimizzate

Variabili studiate	Condizioni ottimizzate
<b>T</b>	75°C; $X_1=0.2$
<b>t</b>	70'; $X_2=-0.6$
<b>%R</b>	55%; $X_3=0$
<b>%Py</b>	35%; $X_4=0.5$

**Tab. 12:** Curve di calibrazione e limite di rilevabilità di acidi ottenuti con la procedura ottimizzata. La concentrazione è espressa in ng/m<sup>3</sup> supponendo un campionamento di 55m<sup>3</sup> di aria. I parametri b<sub>1</sub> e b<sub>0</sub> si intendono espressi con il relativo intervallo di confidenza.

Acidi	b <sub>0</sub>	b <sub>1</sub>	R <sup>2</sup>	X <sub>LOD</sub> ng/m <sup>3</sup>
Glicolico	0.12±0.06	0.10±0.04	0.995	2.8
Malonico	0.03±0.01	0.040±0.001	0.997	1.4
Maleico	0.00±0.02	0.060±0.002	0.999	1.1
Succinico	0.09±0.02	0.083±0.002	0.999	0.8
Glutarico	-0.01±0.02	0.070±0.002	0.998	1.5
Mandelico	-0.01±0.03	0.057±0.003	0.994	2.7
Malico	0.005±0.009	0.018±0.001	0.994	2.4
2 OH Benzoico	0.009±0.005	0.032±0.001	0.994	0.7
Adipico	0.02±0.01	0.044±0.002	0.995	1.5
3 OH Benzoico	0.00±0.02	0.094±0.002	0.999	0.8
Pimelico	0.00±0.01	0.033±0.001	0.997	2.0
4 OH Benzoico	-0.03±0.03	0.071±0.002	0.997	1.7
Ftalico	0.02±0.03	0.067±0.002	0.995	2.2
Suberico	-0.02±0.02	0.038±0.002	0.995	2.3
Azelaico	-0.006±0.009	0.024±0.001	0.997	1.6



**Tab. 13:** Curve di calibrazione e limite di rilevabilità di saccaridi ottenuti con la procedura ottimizzata. La concentrazione è espressa in  $\text{ng}/\text{m}^3$  supponendo un campionamento di  $55\text{m}^3$  di aria. I parametri  $b_1$  e  $b_0$  si intendono espressi con il relativo intervallo di confidenza.

Zuccheri	$b_0$	$b_1$	$R^2$	$X_{\text{LOD}}$ $\text{ng}/\text{m}^3$
Arabinoso	$-0.015 \pm 0.009$	$0.021 \pm 0.001$	0.994	1.9
Mannoso	$0.01 \pm 0.02$	$0.033 \pm 0.002$	0.994	2.4
Galattoso	$-0.003 \pm 0.006$	$0.012 \pm 0.001$	0.996	2.1
Glucoso	$-0.01 \pm 0.02$	$0.039 \pm 0.001$	0.998	1.4
Levoglicosano	$0.001 \pm 0.001$	$0.005 \pm 0.001$	0.999	1.3
Micoso	$0.01 \pm 0.02$	$0.028 \pm 0.001$	0.995	2.9
Maltoso	$0.004 \pm 0.008$	$0.012 \pm 0.001$	0.994	3.0



## 4. TRATTAMENTO DEL CAMPIONE: ESTRAZIONE ED EVAPORAZIONE

La prima fase di trattamento dei campioni di PM consiste nell'estrazione dai filtri di fibra di quarzo, aggiungendo un solvente, scelto in base alla polarità delle specie analitiche in esame. I solventi più comunemente utilizzati sono diclorometano (DCM) e metanolo (MeOH) per ottenere la dissoluzione di specie in un ampio spettro di polarità: dagli alcani lineari agli zuccheri. Lo studio eseguito, essendo dedicato all'analisi della frazione organica idrosolubile del PM (WSOC) richiede l'utilizzo di solventi molto polari, quali l'acqua o il metanolo e per mantenersi nelle condizioni operative concordate nel Progetto Monitor, si è concentrato sull'uso dell'acqua come solvente di estrazione.

Il campione viene, quindi, filtrato (in particolare con filtri in PTFE) per rimuoverne la parte solida, e il solvente viene eliminato completamente per evitare problemi nel trattamento del campione in quanto il metanolo o l'acqua renderebbero inapplicabile il processo di sililazione, e per ottenere la riconzentrazione dei composti presenti nei campioni. Nel processo utilizzato, la fase di evaporazione dei campioni è stata effettuata sotto un leggera corrente di azoto puro a temperatura ambiente. Questa operazione è risultata essere lo *step* critico del processo di analisi, dato che richiede tempi anche molto lunghi (24-72h) e può comportare anche notevoli perdite di analiti. Si è tentato di diminuire questo effetto basificando la soluzione: prove di

recupero hanno mostrato che aggiungendo una piccola quantità di KOH (50 $\mu$ L, 0.1M) si possono ridurre sensibilmente le perdite per evaporazione (Tab. 14).

**Tab 14:** Recupero percentuale dell'evaporazione calcolato su standard (20ng/m<sup>3</sup>) a diversi volumi di solvente e con aggiunta di una base (KOH, 50 $\mu$ L, 0.1M).

<b>Specie</b>	<b>R% (5mL)</b>	<b>R% (25mL)</b>	<b>R% (25mL) + KOH</b>
Ac. Malonico	85	10	35
Ac. Succinico	95	20	45
Ac. Adipico	110	40	85
Ac. Azelaico	120	80	85

La durata della fase di evaporazione ha chiaramente un ruolo fondamentale, utilizzando, infatti, solventi con una maggiore volatilità dell'acqua, come DCM o MeOH, si avrebbe un notevole risparmio di tempo e un maggior recupero dei composti (Tab. 15).

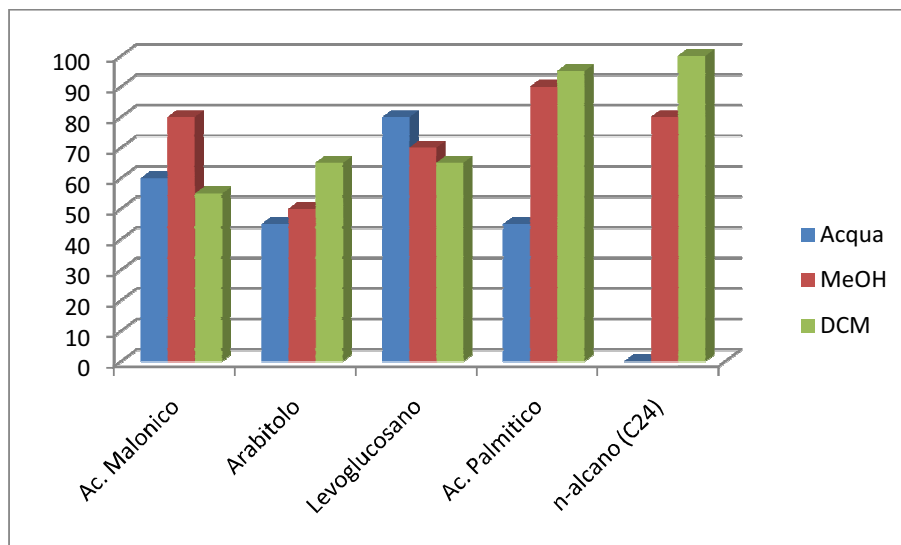
**Tab. 15:** Temperatura di ebollizione e tempo necessario all'evaporazione di 1mL di solvente sotto corrente di azoto.

<b>Solvente</b>	<b>T<sub>eb</sub></b>	<b>t<sub>evaporazione</sub></b>
Acqua	100°C	300'
Metanolo	65°C	20'
Diclorometano	40°C	10'

Ancor meglio sarebbe evitare completamente la fasi di estrazione ed evaporazione: entrambi passaggi comportano perdita di analiti. Il rendimento dell'estrazione, soprattutto se ci si pone in condizioni di polarità intermedia, non è il 100% e non è uguale per tutti gli analiti (Fig. 16). Inoltre, filtrando ed evaporando si possono

verificare perdite dei composti estratti che già sono in quantità esigua nei campioni ambientali.

Questi risultati dimostrano che il processo tradizionale di estrazione/evaporazione comporta, in ogni caso, perdite di analita, oltre ad un significativo consumo di tempo.



**Fig. 16:** Recupero percentuale su standard ( $20\text{ng}/\text{m}^3$ ) calcolato con 10mL di diversi solventi. Sono stati considerate specie a diversa polarità ma tutte presenti nei campioni di particolato atmosferico [Studi preliminari].

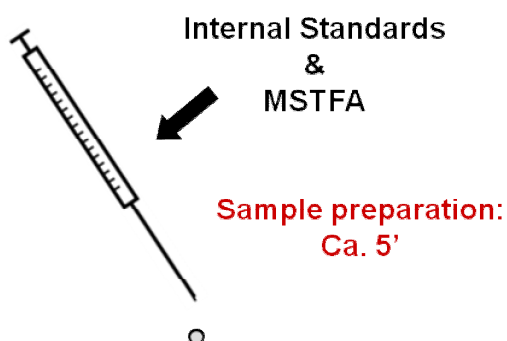
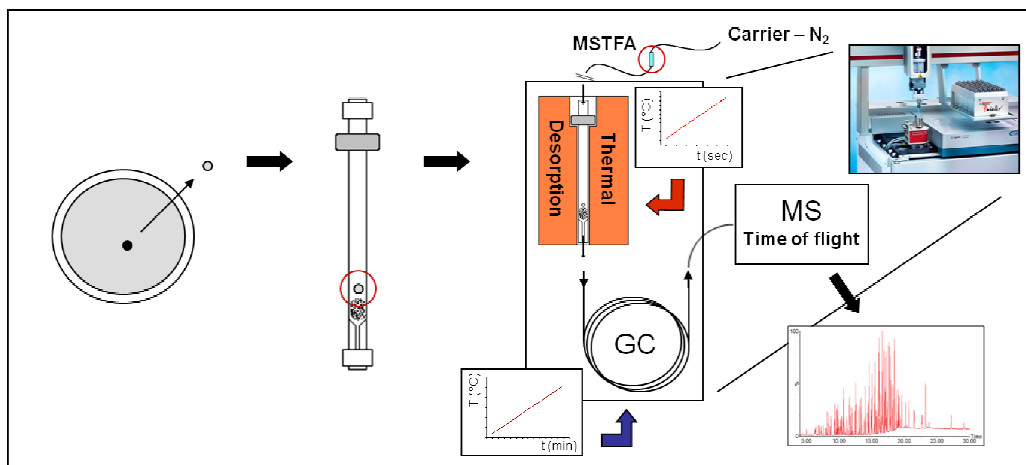
Esistono tecniche alternative in cui è possibile evitare questi passaggi, compiendo l'analisi GC-MS dei composti presenti sul particolato atmosferico desorbendo direttamente i composti dal filtro per effetto termico (DTD-GC-MS: Direct Thermal Desorption Gas Chromatography-Mass Spectrometry). Lo studio di questa tecnica di desorbimento termico è stato svolto nell'ambito della collaborazione esistente con il gruppo di ricerca del Prof. Ralf Zimmermann, presso l'Helmholtz Zentrum di Monaco di Baviera (Germania), che possiede una notevole esperienza nell'applicazione di questa procedura.

## 4.1 Direct Thermal Desorption

Le tecniche DTD-GC-MS (Direct Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry) sono studiate, ed applicate all'analisi dei campioni ambientali di particolato atmosferico, con crescente interesse, comportando numerosi vantaggi, sia nel trattamento del campione che nei tempi di analisi. Contrariamente alle tecniche di estrazione con solvente (SE: Solvent Extraction) non richiedono pre-trattamento del campione, inoltre utilizzano piccole aliquote del filtro di raccolta del PM, per un campionamento ad alto volume di 24h servono 0.3-5cm<sup>2</sup> di filtro contro ca. 200cm<sup>2</sup> per un approccio SE [114]. In DTD il trasferimento degli analiti dal filtro al sistema gas cromatografico avviene tramite il riscaldamento all'interno di un apposito sistema di desassorbimento termico collegato al GC, o interno ad esso, in presenza di un flusso di gas inerte (il *carrier* cromatografico). Le specie sono termicamente estratte nella corrente di vapore e ricondensati nel *liner* del GC o in testa alla colonna cromatografica.

L'approccio DTD evita la contaminazione da impurità presenti nel solvente, richiede poco tempo per la preparazione del campione (<5') e utilizza piccole quantità di campione (ca. 10µg di carbonio organico) [115]. Una tecnica TD permette il riconoscimento e la quantificazione di più di un centinaio di sostanze apolari notoriamente presenti nei campioni di aerosol atmosferico: IPA, *n*-alcani, *iso*- e *antiiso*-alcani, opani, alcani ramificati, composti ciclici e alcheni [114].

Presso il gruppo del Prof. Ralf Zimmermann, che lavora presso l'Helmholtz Zentrum di Monaco di Baviera (Germania) [116], è stato possibile applicare anche un processo di derivatizzazione all'analisi DTD-GC-MS, in particolare DTD-GC-TOFMS, di campioni ambientali. Sulla porzione di filtro da analizzare viene aggiunto 1µL di *N*-metil-*N*-(trimetilsilil) trifluoroacetammide (MSTFA) che porta, durante il processo di desassorbimento termico, alla reazione di sililazione in fase gassosa dei composti polari, rendendoli analizzabili per via gas cromatografica. Per migliorare la resa del processo il *carrier*, azoto, prima di raggiungere il sistema viene fatto passare in un ambiente saturo di MSTFA (Fig. 17).



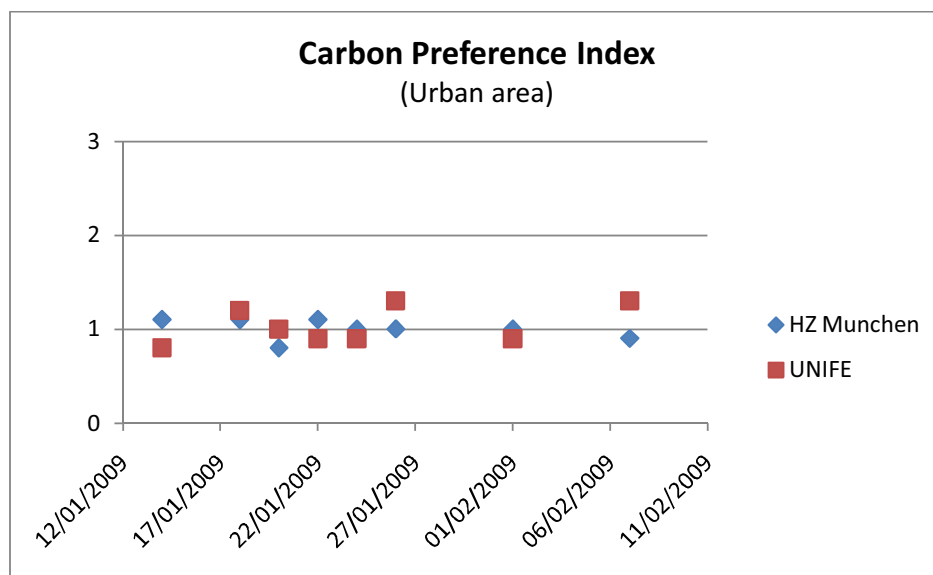
**Fig. 17:** Su una frazione del filtro di raccolta del PM, corrispondente a ca. 1m<sup>3</sup> di aria campionata vengono aggiunti standard interno e derivatizzante, dopodiché viene posta in un liner GC che andrà nel sistema di desassorbimento termico. Nel TD avviene un riscaldamento fino a 300°C, durante il quale i composti, derivatizzati e non, entrano nel sistema GC-TOFMS dove verranno separati ed identificati.

L'elevato numero di specie, polari ed apolari, che entrano nel sistema GC-MS complica l'interpretazione dello spettro di massa ma il potere separativo del gas cromatografo, la scelta per il riconoscimento in SIM (Selected Ion Monitoring) per i vari analiti dei più caratteristici frammenti  $m/z$  e la ottima sensibilità di uno spettrometro a tempo di volo (TOF: Time Of Flight) permettono di arrivare a riconoscere e quantificare un grandissimo numero di composti, anche di natura notevolmente diversa, come alcani e zuccheri, in una sola analisi.

Questo la rende una tecnica altamente sfruttabile nell'analisi dei campioni di particolato atmosferico, sia nella misurazione delle variazioni stagionali che nel monitoraggio giornaliero.

Al fine di ottenere un confronto diretto tra la tecnica di desorbimento termico con derivatizzazione in situ (IDTD-GC-TOFMS), e il processo di derivatizzazione con BSTFA da applicare all'interno del Progetto Monitor, è stata eseguita una analisi sugli stessi campioni di  $PM_{2.5}$  raccolti in un sito urbano di Bologna e in uno rurale della provincia ( $27m^3$  di aria campionata per ogni campione; Dati sperimentali, Cap. 7, Par. 7.1).

Con la tecnica IDTD-GC-TOFMS, sono stati quantificati *n*-alcani, IPA, o-IPA, opani, glucosio, levoglucosano, mannosano e galattosano. Con il processo SE-GC-MS e derivatizzazione con BSTFA, sono stati quantificati *n*-alcani, glucosio e levoglucosano (Dati sperimentali, Cap. 7, Par. 7.2), estraendo i composti dai filtri con 10mL di solvente (DCM 50%, MeOH 50%).



**Fig. 18:** CPI calcolato per gli *n*-alcani tra  $C_{20}$  e  $C_{32}$  su campioni di  $PM_{2.5}$  relativi ad un'area urbana. È stato considerato un periodo di circa un mese tra gennaio e febbraio 2009.

Per confrontare il rendimento dei due processi considerati nell'analisi degli alcani, è stato calcolato il CPI (CPI: Carbon Preference Index) sui *n*-alcani, tra  $C_{20}$  e  $C_{32}$ , in un periodo che interessa circa trenta giorni tra gennaio e febbraio 2009.

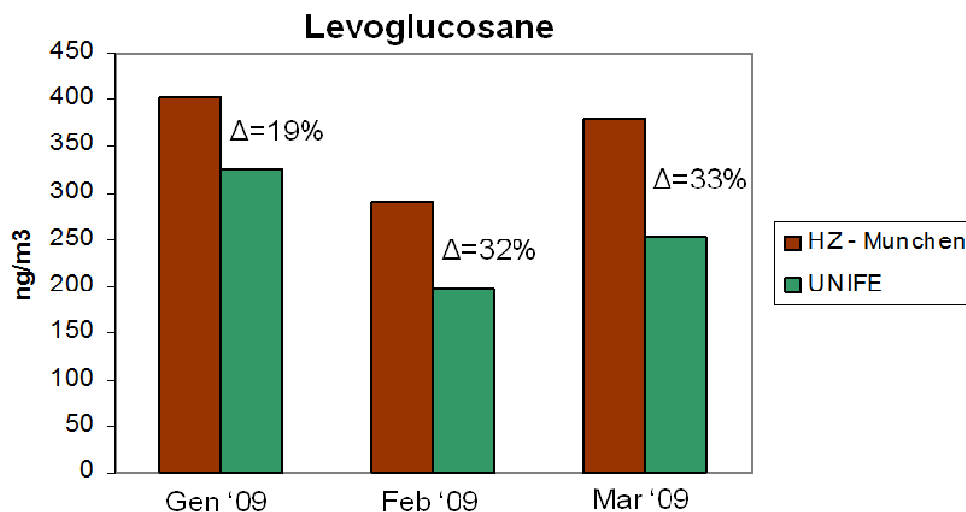


(Eq. 2)

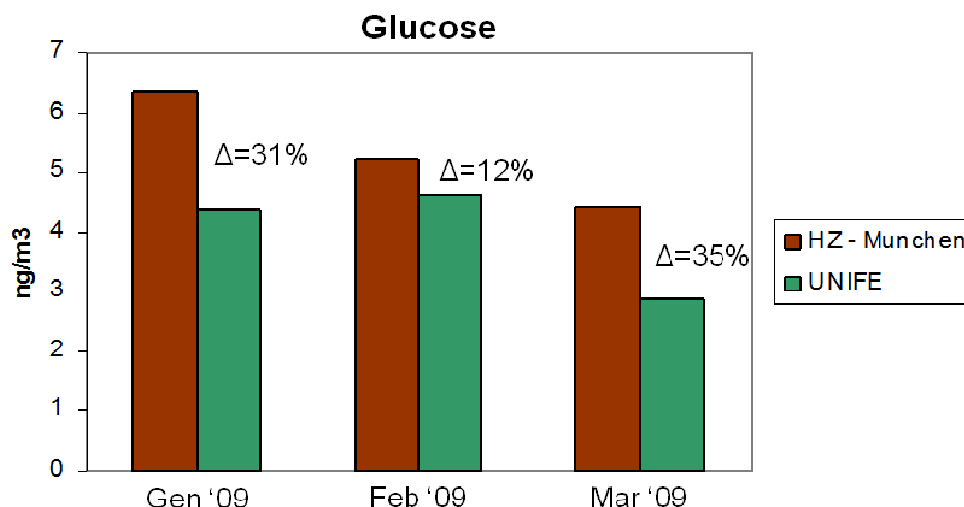
$$CPI = \frac{\sum_i^n C(odd)_i}{\sum_j^m C(even)_j}$$

Il CPI è calcolato come il rapporto tra la somma delle concentrazioni degli alcani lineari a numero dispari di atomi di carbonio e la somma delle concentrazioni di quelli a numero pari (Eq. 2). È un parametro utile nello studio dei campioni di particolato atmosferico, in quanto dà indicazione sulle natura antropogenica (CPI~1) o biogenica (CPI>3) delle sorgenti presenti nell'area di campionamento [117,118,119,120].

I risultati ottenuti con la tecnica IDTD-GC-TOFMS e quelli ottenuti con un, più comune, processo SE-GC-MS mostrano una buona coerenza (Fig. 18), offrendo la possibilità di ricavare le stesse considerazioni riguardanti i campioni analizzati: il CPI~1 in tutto il periodo indica una decisa prevalenza delle sorgenti antropogeniche nell'area considerata, come, peraltro, prevedibile in una zona urbana durante il periodo invernale [116].



*Fig. 19: Concentrazione media mensile di levoglucosano su campioni di PM<sub>2.5</sub> provenienti da un'area urbana.*



*Fig. 20: Concentrazione media mensile di glucosio in campioni di PM<sub>2.5</sub> raccolti in un'area urbana.*

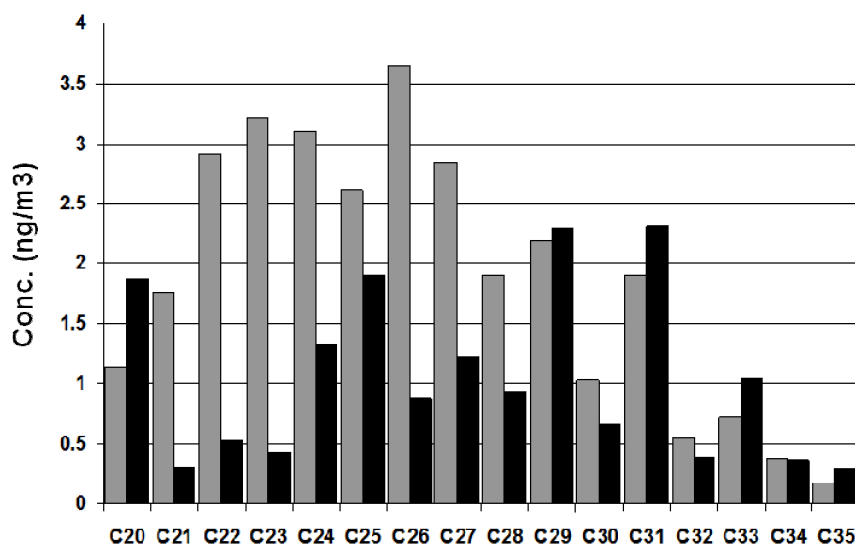
Il confronto tra le concentrazioni degli zuccheri ricavate sugli stessi campioni tramite TD o SE evidenziano una perdita di analita compresa tra il 10% e il 30% (Fig. 19 e Fig. 20), imputabile, come detto, alla solubilità delle specie nel solvente utilizzato, che influenza la resa dell'estrazione, e alla fase di evaporazione precedente alla derivatizzazione.

## 4.2 Applicazione della tecnica IDTD-GC-MS

La tecnica IDTD-GC-MS è stata applicata all'analisi di campioni di PM<sub>2.5</sub> provenienti da campagne di raccolta eseguite nella città di Augsburg, in Germania, in un periodo estivo, agosto-settembre 2007, e in un periodo invernale, febbraio-marzo 2008, al fine di confrontare la distribuzione stagionale di un ampio numero di sostanze presenti nel particolato atmosferico: gli alcani da C<sub>20</sub> a C<sub>35</sub>, 10 PAH e 7 o-

PAH, oltre a composti polari come degli acidi *n*-alcanoici a catena lunga e il levoglucosano.

In particolare, la concentrazione degli alcani lineari della serie omologa è stata confrontata in estate ed inverno (Fig. 21): il profilo estivo è dominato dagli alcani a catena più lunga ( $C > C_{27}$ ) derivanti principalmente dalle piante, per abrasione o combustione incompleta. I livelli degli alcani  $C_{29}$ - $C_{33}$  sono circa una volta e mezza più alti nel periodo caldo ed è presente una rilevante prevalenza dispari/pari (CPI $>2$ ), infatti le concentrazioni massime si hanno per gli alcani  $C_{29}$  e  $C_{31}$ .

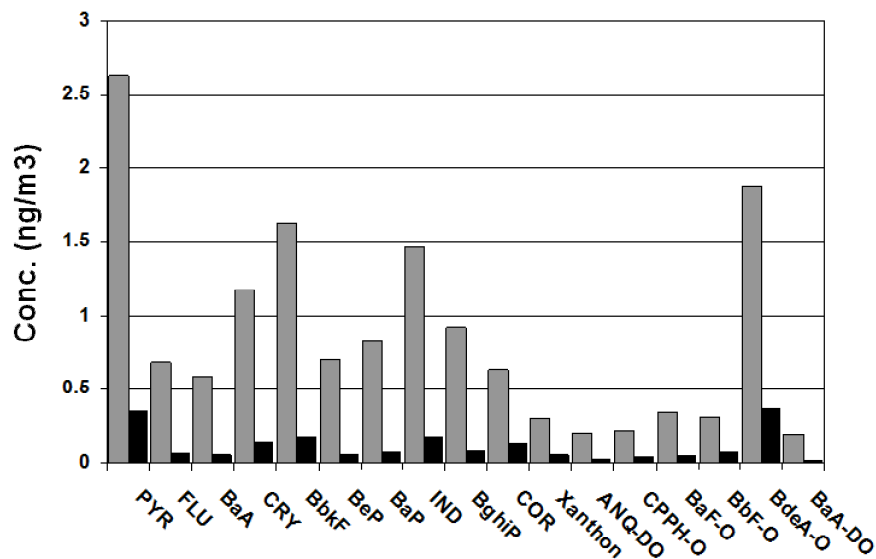


*Fig. 21: Distribuzione nel periodo invernale (in grigio) ed estivo (in nero) della concentrazione degli alcani lineari tra  $C_{20}$  e  $C_{35}$ .*

Gli idrocarburi policiclici aromatici hanno mostrato un livello 8-9 volte superiore nel periodo freddo e gli o-PAH 6-7 volte. La maggior concentrazione nella stagione invernale è, principalmente, attribuibile all'incremento della presenza di sorgenti primarie, come il traffico veicolare o il riscaldamento domestico, e al concomitante effetto di particolari condizioni atmosferiche, che hanno contribuito a ridurre i fenomeni di trasporto e mescolamento.

Il confronto tra la distribuzione di PAH e o-PAH nei periodi estivo ed invernale mostra un rilevante incremento delle sorgenti non correlate al traffico nel periodo freddo: la concentrazione di BAP, BAA BBKF, CRY, IND e BdA-o, correlati al

riscaldamento è cresciuta proporzionalmente di più di quella di sostanze collegate ad emissioni veicolari, come BEP, BGH, COR o BaF-o (Fig. 22).



*Fig. 22: Distribuzione della concentrazione di PAH e o-PAH nel periodo invernale (in grigio) ed estivo (in nero).*

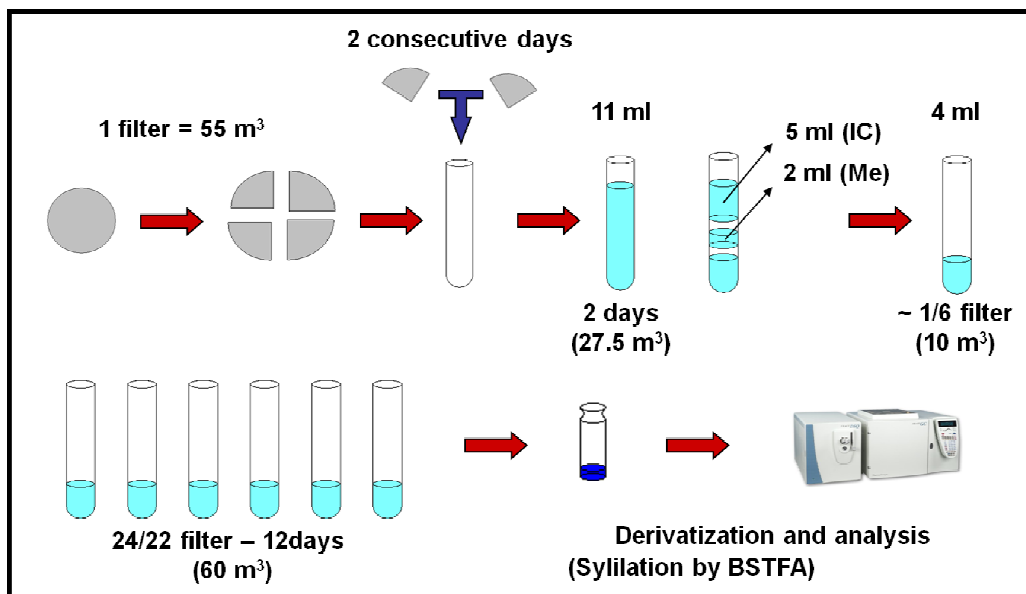
I risultati ottenuti confermano che la tecnica IDTD-GC-MS è, effettivamente, applicabile all'analisi di campioni di particolato atmosferico per ricavare utili indicazioni da un'ampia gamma di sostanze, anche molto differenti, quantificabili in un unico processo analitico.

## 5. RISULTATI SPERIMENTALI

Le procedure operative relative alla raccolta, trattamento e suddivisione dei filtri ed alla solubilizzazione del particolato sono state determinate dallo sviluppo dell'intero Progetto Monitor, con lo scopo di permettere la simultanea analisi di un numero elevato di componenti: microinquinanti organici, specie anioniche e cationiche, componente carboniosa e metalli idrosolubili. L'obiettivo era quello di realizzare una caratterizzazione chimica il più completa possibile del PM. Per questo, ogni filtro campionato giornalmente è stato suddiviso in varie parti e l'estratto, ottenuto dopo la solubilizzazione in acqua, è stato ulteriormente suddiviso nei vari laboratori, secondo lo schema riportato in figura (Fig. 23).

Ogni filtro di raccolta del particolato è stato caricato su campionatori a basso volume per 24h, ottenendo, perciò, circa 55m<sup>3</sup> di aria campionata, ed è stato, quindi, tagliato in 4 parti divise tra i vari gruppi per eseguire le analisi.

L'estrazione degli analiti è stata eseguita con acqua MilliQ presso l'Università di Bologna, utilizzando 11mL ogni 2 quarti di filtro, dei quali 5mL sono stati destinati all'analisi degli ioni, 2mL all'analisi dei metalli ed i rimanenti 4mL all'analisi delle specie organiche: l'equivalente, perciò, di 1/6 di filtro circa. Pertanto, risulta evidente che le condizioni operative sono lontane da quelle ottimali previste dal metodo analitico studiato in precedenza (1 filtro estratto con 10mL di acqua).



**Fig. 23:** *Trattamento dei campioni di particolato atmosferico nelle fasi precedenti all'analisi GC-MS.*

*Ogni filtro, corrispondente ad un giorno di raccolta di PM, è stato tagliato in quattro quarti; due quarti, relativi a due giorni successivi sono stati estratti in 11 mL di acqua MilliQ; l'estratto ottenuto è stato diviso in diverse aliquote destinate a differenti analisi: 4 mL, l'equivalente di circa 10 m<sup>3</sup> di aria campionata, sono stati destinati all'analisi dei microinquinanti organici. Per ottenere dei campioni con una concentrazione di analiti paragonabili a quelle presumibilmente corrispondenti ad un intero filtro, è necessario riunire gli estratti di diversi giorni successivi.*

In generale, dato che la quantità delle sostanze in esame nei campioni atmosferici è attesa essere molto bassa (Tab. 16 e Tab. 17) [55,81,84,85,99,101,105,107,121], è stato necessario riunire campioni relativi a più giorni consecutivi (Fig. 23) per raggiungere una massa di particolato raccolto corrispondente ad un volume di aria campionata di circa 55 m<sup>3</sup>, che potesse contenere quantità di analiti compatibili con i limiti di rilevabilità del metodo analitico.

**Tab. 16:** Concentrazione di acidi dicarbossilici lineari tra C<sub>3</sub> e C<sub>9</sub>, misurate in diverse aree e periodi.

	<b>C<sub>3</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>4</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>5</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>6</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>7</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>8</sub></b> ng/m <sup>3</sup>	<b>C<sub>9</sub></b> ng/m <sup>3</sup>
<b>Tokyo (summer) [55]</b>	71	73	23	26	10	-	15
<b>Tokyo (winter) [55]</b>	40	47	18	14	8	-	20
<b>Texas [84]</b>	13	17	8	6	2	5	14
<b>Hong Kong [105]</b>	68	52	13	12	2	2	33
<b>Germania (wood) [81]</b>	-	2	2	2	2	2	5
<b>USA (park) [101]</b>	-	3	1	1	1	-	5

**Tab. 17:** Condizioni di campionamento comunemente utilizzate al fine di misurare la concentrazione degli acidi dicarbossilici lineari.

<b>PAPERS</b>	<b>SAMPLING SITE</b>	<b>SAMPLED VOLUME</b>
Yue & Fraser, <i>Atm. Env.</i> , 2004 [84]	Houston, TX (USA)	High Volume, 24h (ca. 700m <sup>3</sup> )
Ray & McDow, <i>Atm. Env.</i> , 2005 [99]	Philadelphia, PA (USA)	High Volume, 10h (ca. 300m <sup>3</sup> )
Ho et al., <i>Atm. Env.</i> , 2006 [105]	Hong Kong (urban roadside area)	7.2m <sup>3</sup> (170.000 vehicles per day)
Kawamura et al., <i>Atm. Env.</i> , 2005 [107]	Canadian artic (winter to spring)	1800m <sup>3</sup>
Lewandowski et al., <i>Atm. Env.</i> , 2007 [85]	Research Triangle Park, NC (USA)	400 – 500m <sup>3</sup>
Decesari et al., <i>Atm. Env.</i> , 2001 [121]	S.Pietro Capofiume, BO (Italy)	300m <sup>3</sup> (summer)

All'interno del Progetto Monitor sono state eseguite due campagne di monitoraggio, una svoltasi tra il 3 giugno 2008 e il 24 luglio 2008 e una tra il 14 gennaio 2009 e il 12 marzo 2009, su 8 siti di raccolta, nei quali è stato campionato particolato fine (PM<sub>2.5</sub>). In tre di questi punti è stato raccolto anche particolato ultrafine (PM<sub>1</sub>). I campionamenti sono stati eseguiti in un'area circostante la città di Bologna, in siti con caratteristiche molto diverse: da prevalentemente rurali a totalmente urbane (Tab. 18) [[www.arpa.emr.it/moniter/](http://www.arpa.emr.it/moniter/)].

Le concentrazioni degli analiti individuate sono riportate nel capitolo 7 (Dati sperimentali, Cap. 7, Par. 7.3 e Par. 7.4).



**Tab 18:** Siti di campionamento del particolato atmosferico.

Sito*	Carattere	PM campionato
MixA	Misto	PM <sub>2,5</sub> ; PM <sub>1</sub>
MixB	Misto	PM <sub>2,5</sub>
MixC	Misto	PM <sub>2,5</sub>
IndA	Impianto industriale	PM <sub>2,5</sub> ; PM <sub>1</sub>
IndB	Impianto industriale	PM <sub>2,5</sub>
UrbBG	Fondo urbano	PM <sub>2,5</sub>
Urb	Urbano	PM <sub>2,5</sub> ; PM <sub>1</sub>
Rural	Rurale	PM <sub>2,5</sub>

\*: A causa di accordi di riservatezza con ARPA-ER non è possibile entrare più in dettaglio sulle aree in cui è stato eseguito il campionamento.

## 5.1 Campagna di campionamento estiva

La concentrazione totale degli acidi dicarbossilici nel periodo estivo, misurata sui campioni raccolti, è, nella maggior parte dei casi, piuttosto bassa (inferiore a 25ng/m<sup>3</sup>) per i tutti i siti considerati (Fig. 24). Fanno eccezione i siti indicati come Urb e Mix C nei giorni tra il 16 e il 28 giugno e il sito Ind A in tutto il periodo campionato.

La distribuzione dei singoli acidi dicarbossilici lineari, tra C<sub>3</sub> e C<sub>9</sub>, nel periodo considerato, nei siti Urb e Mix C, mostra una predominanza dei composti più leggeri, attribuibili a sorgenti primarie antropogeniche come mezzi di trasporto, o alla formazione di SOA in atmosfera in seguito alla degradazione di precursori come le cicloolefine, più pesanti, nel mese di giugno. Si nota, invece, una concentrazione maggiore delle specie più pesanti, correlabili a sorgenti biogeniche, in luglio (Fig. 25).

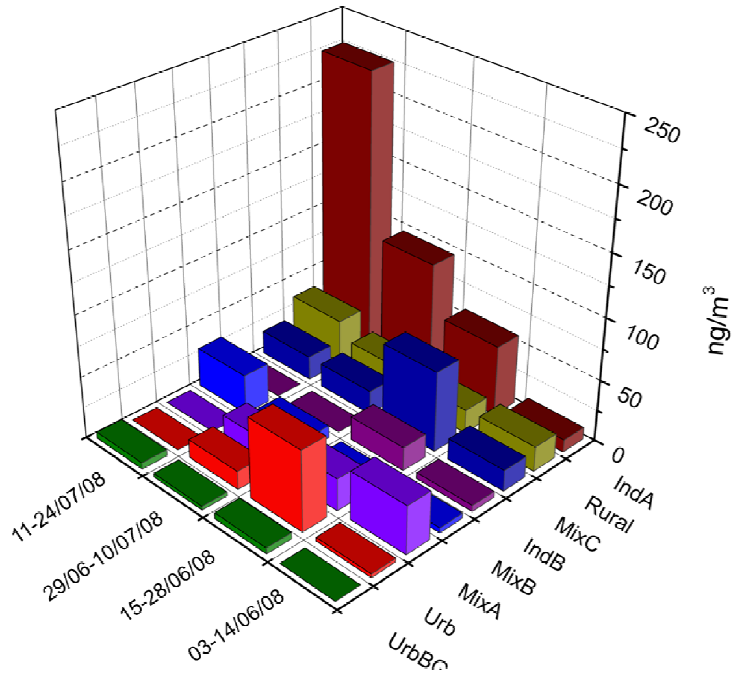


Fig. 24: Distribuzione della concentrazione totale degli acidi dicarbossilici lineari nel periodo estivo per i vari siti campionati.

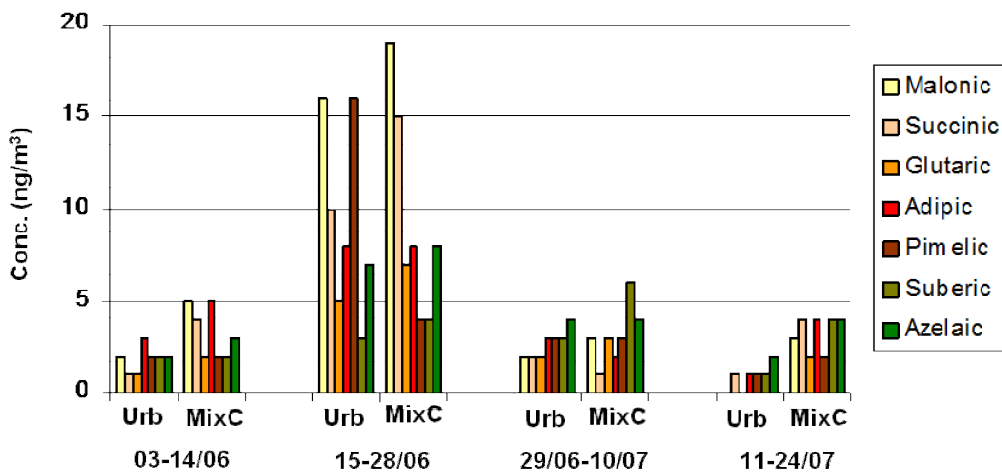
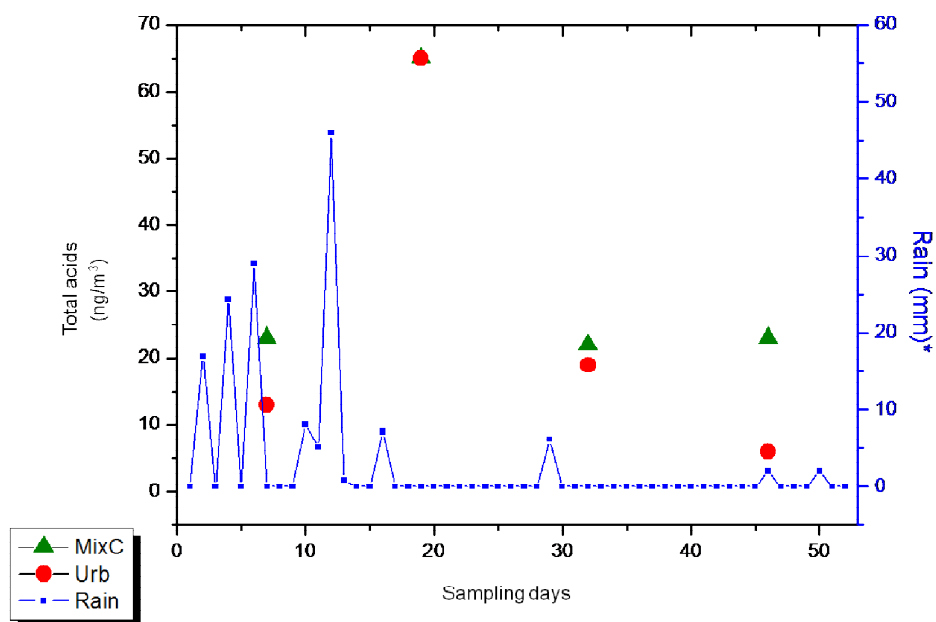


Fig. 25: Concentrazione degli acidi dicarbossilici lineari, da C<sub>3</sub> a C<sub>9</sub>, nei siti Urb e Mix C.

La variazione del contributo dato dai singoli acidi alla concentrazione totale può essere correlata ad un cambiamento delle sorgenti presenti nelle due aree. Una possibile ragione può essere trovata nelle condizioni meteo, infatti, i campioni che mostrano una maggiore presenza di sorgenti primarie antropogeniche corrispondono ad un periodo ad elevata piovosità (Fig. 26). Una conferma potrebbe essere ricercata dal confronto con dati relativi ad altri indicatori di attività antropogenica, come gli alcani (CPI).

Il comportamento analogo mostrato dai due siti, comunque, sembra indicare una similitudine nelle sorgenti che li interessano.



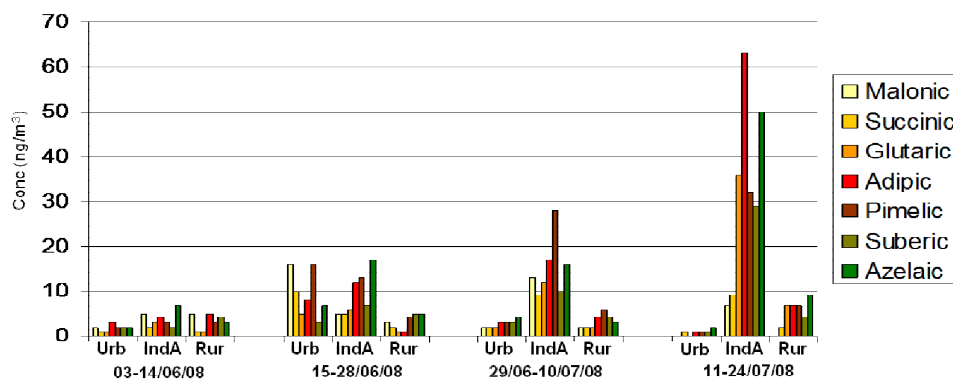
\*: Data from: [www.ilmeteo.it](http://www.ilmeteo.it)

**Fig. 26:** Confronto tra la concentrazione totale degli acidi dicarbossilici, nei siti Urb e MixC, e l'intensità delle precipitazioni nel periodo di campionamento: il picco di concentrazione per entrambi i siti corrisponde alla fine di un periodo di piogge intense.

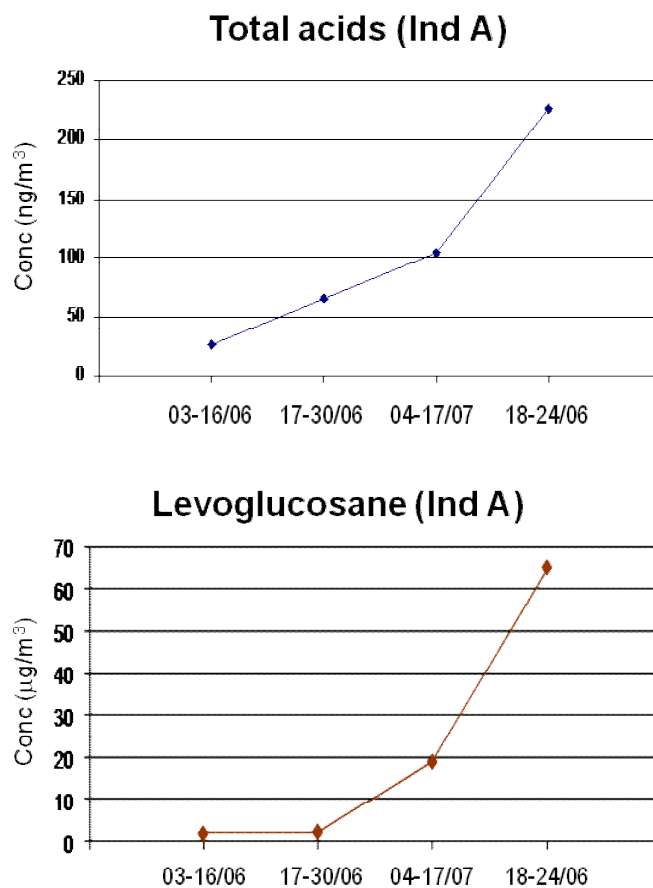
L'attività antropica relativa all'agricoltura ha un ruolo non indifferente nel periodo estivo, infatti il sito indicato come prevalentemente rurale (Rural) mostra una concentrazione relativamente alta dei composti in esame, anche se confrontato con il sito correlato alle zone urbane (Urb). La distribuzione dei singoli componenti della

serie degli acidi dicarbossilici lineari indica come nell'area rurale ci sia un'incidenza predominante dei composti più pesanti, legati a sorgenti biogeniche, rispetto all'area urbana in cui sono più rilevanti i componenti più leggeri, che hanno come sorgenti primarie i motori a combustione (Fig. 27).

Il sito indicato Ind A, inaspettatamente, mostra un andamento più simile a quello rurale, con una concentrazione più alta dei componenti più pesanti, da C<sub>6</sub> a C<sub>9</sub> (Fig. 27). In particolare si nota una crescita costante delle concentrazioni nel periodo considerato, accompagnato dalla corrispondente crescita della concentrazione del levoglucosano (Fig. 28) che è un noto *marker* della combustione delle biomasse.



**Fig. 27:** Distribuzione degli acidi dicarbossilici lineari, da C<sub>3</sub> a C<sub>9</sub>, nei siti Urb, Ind A e Rural, nei campioni relativi alla campagna estiva (06-07/2008).

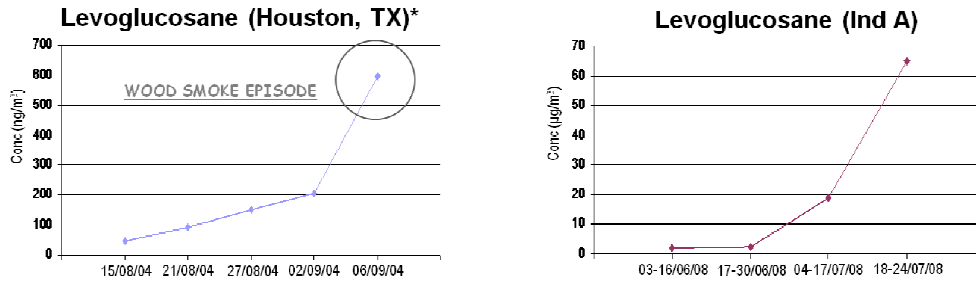


**Fig. 28:** Concentrazione totale di acidi dicarbossilici e levoglucosano nel sito Ind A durante il periodo di campionamento estivo.

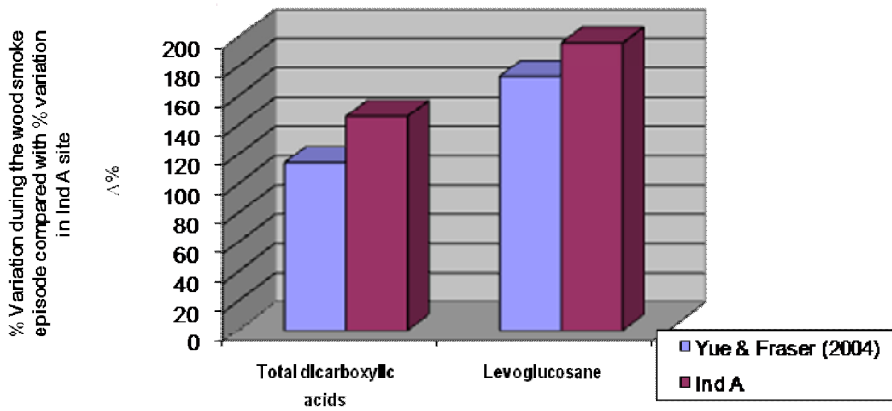
L'andamento è simile a quello riscontrabile durante un episodio di *wood burning*, cioè durante incendi boschivi [84]. Durante un campionamento nei dintorni di Houston (Texas - USA), Yue e Fraser [84], hanno potuto registrare l'andamento delle concentrazioni di levoglucosano e acidi dicarbossilici durante un incendio avvenuto nella zona: anche se l'arco temporale dell'episodio è notevolmente più breve di quello registrato in Ind A, esiste un notevole similitudine tra l'andamento sia degli acidi che del levoglucosano (Fig. 29 e Fig. 30). Inoltre, questo effetto è notevolmente più evidente sui campioni relativi al PM<sub>2,5</sub> che sul PM<sub>1</sub> (Fig. 31 e Fig. 32).

L'insieme di questi fattori può lasciare supporre che il fenomeno possa essere correlabile ad attività agricola di combustione di sterpaglie o simili: integrando,

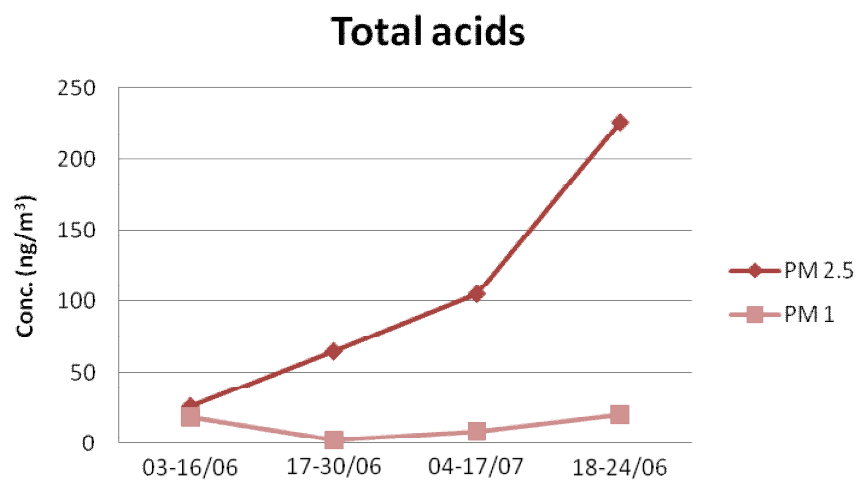
eventualmente, questi dati con altri derivanti da misure sui composti apolari, come alcani o PAH si potrebbero avere indicazioni ancora più precise al riguardo.



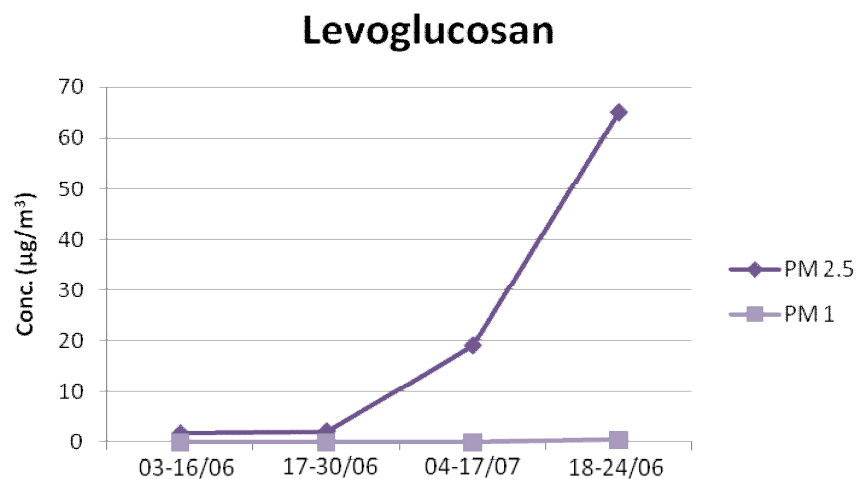
*Fig. 29: Andamento della concentrazione del levoglucosano durante un episodio di wood burning riportato in letteratura [84] e nel sito Ind A.*



*Fig. 30: Variazione percentuale della concentrazione degli acidi dicarbossilici e del levoglucosano durante un episodio di wood burning riportato in letteratura [84] e nel sito Ind A.*



**Fig. 31:** Concentrazione totale degli acidi dicarbossilici del sito Ind A nel  $PM_{2,5}$  e nel  $PM_1$ .



**Fig. 32:** Confronto tra la concentrazione del levoglucoziano nel sito Ind A nel  $PM_{2,5}$  e nel  $PM_1$ .

## 5.2 Campagna di campionamento invernale

Le concentrazioni totali degli acidi dicarbossilici per i vari siti, nei campioni relativi al periodo invernale, sono piuttosto omogenee, tutte comprese tra 20ng/m<sup>3</sup> e 80ng/m<sup>3</sup> (Fig. 33). Il sito urbano è quello che mostra la maggior presenza degli analiti considerati, probabilmente a causa del maggior numero di sorgenti primarie presenti. Osservando la concentrazione dei singoli acidi (Fig. 34 da 1 a 4) si nota come le componenti più leggere, da C<sub>3</sub> a C<sub>6</sub>, siano quelle predominanti in tutti i casi. Questo può essere dovuto ad una lunga permanenza del particolato in atmosfera che favorisce la formazione di SOA, come l'acido malonico, oltre che alla presenza di numerose sorgenti antropogeniche, per quanto riguarda gli acidi dal C<sub>4</sub> al C<sub>6</sub>.

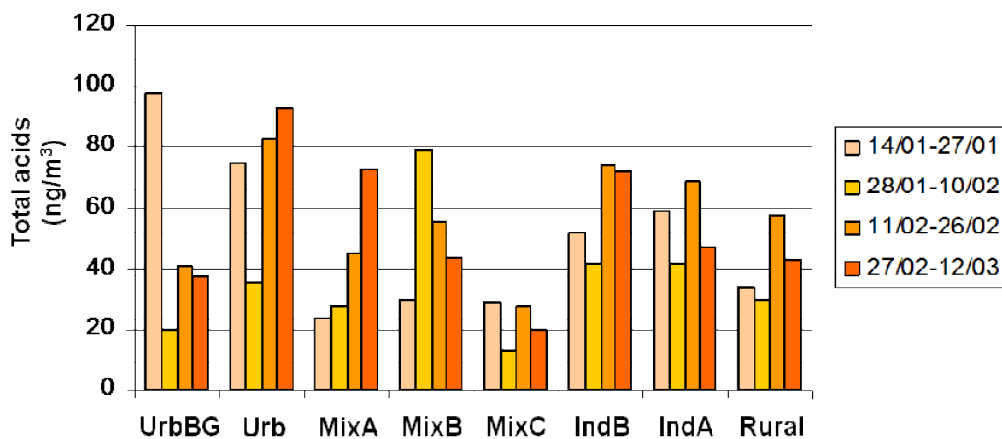


Fig. 33: Concentrazione totale degli acidi dicarbossilici, nei vari siti, nel periodo invernale.



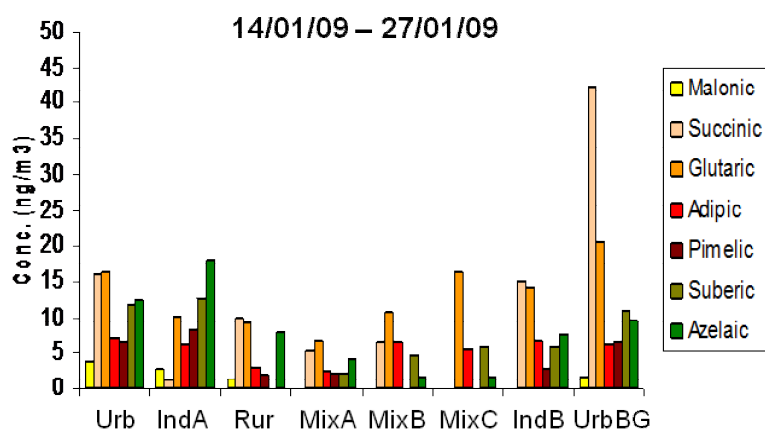


Fig. 34-1: Concentrazioni degli acidi dicarbossilici lineari dal C<sub>3</sub> al C<sub>9</sub> nel periodo dal 14/01/09 al 27/01/09.

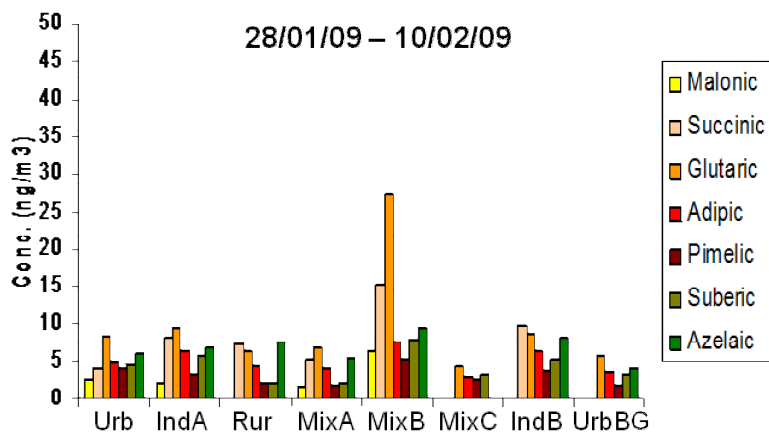


Fig. 34-2: Concentrazioni degli acidi dicarbossilici lineari dal C<sub>3</sub> al C<sub>9</sub> nel periodo dal 28/01/09 al 10/02/09.

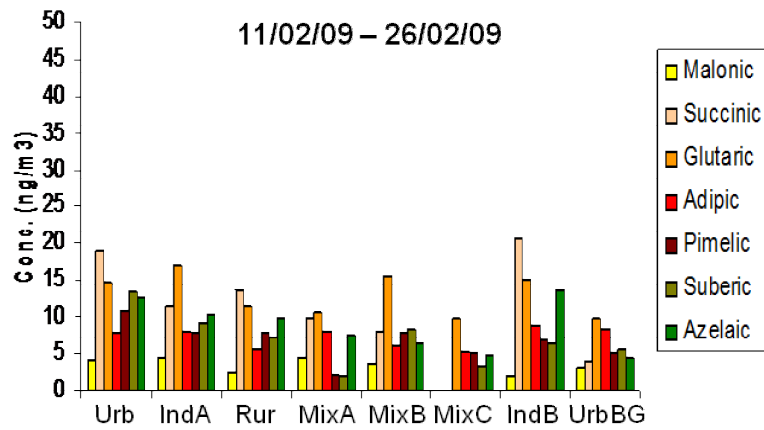


Fig. 34-3: Concentrazioni degli acidi dicarbossilici lineari dal C<sub>3</sub> al C<sub>9</sub> nel periodo dal 11/02/09 al 26/02/09.

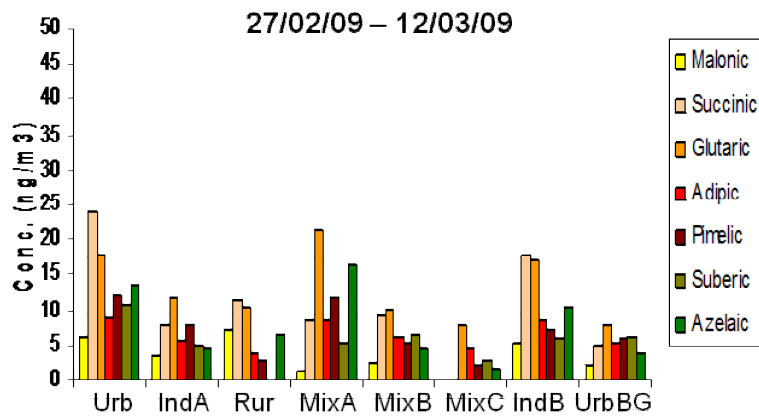
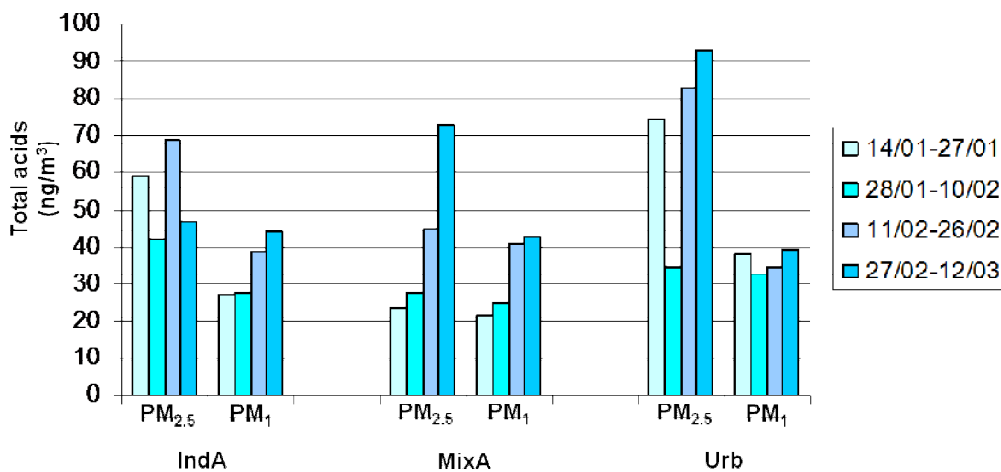


Fig. 34-4: Concentrazioni degli acidi dicarbossilici lineari dal C<sub>3</sub> al C<sub>9</sub> nel periodo dal 27/02/09 al 12/03/09.

Nei campioni provenienti dai siti Ind A e Mix A, gli acidi dicarbossilici si concentrano sul taglio più fine del particolato,  $PM_{1}$ , mentre nel sito urbano, Urb, si può osservare una presenza quasi doppia degli analiti nel  $PM_{2.5}$  rispetto a quella nel  $PM_{1}$  (Fig. 35).



**Fig. 35:** Concentrazione totale degli acidi dicarbossilici nel  $PM_{2.5}$  e nel  $PM_{1}$ .

La stessa distribuzione osservata per gli acidi carbossilici si può ritrovare nella concentrazione degli zuccheri, in cui il ruolo principale appartiene al levoglucosano. Ciò vale tra i vari siti, in cui la presenza maggiore degli analiti è individuabile in Urb (Fig. 36), che nel confronto tra  $PM_{2.5}$  e  $PM_{1}$  (Fig. 37). Tutto questo permette di supporre che, non solo Urb sia il sito con la maggiore presenza di sorgenti primarie in inverno ma, anche, che essa siano, almeno parzialmente, di natura differente rispetto a quelle presenti negli altri siti monitorati. Anche in questo caso, ulteriori conferme potrebbero arrivare integrando i dati con quelli relativi alla componente polare, in cui sono presenti ulteriori indicatori sull'origine del PM, come PAH o alcani.

Numerosi saccaridi sono considerati indicatori di sorgenti biogeniche, arabinosio e micoso, ad esempio, dovrebbero derivare dalle spore dei funghi: esiste, infatti, una buona correlazione tra le loro concentrazioni, il che avvalorata l'ipotesi di una stessa origine (Fig. 38). Glucosio, mannosio, galattosio e maltosio possono essere originati da microorganismi, piante e animali ed essere quindi correlati con altri indicatori di

sorgenti biogeniche, come l'acido azelaico, con buoni risultati (Fig. 39). Tutto questo può dare importanti indicazioni sull'apporto delle sorgenti biogeniche alla quantità e composizione del particolato atmosferico.

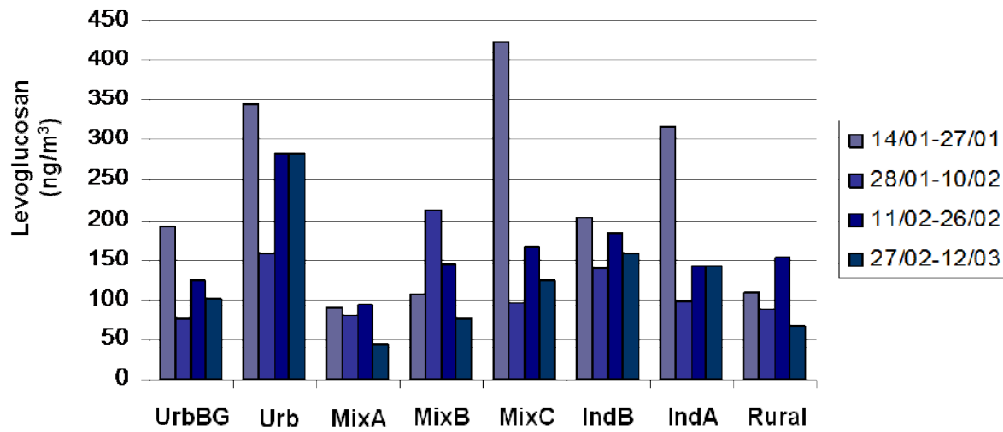


Fig. 36: Distribuzione della concentrazione totale degli zuccheri nel periodo invernale.

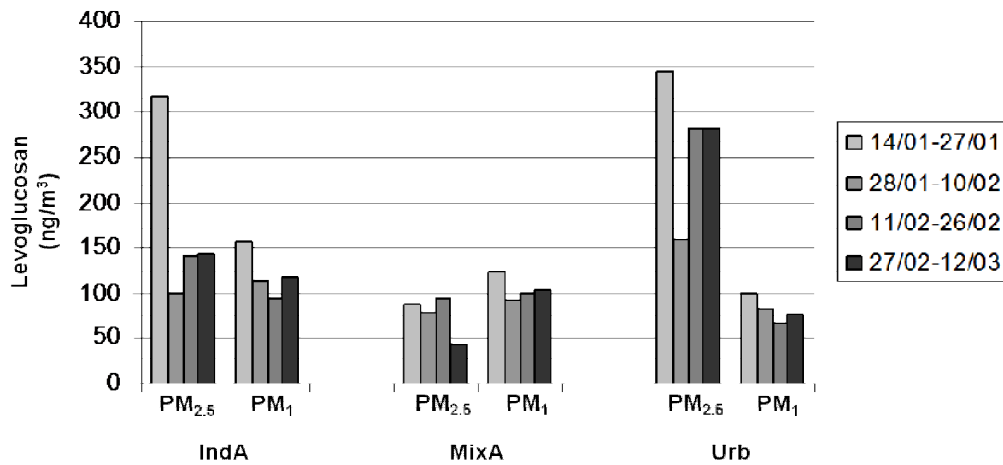


Fig. 37: Concentrazione totale degli zuccheri nel PM<sub>2.5</sub> e nel PM<sub>1</sub>.

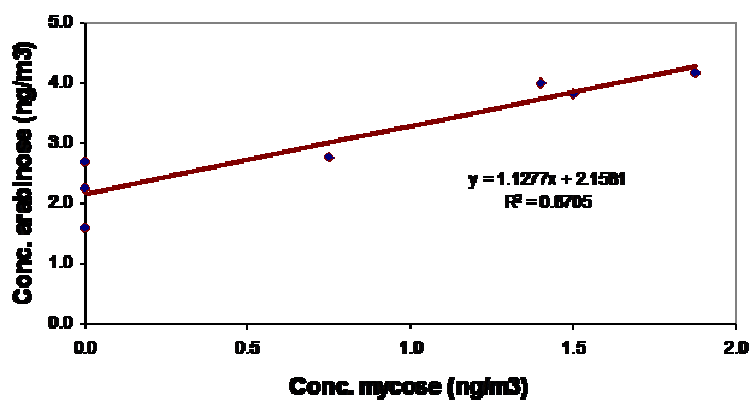


Fig. 38: Correlazione tra le concentrazioni di arabinosio e micoso.

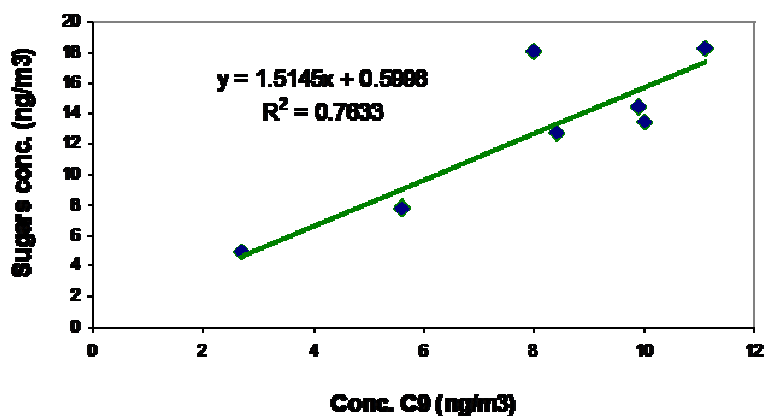


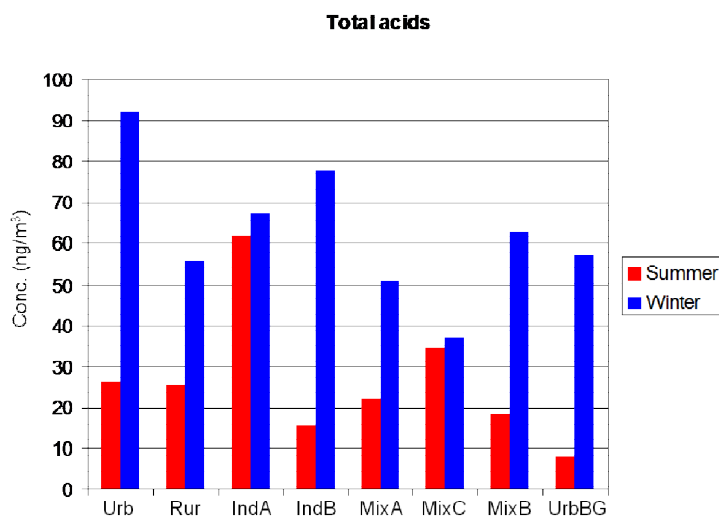
Fig. 39: Correlazione tra la concentrazione dell'acido azelaico, attribuito a sorgenti biogeniche, e la somma delle concentrazioni di zuccheri che si considera derivino da piante (glucosio, mannosio, galattosio e maltosio) nel periodo freddo.

### 5.3 Studio delle sorgenti e del loro contributo: confronto estate-inverno

La quantificazione degli analiti studiati fornisce importanti informazioni di carattere ambientale, in particolare sulle sorgenti del PM e sui processi secondari in atmosfera che esso subisce: queste informazioni possono essere evidenziate dal confronto tra i risultati estivi ed invernali.

#### 5.3.1 Concentrazione totale degli acidi dicarbossilici

La concentrazione totale degli acidi dicarbossilici, per i diversi siti di raccolta, è, circa, tre volte maggiore in inverno (concentrazione media estiva:  $23\text{ng/m}^3$ ; concentrazione media invernale:  $65\text{ng/m}^3$ ) (Fig. 40). Questo può essere legato sia ad effetti meteorologici, che in inverno riducono il ricambio e il mescolamento delle masse d'aria, che all'aumento delle sorgenti antropogeniche presenti. In due siti, Ind A e Mix C, tale differenza è minore ma dal confronto con gli altri sembrerebbe dovuto più ad un'alta concentrazioni di acidi nel periodo estivo, piuttosto che una presenza particolarmente bassa in inverno.



*Fig. 40: Confronto tra la concentrazione totale degli acidi dicarbossilici in estate ed in inverno nei vari siti in cui è stato eseguito il campionamento.*

### 5.3.2 Distribuzione media dei singoli acidi

La distribuzione della media dei singoli acidi dicarbossilici mostra come l'aumento della concentrazione totale di queste specie sia essenzialmente dovuto al sensibile incremento che hanno nel periodo invernali i composti correlati ad attività antropiche, come gli acidi da C<sub>4</sub> a C<sub>6</sub> e l'acido ftalico (Fig. 41).

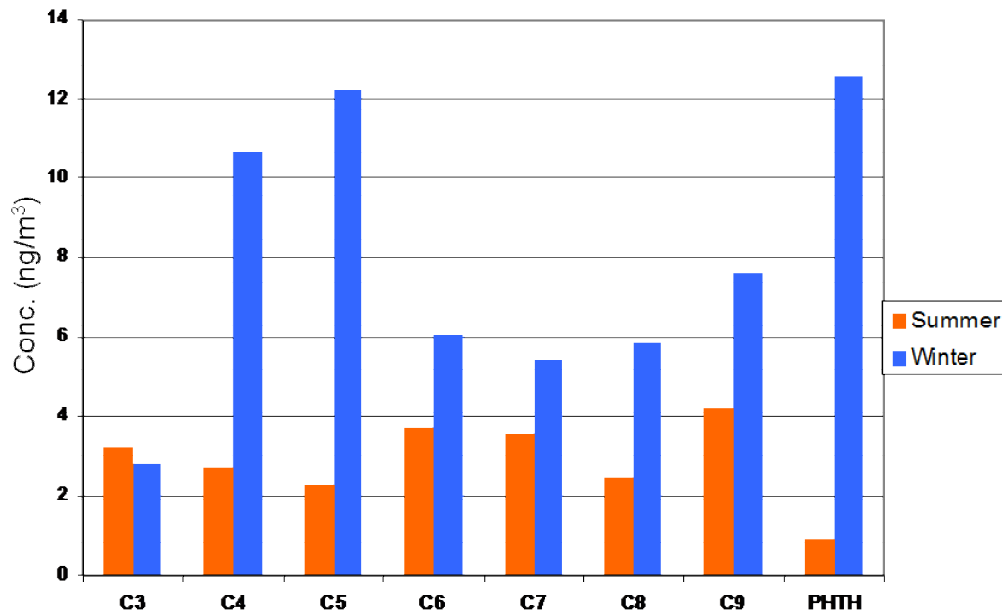
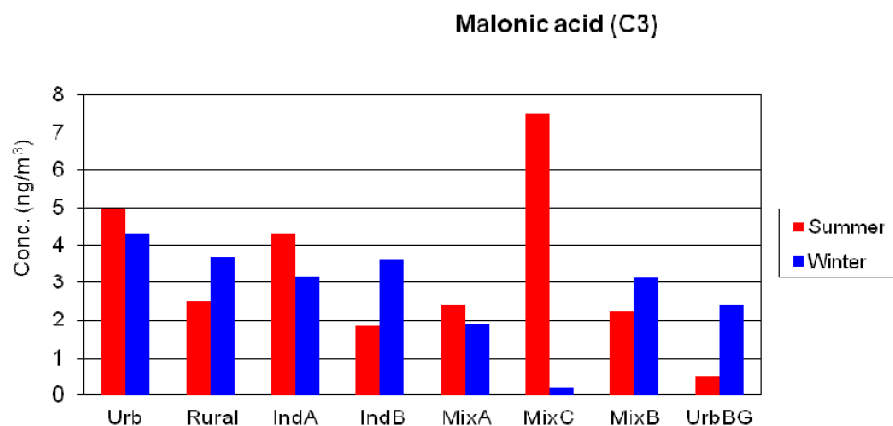


Fig. 41: Confronto tra la concentrazione media dei singoli acidi dicarbossilici in estate ed in inverno.

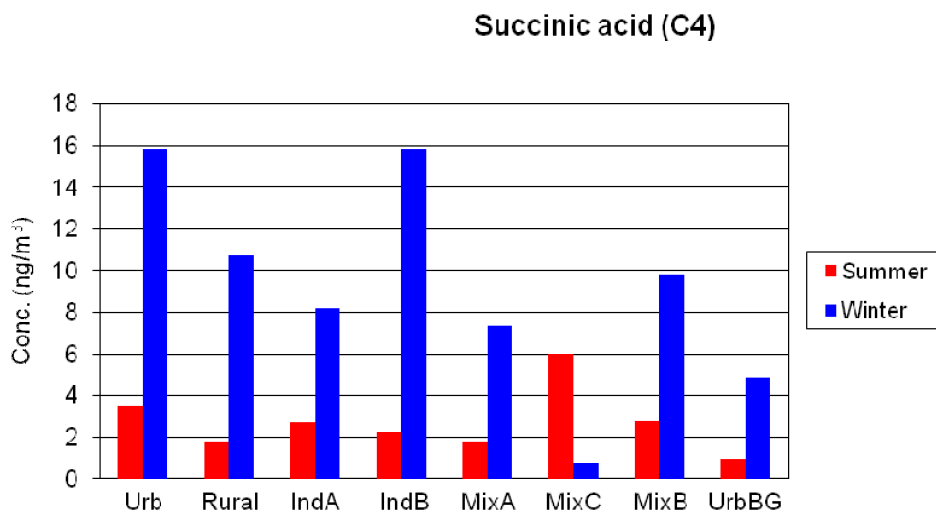
### 5.3.3 Acido malonico e acido succinico

Gli acidi malonico e succinico sono prodotti di ossidazione di precursori derivanti dai combustibili fossili e, in particolare il C<sub>4</sub> è un precursore del C<sub>3</sub>. Osservando, perciò, l'aumento di concentrazione totale del succinico in inverno si può avere un'indicazione dell'incremento dell'effetto del traffico veicolare sul PM. La variazione della quantità di acido malonico è più contenuta, probabilmente, perché l'intensificarsi delle sorgenti è accompagnato da una notevole diminuzione di

irraggiamento solare nel periodo freddo che sfavorisce la degradazione di C<sub>4</sub> in C<sub>3</sub> (Fig. 42, Fig. 43 e Fig. 44). La correlazione esistente tra la concentrazione di acido malonico e acido succinico è, infatti, molto più forte in estate, quando l'irraggiamento solare è più intenso (Fig. 45).



*Fig. 42: Concentrazione media dell'acido malonico nei diversi siti dei due periodi.*



*Fig. 43: Concentrazione media dell'acido succinico nei diversi siti dei due periodi.*



### C3/C4

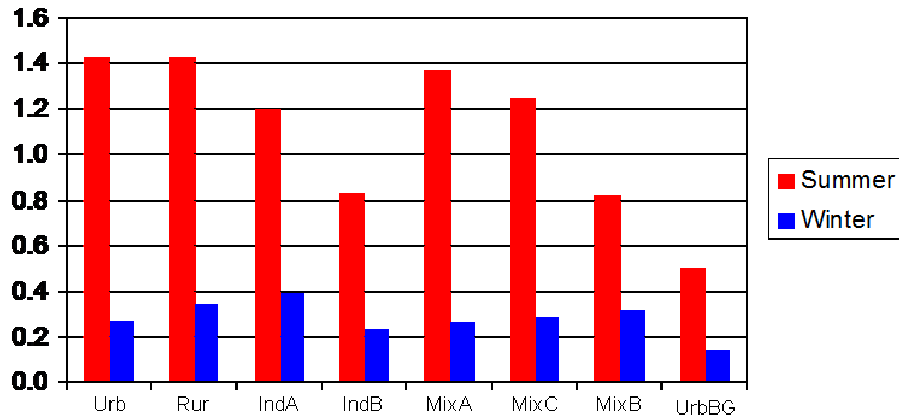


Fig. 44: Rapporto tra  $C_3$  e  $C_4$  per i vari siti, nel periodo estivo ed invernale.

### C4 vs C3

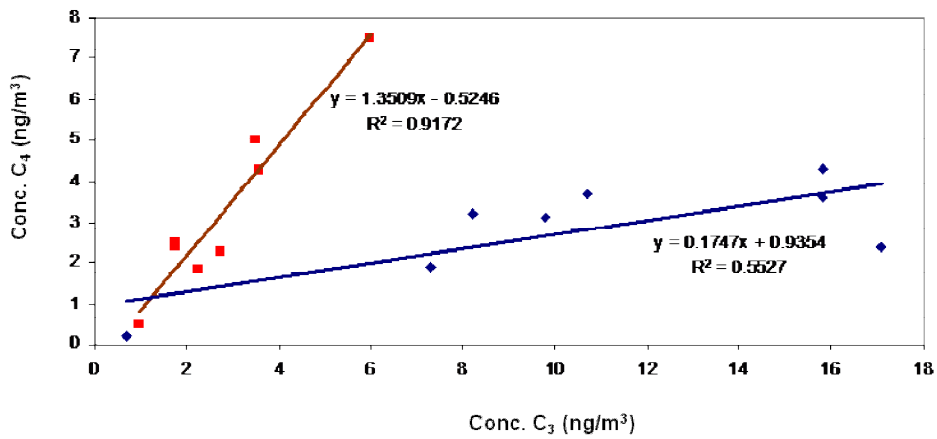


Fig. 45: Correlazione tra la concentrazione totale dell'acido malonico e dell'acido succinico: se la esiste dà indicazione di un'origine comune delle sostanze.

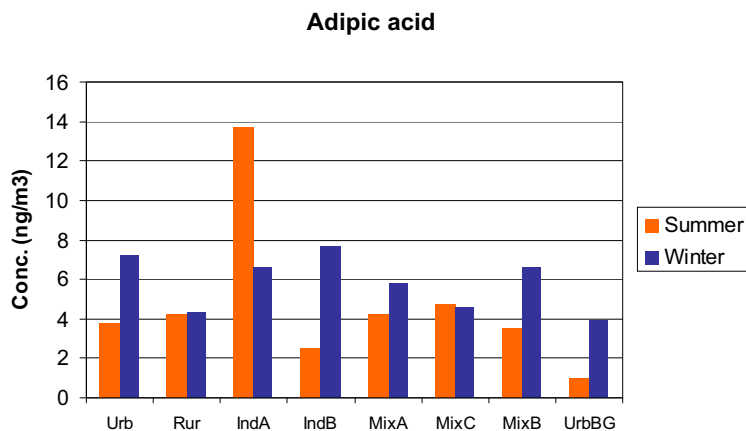
Il rapporto  $C_3/C_4$  può essere utilizzato come misura del livello dallo stato di ossidazione del materiale organico presente nel PM: un rapporto basso, tra 0.25 e 0.50, è indicativo della combustione incompleta dei carburanti fossili, in quanto

l'acido malonico è termicamente meno stabile del succinico, e suggerisce la presenza di una forte incidenza delle sorgenti primarie, mentre un valore più alto è conseguenza di una maggiore degradazione fotochimica in atmosfera che porta alla formazione dell'acido malonico come prodotto di ossidazione [52,60].

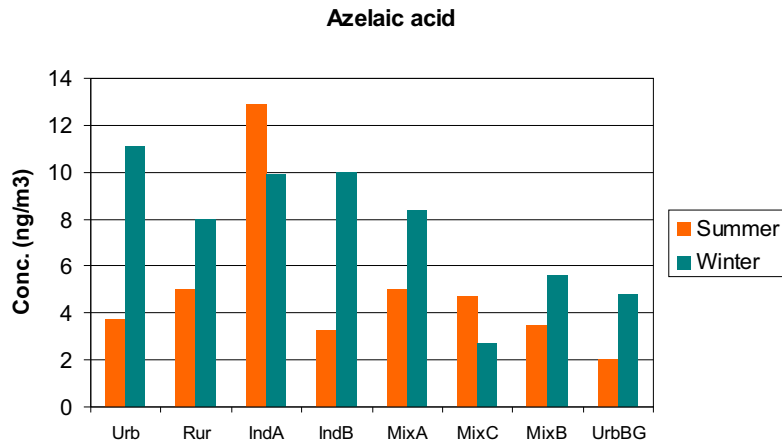
I dati ottenuti durante le due campagne mostrano un rapporto alto per quasi tutti i siti in estate, nel periodo di massimo irraggiamento, e un rapporto sempre inferiore a 0.50 in inverno quando, evidentemente, le sorgenti primarie acquistano maggiore importanza (Fig. 44). I dati estivi mostrano, infatti, una correlazione notevolmente maggiore tra le concentrazioni dell'acido malonico e succinico, conseguenza del gran numero di reazioni foto-indotte che avvengono nel periodo caldo (Fig. 45).

### 5.3.4 Acido adipico e acido azelaico

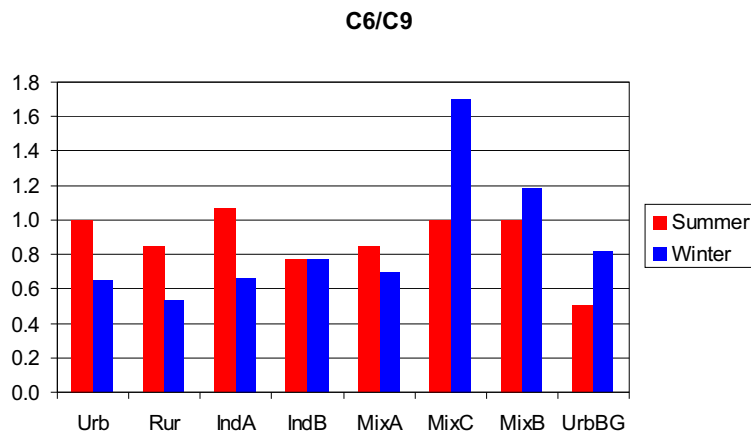
Gli acidi adipico è un prodotto di ossidazione in atmosfera delle cicloolefine, cicloesene in particolare, quindi derivante da precursori di origine antropogenica. L'acido azelaico, al contrario, deriva dalla degradazione di acidi grassi di origine biogenica [52,60]. Il rapporto C6/C9 potrebbe essere usato come indicatore dell'apporto dato all'aerosol da sorgenti antropogeniche piuttosto che biogeniche (Fig. 46, Fig. 47 e Fig. 48).



**Fig. 46:** Concentrazione media nei siti campionati, in estate ed in inverno, dell'acido adipico ( $C_6$ ).



**Fig. 47:** Concentrazione media nei siti campionati, in estate ed in inverno, dell'acido azelaico ( $C_9$ ).



**Fig. 48:** Rapporto  $C_6/C_9$  nei periodi estivo ed invernale, per i siti di campionamento studiati.

Per la maggior parte dei siti considerati il rapporto è maggiore in estate in quanto l'apporto dato dai processi ossidativi di origine fotochimica è il più rilevante anche in presenza di sorgenti antropogeniche primarie (Tab. 19).

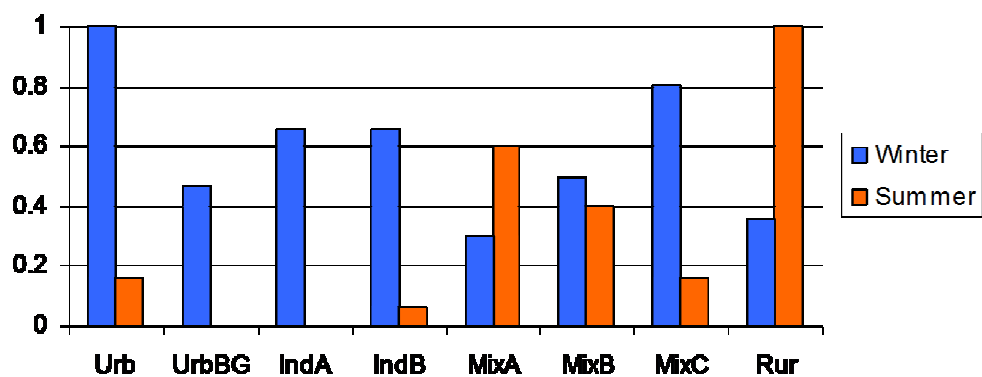
**Tab. 19:** Confronto tra il valor medio trovato nello studio eseguito e quello calcolato in alcuni lavori presenti in letteratura

	$C_6/C_9$
<b>Presente studio</b>	0.9
<b>Hong Kong [105]</b>	0.9
<b>Tokyo [107]</b>	0.7

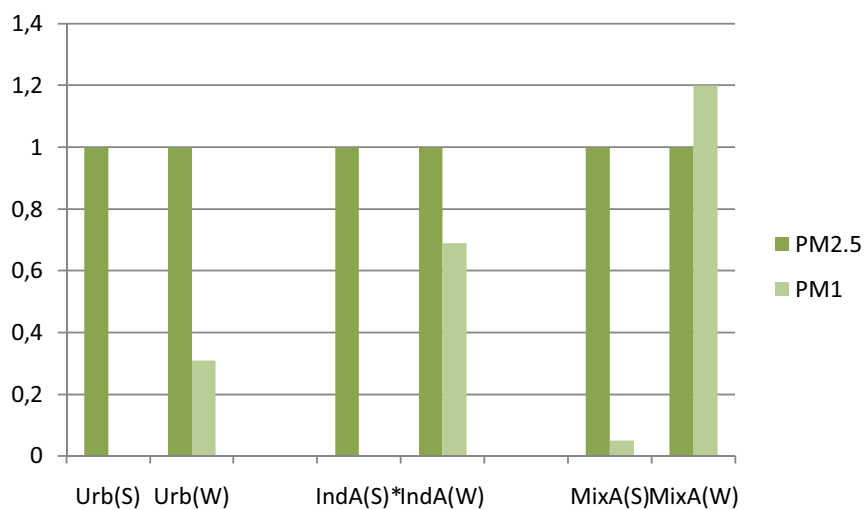
### 5.3.5 Levoglucosano

Il levoglucosano è noto come *marker* del *biomass burning*, sia che esso sia prodotto dalla combustione incontrollata della vegetazione che per il riscaldamento delle abitazioni. L'andamento della concentrazione media per i diversi siti mostra evidenti variazioni stagionali. I siti prevalentemente urbani mostrano concentrazioni notevolmente maggiori di levoglucosano in inverno, quando diventa rilevante il contributo dato dal riscaldamento civile. Al contrario, i siti in cui la probabile attività agricola estiva aveva prodotto alte concentrazioni di levoglucosano nel periodo caldo, in inverno corrispondono ai valori minimi (Fig. 49). La diversa origine del levoglucosano nel periodo invernale ed estivo si può verificare anche dalla frazione in cui esso si accumula. Confrontando la quantità di analita nel  $PM_{2.5}$  e nel  $PM_1$  si nota come in estate esso si concentra quasi esclusivamente nel particolato fine ( $PM_{2.5}$ ) mentre in inverno se ne trova una parte rilevante sul particolato ultrafine ( $PM_1$ ) (Fig. 50). Ampliando la ricerca ad altri zuccheri, disaccaridi o trisaccaridi, o correlando i dati con misure su metalli, come il potassio, si potrebbero ottenere altre indicazioni sulla natura del *biomass burning* che ha portato alla formazione del levoglucosano.

### Levoglucoosane



*Fig. 49: Concentrazione di levoglucosano nei vari siti, normalizzata rispetto a quella maggiore di ogni periodo; il valore estivo di levoglucosano in Ind A non è stato considerato.*



*Fig. 50: Confronto tra la quantità di levoglucosano nel particolato fine ( $PM_{2.5}$ ) ed ultrafine ( $PM_1$ ) nel periodo invernale ed estivo. Ogni valore è normalizzato rispetto alla concentrazione nel  $PM_{2.5}$ .*



## 6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Lo studio di campioni ambientali di particolato atmosferico è reso complesso dal gran numero di sostanze, sia organiche che inorganiche, che li compongono e dall'insieme di fenomeni atmosferici, sia di trasporto che di trasformazione chimica, a cui sono soggetti. Per ottenere indicazioni utili sulle sorgenti primarie che generano il PM e sui processi di reazione secondari, è necessario focalizzare le analisi sull'identificazione e la quantificazione di specifiche sostanze caratteristiche di tali elementi (*marker*).

Risulta importante, sia per tempo impiegato che per risorse utilizzate, ottenere il maggior numero di informazioni possibile dall'analisi dei campioni atmosferici: sono da ricercare tecniche multiresiduo in grado di fornire dati su un'ampia gamma di sostanze adatte a caratterizzare sia la natura antropogenica o biogenica delle sorgenti presenti che lo stato di ossidazione secondaria del particolato.

Il lavoro svolto ha portato a sviluppare un metodo di analisi GC-MS della frazione organica idrosolubile (WSOC) dei campioni di particolato atmosferico, fine ( $PM_{2.5}$ ) e ultrafine ( $PM_1$ ), per riconoscere e quantificare circa 25 sostanze tra acidi carbossilici e saccaridi. L'applicazione delle tecniche gas cromatografiche a questi analiti richiedono un processo preliminare di derivatizzazione: i più diffusi, l'esterificazione e la silylazione, sono stati studiati e comparati per verificare quale avesse maggiore sensibilità e riproducibilità, oltre a velocità e semplicità di utilizzo. La silylazione tramite BSTFA è risultata la tecnica con i migliori risultati. Al fine di ampliare la

gamma di sostanze di interesse ambientale a cui essa potesse essere applicata si è proceduto ad studio delle condizioni di derivatizzazione tramite un approccio di disegno sperimentale (DOE) con un disegno centrale composito (CCD).

Il metodo così messo a punto ha mostrato una ottima linearità di risposta ( $R^2 > 0.99$ ) e limiti di rilevabilità perfettamente compatibili con l'analisi di campioni ambientali ( $X_{LOD}$  compresi tra  $0.7 \text{ ng/m}^3$  e  $3 \text{ ng/m}^3$ , sempre supponendo campionamenti di  $55 \text{ m}^3$  di aria cioè eseguiti con impattori a bassa volume per 24h) per tutti i 22 composti considerati, compresi tra acidi carbossilici a basso peso molecolare (LMW: Low Molecular Weight) e zuccheri.

La tecnica è stata, quindi, applicata a campioni di PM, fine e ultrafine, relativi a 8 siti di raccolta e due campagne di campionamento, una invernale ed una estiva, di circa 60 giorni ciascuna, all'interno del Progetto Monitor, sviluppato dall'ARPA-ER. I dati ottenuti hanno permesso di ricavare utili informazioni sulle sorgenti presenti nelle zone di campionamento tramite la quantificazione di *marker* estremamente specifici come il levoglucosano che è un noto indicatore di processi di *biomass burning*, oltre che sullo stato di ossidazione del particolato per mezzo di rapporti diagnostici come il rapporto tra la concentrazione dell'acido malonico e dell'acido succinico ( $C_3/C_4$ ) il cui valore dipende dall'entità dei processi fotochimici che avvengono in atmosfera.

In futuro il numero di sostanze a cui applicare questa tecnica potrà essere ampliato verificando, sempre sfruttando un approccio di disegno sperimentale (DOE), le variazioni da applicare alle condizioni operative. Inoltre si potrebbero migliorare ulteriormente i limiti di rilevabilità e la riproducibilità del metodo ottimizzando la fase di estrazione con solvente degli analiti dal filtro ed evaporazione della soluzione prima dell'analisi.

Durante un periodo trascorso a Monaco di Baviera (Germania), presso i laboratori dell'Helmholtz Zentrum, grazie alla collaborazione esistente con il gruppo di ricerca del Prof. Ralf Zimmermann, è stato possibile utilizzare una innovativa tecnica di derivatizzazione *in situ* ed estrazione termica diretta degli analiti dal filtro per l'analisi GC-MS delle sostanze, polari ed apolari, presenti nei campioni ambientali di PM (IDTD-GC-TOFMS). Questa tecnica, rispetto a quella più diffusa di estrazione con solvente (SE-GC-MS) e derivatizzazione in soluzione, mostra notevoli vantaggi in termini di tempo impiegato nel trattamento del campione e per l'ampia gamma di



composti, sia polari che apolari, che possono essere identificati e quantificati nell'arco di un'unica analisi (più di 100).

Risulterebbe interessante poter approfondire la resa del processo di derivatizzazione *in situ* e verificare i possibili margini di miglioramento della tecnica DTD-GC-MS che mostra nella enorme complessità del segnale GC-MS un fattore molto delicato per procedere all'analisi delle specie presenti sul PM con la massima sensibilità.



## 7. DATI SPERIMENTALI

### 7.1 Analisi di campioni di PM<sub>2,5</sub> eseguita con IDTD-GC-TOFMS

Risultati delle analisi ottenute con IDTD-GC-TOFMS su campioni di PM<sub>2,5</sub> raccolti in una zona urbana (Urban) di Bologna, Italia, ed in una zona rurale della stessa provincia (Rural) in un periodo compreso tra il 14/01/09 e il 10/03/09 (tutti i dati si intendono espressi con un'incertezza del 15%).

#### 7.1.1 Idrocarburi Policiclici Aromatici

Sigla	Composto
PHE	Fenantrene
ANT	Antracene
PYR	Pirene
FLU	Fluorantene
BAA	Benzo[a]antracene
CRY	Crisene
BBKF	Benzo[b]fluorantene
	Benzo[k]fluorantene
BEP	Benzo[e]pirene
BAP	Benzo[a]pirene
PER	Perilene
DAH	Dibenzo(a,h)antracene
IND	Indeno(1,2,3-cd)pirene
BGH	Benzo[ghi]perilene
COR	Coronene

PAH	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01/09	18-19/01/09	20-21/01/09	22-23/01/09	24-25/01/09	26-27/01/09	01-02/02/09
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
PHE	0,49	0,74	0,3	0,34	0,28	0,27	0,55
ANT	0,03	0,08	0,03	0,05	0,03	0,03	0,06
PYR	0,88	1,02	0,68	0,72	0,47	0,39	0,82
FLU	0,47	0,48	0,37	0,41	0,28	0,24	0,43
BAA	0,45	0,47	0,3	0,38	0,22	0,13	0,28
CRY	1,18	1,59	0,87	0,98	0,67	0,36	0,71
BBKF	1,91	2,41	1,23	1,3	0,97	0,64	1,27
BEP	0,58	0,69	0,37	0,4	0,29	0,2	0,36
BAP	0,71	0,65	0,41	0,49	0,32	0,2	0,42
PER	0,08	0,08	0,04	0,07	0,03	0,03	0,05
DAH	0,09	0,08	0,05	0,03	0,04	0,02	0,06
IND	0,91	1,05	0,57	0,57	0,41	0,28	0,57
BGH	0,71	0,75	0,44	0,47	0,34	0,24	0,38
COR	0,78	0,68	0,59	0,66	0,64	0,59	1,03

PAH	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02/09	07-08/02/09	09-10/02/09	11-12/02/09	13-14/02/09	15-16/02/09	17-18/02/09
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
PHE	0,46	0,14	0,57	0,47	0,44	0,45	0,88
ANT	0,05	0,01	0,06	0,08	0,06	0,09	0,16
PYR	0,46	0,17	0,54	0,68	0,94	0,9	1,6
FLU	0,24	0,13	0,36	0,39	0,51	0,48	0,86
BAA	0,15	0,06	0,34	0,29	0,25	0,26	0,48
CRY	0,38	0,12	0,83	0,75	0,67	0,88	1,37
BBKF	0,48	0,3	1,39	0,99	0,83	0,91	1,69
BEP	0,17	0,09	0,41	0,3	0,25	0,27	0,52
BAP	0,19	0,09	0,59	0,43	0,35	0,37	0,62
PER	0,02	0,01	0,08	0,05	0,02	0,04	0,07
DAH	0,02	0	0,03	0,03	0,02	0,02	0,06
IND	0,18	0,1	0,58	0,43	0,34	0,37	0,8
BGH	0,17	0,09	0,53	0,38	0,32	0,31	0,62
COR	0,62	0,93	1,26	0,73	0,95	1,15	2

PAH	Data di campionamento ( <b>Urban</b> )				
	21-22/01/09	23-24/01/09	03-04/02/09	05-06/03/09	09-10/03/09
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
PHE	0,83	0,4	0,49	0,86	0,62
ANT	0,24	0,06	0,05	0,08	0,05
PYR	1,26	0,83	0,63	0,59	0,67
FLU	0,65	0,5	0,37	0,32	0,34
BAA	0,38	0,34	0,23	0,16	0,08
CRY	1,2	1,03	0,74	0,47	0,36
BBKF	1,63	1,57	1,06	0,58	0,29
BEP	0,48	0,47	0,33	0,18	0,1
BAP	0,5	0,53	0,35	0,17	0,12
PER	0,07	0,07	0,05	0,02	0,02
DAH	0,03	0,04	0,08	0,09	0,05
IND	0,68	0,72	0,53	0,23	0,14
BGH	0,55	0,56	0,45	0,21	0,12
COR	1,15	1,14	1,08	1,39	1,15

PAH	Data di campionamento ( <b>Rural</b> )							
	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02	05-06/01	23-24/01	03-04/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
PHE	0,34	0,2	0,63	1,2	0,46	0,54	0,26	0,33
ANT	0,03	0,03	0,09	0,25	0,12	0,12	0,06	0,16
PYR	0,59	0,43	0,66	1,1	0,31	0,87	0,32	0,57
FLU	0,34	0,22	0,31	0,5	0,19	0,45	0,16	0,24
BAA	0,26	0,23	0,27	0,44	0,19	0,36	0,12	0,12
CRY	0,79	0,6	0,7	1,27	0,48	1,08	0,38	0,42
BBKF	1,34	1,13	1,49	2,31	1,19	2,21	0,81	0,55
BEP	0,39	0,36	0,42	0,62	0,38	0,63	0,22	0,14
BAP	0,43	0,41	0,37	0,68	0,41	0,66	0,2	0,17
PER	0,04	0,03	0,06	0,05	0,07	0,07	0,02	0,05
DAH	0,03	0,04	0,07	0,18	0,09	0,1	0,08	0,1
IND	0,61	0,52	0,72	0,86	0,59	0,88	0,33	0,33
BGH	0,45	0,35	0,39	0,61	0,44	0,62	0,22	0,19
COR	0,86	1,00	1,57	0,99	1,14	1,35	1,19	1,17

## 7.1.2 Derivati ossidati dei PAH

o-PAH	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
1,4-Naphtochinon	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
9H-Fluoren-9-one	<DL	<DL	0,1	0,09	0,03	<DL	<DL
Xanthon	0,11	0,2	0,1	0,14	0,05	0,09	0,12
9,10-Anthracenedione	0,66	1,11	0,49	0,69	0,36	0,38	0,68
1,8-Naphthalic anhydride	1,3	0,93	1,08	1,43	0,73	1,17	1,37
Cyclopenta[def]phenanthrenone	0,03	0,06	0,07	0,09	0,04	0,04	0,09
11H-Benzo[a]fluoren-11-one	1,07	1,37	0,65	0,72	0,34	0,37	0,61
Bezo[c]fluoren-11-one	0,24	0,28	<DL	0,15	0,07	0,07	0,15
Benzo[b]fluoren-11-one	0,66	0,77	0,34	0,42	0,2	0,2	0,41
7H-Benz[de]anthracen-7-one	<DL	0,52	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Benz[a]anthracene-7,12-dione	<DL	0,08	0,03	0,04	0,03	0,03	0,05
5,12-Naphthacenedione	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

o-PAH	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
1,4-Naphtochinon	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
9H-Fluoren-9-one	0,06	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Xanthon	<DL	0,05	0,16	0,22	<DL	0,32	0,36
9,10-Anthracenedione	0,35	0,23	0,54	0,9	0,97	1,29	1,95
1,8-Naphthalic anhydride	0,97	0,42	1,76	1,72	2,42	2,25	4,03
Cyclopenta[def]phenanthrenone	0,02	0,02	0,04	0,07	0,11	0,1	0,25
11H-Benzo[a]fluoren-11-one	0,31	0,14	0,62	0,61	0,49	0,69	<DL
Bezo[c]fluoren-11-one	0,06	0,02	0,14	0,12	<DL	<DL	<DL
Benzo[b]fluoren-11-one	0,14	0,08	0,38	0,26	0,29	0,31	0,54
7H-Benz[de]anthracen-7-one	<DL	<DL	0,3	0,24	0,19	0,2	0,34
Benz[a]anthracene-7,12-dione	<DL	0,02	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
5,12-Naphthacenedione	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

o-PAH	Data di campionamento ( <b>Urban</b> )				
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	05-06/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
1,4-Naphtochinon	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
9H-Fluoren-9-one	<DL	<DL	0,1	<DL	<DL
Xanthon	0,33	0,27	0,14	0,28	0,3
9,10-Anthracenedione	1,48	1,23	0,79	1,39	1,23
1,8-Naphthalic anhydride	2,06	2,7	0,96	1,26	0,95
Cyclopenta[def]phenanthrenone	0,28	0,13	0,09	0,15	0,17
11H-Benzo[a]fluoren-11-one	<DL	0,99	0,57	0,46	<DL
Bezo[c]fluoren-11-one	<DL	0,21	<DL	<DL	<DL
Benzo[b]fluoren-11-one	<DL	0,52	0,32	0,16	<DL
7H-Benz[de]anthracen-7-one	<DL	0,38	0,28	0,14	0,09
Benz[a]anthracene-7,12-dione	<DL	0,08	<DL	<DL	<DL
5,12-Naphthacenedione	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

o-PAH	Data di campionamento ( <b>Rural</b> )							
	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02	05-06/01	23-24/01	03-04/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
1,4-Naphtochinon	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
9H-Fluoren-9-one	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
Xanthon	<DL	0,07	<DL	0,16	<DL	<DL	<DL	<DL
9,10-Anthracenedione	0,49	0,48	0,61	0,9	0,51	1,12	0,32	0,9
1,8-Naphthalic anhydride	1,59	0,69	1,47	1,72	0,98	2,68	0,52	0,63
Cyclopenta[def]phenanthrenone	0,04	0,02	0	0,05	0,6	0,14	<DL	0,06
11H-Benzo[a]fluoren-11-one	0,55	0,54	0,57	1,3	0,27	1,07	0,44	0,28
Bezo[c]fluoren-11-one	<DL	0,1	<DL	0,21	0,11	0,28	0,06	<DL
Benzo[b]fluoren-11-one	0,37	0,3	0,38	0,6	0,27	0,73	0,27	<DL
7H-Benz[de]anthracen-7-one	0,31	0,34	0,34	0,53	0,33	0,53	0,2	<DL
Benz[a]anthracene-7,12-dione	<DL	<DL	0,06	<DL	<DL	0,08	0,1	<DL
5,12-Naphthacenedione	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

### 7.1.3 Opani

OPANI	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Ts	<DL	0,27	0,28	0,36	0,13	0,16	0,32
Tm	<DL	<DL	0,42	0,56	0,20	0,24	0,42
27b	<DL	<DL	<DL	0,14	<DL	<DL	<DL
29ab	3,61	1,44	1,62	1,76	0,83	1,09	0,97
29ba	0,08	<DL	0,10	<DL	<DL	0,01	0,06
30ab	2,84	1,44	1,17	1,50	0,65	0,60	0,61
30ba	0,12	<DL	0,06	0,05	0,02	<DL	0,05
31abS	1,22	0,35	0,89	0,71	0,34	0,47	0,38
31abR	1,01	0,41	0,53	0,55	0,18	0,26	0,18
32abS	<DL	<DL	<DL	0,37	0,21	<DL	0,10
32abR	<DL	<DL	<DL	<DL	0,13	<DL	<DL

OPANI	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Ts	0,13	0,08	0,27	0,39	0,22	0,24	0,39
Tm	0,18	0,13	0,25	0,36	0,25	0,25	0,67
27b	0,03	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
29ab	0,99	0,41	1,80	2,57	0,97	1,17	2,75
29ba	0,07	0,01	<DL	<DL	<DL	0,32	0,18
30ab	0,70	0,66	1,64	2,35	0,85	1,01	2,19
30ba	0,02	0,03	<DL	<DL	0,03	0,12	0,17
31abS	0,53	0,45	0,84	1,20	0,34	0,43	0,86
31abR	0,28	0,12	0,48	0,69	0,29	0,23	0,61
32abS	0,18	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
32abR	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL



OPANI	Data di campionamento ( <b>Urban</b> )				
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	05-06/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Ts	0,51	0,38	0,19	0,35	0,22
Tm	0,74	0,38	0,47	0,29	0,43
27b	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
29ab	2,61	2,18	2,13	1,60	0,98
29ba	<DL	0,14	0,10	0,08	0,07
30ab	2,72	1,68	1,46	1,42	1,26
30ba	0,17	0,14	0,11	0,20	0,15
31abS	1,46	0,75	0,61	0,60	<DL
31abR	0,20	0,60	0,50	0,34	<DL
32abS	<DL	0,38	0,44	0,31	<DL
32abR	<DL	0,09	0,33	0,16	<DL

OPANI	Data di campionamento ( <b>Rural</b> )							
	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02	05-06/01	23-24/01	03-04/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Ts	<DL	0,03	0,13	<DL	0,04	0,29	0,14	0,06
Tm	0,18	0,09	0,07	<DL	0,04	0,25	<DL	<DL
27b	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
29ab	0,71	0,47	1,27	0,99	0,91	1,10	0,66	0,34
29ba	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	0,01	<DL
30ab	0,85	1,21	0,98	1,53	1,02	1,84	1,09	0,09
30ba	0,06	0,02	0,15	<DL	0,02	0,03	0,03	0,03
31abS	<DL	0,04	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
31abR	<DL	0,07	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
32abS	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
32abR	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

### 7.1.4 Alcani lineari

ALCANI	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>18</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>19</sub>	0,45	<DL	0,33	0,41	0,45	<DL	0,002
C <sub>20</sub>	1,02	<DL	0,70	0,43	0,25	0,15	0,30
C <sub>21</sub>	0,71	1,01	0,75	0,73	0,55	0,01	0,69
C <sub>22</sub>	5,26	3,10	3,05	2,84	2,04	1,54	2,34
C <sub>23</sub>	3,77	3,48	2,56	3,05	1,68	1,10	1,75
C <sub>24</sub>	4,54	3,81	3,49	3,33	2,04	1,61	2,10
C <sub>25</sub>	3,64	2,50	1,76	2,01	0,94	0,75	0,86
C <sub>26</sub>	<DL	1,67	1,46	1,27	0,81	<DL	<DL
C <sub>27</sub>	2,39	1,70	1,01	1,23	0,64	0,50	0,58
C <sub>28</sub>	<DL	<DL	1,72	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>29</sub>	3,48	<DL	1,45	1,28	0,79	0,62	0,80
C <sub>30</sub>	2,96	0,69	0,40	0,47	0,29	0,20	0,28
C <sub>31</sub>	2,72	1,48	0,72	0,80	0,49	0,40	0,41
C <sub>32</sub>	1,81	0,45	0,23	0,32	0,20	0,12	0,16
C <sub>33</sub>	1,52	0,81	0,27	0,37	0,21	0,16	0,17
C <sub>34</sub>	1,09	0,18	0,11	0,12	0,06	<DL	0,16
C <sub>35</sub>	0,64	0,26	0,13	0,12	0,08	<DL	<DL
C <sub>36</sub>	0,58	0,13	0,08	<DL	0,02	<DL	<DL

ALCANI	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>18</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>19</sub>	<DL	1,11	0,09	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>20</sub>	0,23	0,18	0,29	0,33	<DL	0,41	0,69
C <sub>21</sub>	0,24	0,43	0,55	0,71	0,66	0,87	1,57
C <sub>22</sub>	1,53	1,16	2,60	2,66	2,64	2,45	4,66
C <sub>23</sub>	1,15	0,35	2,52	2,13	2,26	1,93	4,56
C <sub>24</sub>	1,76	0,94	2,87	2,12	2,31	1,56	3,99
C <sub>25</sub>	0,88	0,29	2,59	1,36	1,11	1,35	3,44
C <sub>26</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	2,35
C <sub>27</sub>	0,59	0,27	1,93	1,12	0,93	1,09	2,83
C <sub>28</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	2,46
C <sub>29</sub>	0,77	0,40	2,70	1,57	1,56	1,83	3,37
C <sub>30</sub>	0,31	0,23	0,62	0,43	0,39	0,38	0,61
C <sub>31</sub>	0,39	0,18	1,34	0,89	0,79	0,93	1,71
C <sub>32</sub>	0,12	0,08	0,37	0,28	0,23	0,24	0,31
C <sub>33</sub>	0,20	0,10	0,45	0,33	0,30	0,37	0,71
C <sub>34</sub>	0,38	0,73	<DL	<DL	<DL	<DL	0,13
C <sub>35</sub>	<DL	<DL	<DL	0,11	0,17	0,16	0,26
C <sub>36</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL

ALCANI	Data di campionamento (Urban)				
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	05-06/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>18</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>19</sub>	<DL	<DL	0,15	0,24	<DL
C <sub>20</sub>	0,37	0,44	0,37	0,37	<DL
C <sub>21</sub>	1,14	1,01	0,59	0,56	2,08
C <sub>22</sub>	3,10	3,48	2,30	2,48	3,27
C <sub>23</sub>	3,43	3,48	2,20	1,67	1,70
C <sub>24</sub>	3,31	3,63	2,94	2,48	1,72
C <sub>25</sub>	4,29	2,90	2,44	0,98	0,71
C <sub>26</sub>	<DL	1,80	1,75	<DL	<DL
C <sub>27</sub>	4,33	2,73	1,97	0,64	0,61
C <sub>28</sub>	<DL	1,26	1,07	<DL	<DL
C <sub>29</sub>	6,13	4,55	2,98	<DL	1,03
C <sub>30</sub>	1,24	0,71	0,55	0,29	0,28
C <sub>31</sub>	2,79	2,30	1,61	0,47	0,44
C <sub>32</sub>	0,47	0,48	0,40	0,15	0,17
C <sub>33</sub>	0,98	0,79	0,69	0,23	0,17
C <sub>34</sub>	0,43	0,21	0,15	0,07	0,10
C <sub>35</sub>	<DL	0,29	0,30	<DL	<DL
C <sub>36</sub>	<DL	0,16	0,08	0,06	0,11

ALCANI	Data di campionamento (Rural)							
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02	14-15/01
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>18</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>19</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>20</sub>	0,27	<DL	<DL	<DL	<DL	0,22	<DL	<DL
C <sub>21</sub>	0,46	0,40	0,42	0,70	0,28	0,98	0,34	1,04
C <sub>22</sub>	2,49	2,54	3,97	3,76	2,55	4,70	2,62	3,95
C <sub>23</sub>	2,09	1,37	1,78	2,05	0,94	4,27	1,45	1,58
C <sub>24</sub>	2,41	2,19	2,72	2,58	1,87	4,99	2,44	2,16
C <sub>25</sub>	1,25	0,80	1,06	1,07	0,97	3,74	1,60	0,83
C <sub>26</sub>	1,67	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>27</sub>	0,82	0,59	0,87	0,86	0,82	4,01	1,48	0,87
C <sub>28</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL
C <sub>29</sub>	1,41	<DL	<DL	<DL	<DL	6,84	2,94	1,38
C <sub>30</sub>	0,38	0,46	0,57	0,79	0,50	1,23	0,66	0,68
C <sub>31</sub>	0,58	0,36	0,42	0,48	0,51	2,93	1,17	0,60
C <sub>32</sub>	0,27	0,19	0,20	0,24	0,20	0,68	0,28	0,23
C <sub>33</sub>	0,23	0,15	0,22	0,28	0,23	0,93	0,51	0,35
C <sub>34</sub>	0,10	0,07	<DL	0,12	0,13	0,29	0,18	0,15
C <sub>35</sub>	<DL	<DL	<DL	<DL	<DL	0,50	<DL	<DL
C <sub>36</sub>	<DL	0,06	<DL	<DL	<DL	0,16	<DL	0,09

### 7.1.5 Saccaridi

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Galactosan	10,0	42,6	7,9	5,6	3,7	3,8	5,0
Mannosan	31,2	98,3	28,6	20,1	14,3	21,9	37,1
Levoglucozan	514	421	306	499	282	393	596
Glucose	6,32	<DL	4,19	5,22	4,40	14,9	35,5

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Galactosan	6,2	2,9	9,6	3,9	2,2	4,8	6,1
Mannosan	36,6	18,1	30,8	15,0	8,0	12,6	17,1
Levoglucozan	741	276	449	340	326	335	341
Glucose	185	33,8	9,29	12,1	8,22	7,59	7,24

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)				
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	05-06/03	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Galactosan	13,4	23,4	18,0	3,1	1,0
Mannosan	29,8	58,7	43,5	8,3	3,8
Levoglucozan	607	338	350	148	85
Glucose	9,09	8,78	7,65	4,29	1,51

ZUCCHERI	Data di campionamento (Rural)							
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02	14-15/01
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Galactosan	5,7	5,9	4,3	5,6	4,7	23,9	12,7	1,6
Mannosan	21,6	19,9	18,3	25,4	12,0	49,2	29,9	4,7
Levoglucozan	382	396	300	335	263	369	307	140
Glucose	7,74	4,3	4,38	5,45	6,81	7,56	5,96	1,89

## 7.2 Analisi di campioni di PM<sub>2.5</sub> eseguita con SE-GC-MS e derivatizzazione con BSTFA

Risultati ottenuti con SE-GC-MS e derivatizzazione con BSTFA, e relativa incertezza, su campioni di PM<sub>2.5</sub> raccolti in una zona urbana (Urban) di Bologna, Italia, in un periodo compreso tra il 14/01/09 e il 10/03/09.

### 7.2.1 Alcani lineari

ALCANI	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>20</sub>	7±1	3±1	4±1	4±1	2±1	2±1	4±1
C <sub>21</sub>	6±1	4±1	6±1	5±1	3±1	3±1	4±1
C <sub>22</sub>	10.6±0.9	5.3±0.9	8.2±0.9	10.3±0.9	4.7±0.9	3.6±0.9	7.2±0.9
C <sub>23</sub>	13±1	13±1	14±1	15±1	6±1	6±1	7±1
C <sub>25</sub>	19±1	17.8±0.9	21±1	19±1	7.2±0.9	8.0±0.9	7.3±0.9
C <sub>26</sub>	25±1	19±1	25±1	22±1	10±1	11±1	11±1
C <sub>27</sub>	21±1	22±1	24±1	19±1	7±1	8±1	11±1
C <sub>28</sub>	34±1	19±1	21±1	20±1	9±1	9±1	9±1
C <sub>29</sub>	18.5±0.7	20.6±0.8	15.7±0.7	13.6±0.7	13.3±0.7	12.7±0.7	9.9±0.7
C <sub>30</sub>	20±1	12±1	15±1	14±1	7±1	5±1	9±1
C <sub>31</sub>	11±1	10±1	13±1	9±1	5±1	5±1	5±1
C <sub>32</sub>	11.7±0.6	15.4±0.7	21±1	18.7±0.9	13.2±0.7	3.7±0.4	7.9±0.5

ALCANI	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>20</sub>	7±1	2±1	3±1	12±1	4±1	3±1	6±1
C <sub>21</sub>	4±1	2±1	4±1	7±1	3±1	3±1	5±1
C <sub>22</sub>	9.6±0.9	1.2±0.9	4.1±0.9	15.1±0.9	4.8±0.9	2.9±0.9	8.2±0.9
C <sub>23</sub>	7±1	3±1	7±1	8±1	5±1	6±1	10±1
C <sub>25</sub>	7.6±0.9	3.2±0.9	7.3±0.9	6.4±0.9	4.5±0.9	6.5±0.9	10.0±0.9
C <sub>26</sub>	20±1	5±1	7±1	32±1	11±1	7±1	14±1
C <sub>27</sub>	7±1	8±1	8±1	9±1	6±1	7±1	11±1
C <sub>28</sub>	19±1	4±1	5±1	21±1	7±1	5±1	10±1
C <sub>29</sub>	6.5±0.7	7.0±0.7	5.7±0.7	8.5±0.7	4.4±0.7	7.1±0.7	10.0±0.7
C <sub>30</sub>	12±1	4±1	4±1	16±1	6±1	4±1	8±1
C <sub>31</sub>	8±1	5±1	8±1	15±1	5±1	5±1	10±1
C <sub>32</sub>	15.4±0.7	5.6±0.4	8.0±0.5	24±1	7.1±0.5	13.6±0.7	9.5±0.5

ALCANI	Data di campionamento (Urban)			
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
C <sub>20</sub>	5±1	2±1	3±1	8±1
C <sub>21</sub>	4±1	2±1	2±1	6±1
C <sub>22</sub>	8.2±0.9	4.6±0.9	5.9±0.9	8.1±0.9
C <sub>23</sub>	7±1	5±1	3±1	6±1
C <sub>25</sub>	7.5±0.9	5.8±0.9	3.7±0.9	5.8±0.9
C <sub>26</sub>	17±1	8±1	10±1	12±1
C <sub>27</sub>	10±1	8±1	4±1	8±1
C <sub>28</sub>	12±1	7±1	9±1	9±1
C <sub>29</sub>	8.4±0.7	7.3±0.7	3.3±0.7	5.8±0.7
C <sub>30</sub>	9±1	7±1	7±1	9±1
C <sub>31</sub>	8±1	6±1	4±1	7±1
C <sub>32</sub>	11.0±0.6	5.5±0.4	6.0±0.5	7.0±0.5

## 7.2.2 Saccaridi

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)						
	14-15/01	18-19/01	20-21/01	22-23/01	24-25/01	26-27/01	01-02/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Levoglucozan	172±3	271±5	189±3	182±3	105±2	99±2	62±1
Glucose	4.4±0.8	6.2±0.8	4.9±0.8	4.6±0.8	2.9±0.8	2.9±0.8	2.5±0.8

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)						
	05-06/02	07-08/02	09-10/02	11-12/02	13-14/02	15-16/02	17-18/02
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Levoglucozan	99±1	41.7±0.9	148±3	78±1	43.0±0.9	92±2	137±3
Glucose	3.1±0.8	1.8±0.8	4.6±0.8	2.0±0.8	2.2±0.8	2.2±0.8	3.2±0.8

ZUCCHERI	Data di campionamento (Urban)			
	21-22/01	23-24/01	03-04/02	09-10/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Levoglucozan	118±2	110±2	43.8±0.9	64±1
Glucose	3.2±0.8	3.6±0.8	1.6±0.8	2.0±0.8

### 7.3 Risultati relativi all'analisi di campioni di PM provenienti da una campagna di campionamento estiva (Giu-Lug '08)

Concentrazione di acidi carbossilici a basso peso molecolare e levoglucosano, espressi con la relativa incertezza, ricavati applicando la tecnica sviluppata di analisi GC-MS e derivatizzazione con BSTFA su campioni di PM<sub>2.5</sub> e PM<sub>1</sub> raccolti in 8 siti di campionamento durante un periodo di circa 60 giorni, dal 03/06/08 al 24/07/08, nel contesto del Progetto Monitor.

Ind A (PM <sub>2.5</sub> )	03-09/06	10-16/06	17-23/06	24-30/06	04-10/07	11-17/07	18-24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Malonic	2 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	12 ± 1	7 ± 1
Succinic	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	8 ± 1	9 ± 1
Glutaric	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	1 ± 2	11 ± 1	36 ± 1
Adipic	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	8 ± 1	1 ± 1	16 ± 1	63 ± 1
Pimelic	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	11 ± 1	1 ± 1	27 ± 1	32 ± 1
Suberic	n.d.	2 ± 1	2 ± 1	5 ± 1	1 ± 1	9 ± 1	29 ± 1
Azelaic	3 ± 2	4 ± 2	5 ± 1	12 ± 2	2 ± 2	14 ± 1	50 ± 1
Furoic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Nicotinic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Malic	<LOD	2 ± 2	2 ± 2	3 ± 2	1 ± 2	6 ± 2	<LOD
Maleic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Phthalic	<LOD	2 ± 3	2 ± 3	7 ± 2	1 ± 3	<LOD	<LOD
2-OH-benz.	2 ± 2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
3-OH-benz.	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2	2 ± 3	<LOD	<LOD	4 ± 3
4-OH-benz.	1 ± 1	1 ± 1	<LOD	2 ± 1	<LOD	<LOD	<LOD
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
Levoglucosane	1.7 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.2	2.0 ± 0.2	<LOD	>10	>10

Ind A (PM <sub>1</sub> )	03-14/06	15-28/06	29/06-10/07	11-24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Malonic	3 ± 1	<LOD	1 ± 1	2 ± 1
Succinic	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
Glutaric	2 ± 1	<LOD	1 ± 2	3 ± 2
Adipic	4 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	5 ± 1
Pimelic	2 ± 1	<LOD	1 ± 1	3 ± 1
Suberic	2 ± 1	<LOD	1 ± 1	3 ± 1
Azelaic	3 ± 2	<LOD	2 ± 1	3 ± 2
Furoic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Nicotinic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Malic	<LOD	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2
Maleic	2 ± 2	<LOD	<LOD	<LOD
Phthalic	1 ± 2	<LOD	<LOD	2 ± 3
2-OH-benz.	<LOD	2 ± 2	<LOD	<LOD
3-OH-benz.	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 2
4-OH-benz.	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 1
	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>	μg/m <sup>3</sup>
Levogluconane	<LOD	<LOD	<LOD	0.4 ± 0.2



Mix A (PM <sub>2.5</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/07	Mix A (PM <sub>1</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/07
	14/06	28/06	10/07	24/07		14/06	28/06	10/07	24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	16 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	<LOD	<b>Malonic</b>	<LOD	1 ± 1	1 ± 1	<LOD
<b>Succinic</b>	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	<b>Succinic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Glutaric</b>	4 ± 2	2 ± 1	4 ± 2	1 ± 1	<b>Glutaric</b>	1 ± 2	1 ± 2	2 ± 2	1 ± 1
<b>Adipic</b>	8 ± 1	5 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	<b>Adipic</b>	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	<LOD
<b>Pimelic</b>	2 ± 1	6 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	<b>Pimelic</b>	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1
<b>Suberic</b>	3 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	n.d.	<b>Suberic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Azelaic</b>	6 ± 2	9 ± 2	5 ± 2	<LOD	<b>Azelaic</b>	2 ± 2	2 ± 2	3 ± 2	2 ± 2
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	3 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	<LOD	<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Maleic</b>	<LOD	1 ± 2	1 ± 2	<LOD
<b>Phthalic</b>	2 ± 3	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Phthalic</b>	<LOD	1 ± 3	1 ± 3	<LOD
<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	2 ± 2	<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
<b>3-OH-benz.</b>	1 ± 2	<LOD	<LOD	<LOD	<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1 ± 1	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	1 ± 1	<LOD	<LOD	<LOD	<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1 ± 2	<LOD
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>		µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levoglucothane</b>	6.3±0.3	8.0±0.4	2.7±0.2	<LOD	<b>Levoglucothane</b>	<LOD	<LOD	1.0±0.2	<LOD

Mix B (PM <sub>2.5</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/06	Mix C (PM <sub>2.5</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/07
	14/06	28/06	10/07	24/07		14/06	28/06	10/07	24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	2 ± 1	<LOD	1 ± 1	6 ± 1	<b>Malonic</b>	5 ± 1	19 ± 1	3 ± 1	3 ± 2
<b>Succinic</b>	1 ± 1	1 ± 1	3 ± 1	6 ± 1	<b>Succinic</b>	4 ± 1	15 ± 1	1 ± 1	4 ± 1
<b>Glutaric</b>	1 ± 2	1 ± 1	1 ± 2	3 ± 2	<b>Glutaric</b>	2 ± 2	7 ± 2	3 ± 2	2 ± 2
<b>Adipic</b>	4 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	<b>Adipic</b>	5 ± 1	8 ± 1	2 ± 1	4 ± 1
<b>Pimelic</b>	1 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	<b>Pimelic</b>	2 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	2 ± 1
<b>Suberic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	4 ± 1	<b>Suberic</b>	2 ± 1	4 ± 1	6 ± 1	4 ± 1
<b>Azelaic</b>	2 ± 2	2 ± 2	4 ± 2	6 ± 2	<b>Azelaic</b>	3 ± 2	8 ± 2	4 ± 2	4 ± 2
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	2 ± 2	<LOD	2 ± 2	4 ± 2	<b>Malic</b>	4 ± 2	13 ± 2	1 ± 2	2 ± 2
<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Phthalic</b>	1 ± 3	<LOD	1 ± 3	2 ± 3	<b>Phthalic</b>	<LOD	4 ± 3	<LOD	<LOD
<b>2-OH-benz.</b>	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	<LOD	<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1 ± 2	<LOD	<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 2
<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1 ± 1	1 ± 1	<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 1
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>		µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levoglucozane</b>	9.1 ±0.4	<LOD	<LOD	2.9 ±0.2	<b>Levoglucozane</b>	0.9 ±0.2	2.4 ±0.2	1.5 ±0.2	<LOD

Ind B (PM <sub>2.5</sub> )	03/06 14/06	15/06 28/06	29/06 10/07	11/07 24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	3 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Succinic</b>	1 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Glutaric</b>	1 ± 2	2 ± 2	1 ± 2	1 ± 2
<b>Adipic</b>	2 ± 1	4 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
<b>Pimelic</b>	1 ± 1	5 ± 1	2 ± 2	2 ± 1
<b>Suberic</b>	1 ± 1	2 ± 2	1 ± 1	<LOD
<b>Azelaic</b>	5 ± 2	4 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	<LOD	2 ± 2	1 ± 2	<LOD
<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Phthalic</b>	<LOD	3 ± 3	1 ± 3	<LOD
<b>2-OH-benz.</b>	1 ± 2	1 ± 2	<LOD	2 ± 2
<b>3-OH-benz.</b>	1 ± 2	<LOD	<LOD	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	1 ± 1	1 ± 1	<LOD	1 ± 1
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levogluosane</b>	0.1 ± 0.2	<LOD	0.2 ± 0.2	0.7 ± 0.2

Rural (PM <sub>2.5</sub> )	03/06 14/06	15/06 28/06	29/06 10/07	11/07 24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	5 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	<LOD
<b>Succinic</b>	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
<b>Glutaric</b>	1 ± 2	1 ± 1	2 ± 1	7 ± 2
<b>Adipic</b>	5 ± 1	1 ± 1	4 ± 1	7 ± 1
<b>Pimelic</b>	3 ± 1	4 ± 1	6 ± 1	7 ± 1
<b>Suberic</b>	4 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	4 ± 1
<b>Azelaic</b>	3 ± 2	5 ± 2	3 ± 2	9 ± 1
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	3 ± 2
<b>Phthalic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levoglucoane</b>	5.0 ± 0.3	>10	1.1 ± 0.2	>10

Urb (PM <sub>2.5</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/07	Urb (PM <sub>1</sub> )	03/06	15/06	29/06	11/07
	14/06	28/06	10/07	24/07		14/06	28/06	10/07	24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	2 ± 1	16 ± 1	2 ± 1	<LOD	<b>Malonic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 1
<b>Succinic</b>	1 ± 1	10 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	<b>Succinic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Glutaric</b>	1 ± 2	5 ± 2	2 ± 2	<LOD	<b>Glutaric</b>	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2
<b>Adipic</b>	3 ± 1	8 ± 1	3 ± 1	1 ± 2	<b>Adipic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Pimelic</b>	2 ± 1	16 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	<b>Pimelic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Suberic</b>	2 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	<b>Suberic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Azelaic</b>	2 ± 2	7 ± 2	4 ± 2	2 ± 2	<b>Azelaic</b>	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Nicotinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	1 ± 2	10 ± 2	2 ± 2	<LOD	<b>Malic</b>	<LOD	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2
<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Phthalic</b>	1 ± 3	<LOD	1 ± 3	1 ± 3	<b>Phthalic</b>	1 ± 3	<LOD	<LOD	1 ± 3
<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	2 ± 2	2 ± 2	<LOD	<b>2-OH-benz.</b>	2 ± 2	<LOD	1 ± 2	2 ± 2
<b>3-OH-benz.</b>	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2	<LOD	<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	1 ± 2
<b>4-OH-benz.</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	<LOD	<b>4-OH-benz.</b>	1 ± 1	<LOD	<LOD	1 ± 1
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>		µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levoglucozane</b>	0.6±0.2	4.1±0.2	<LOD	<LOD	<b>Levoglucozane</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

UrbBG (PM <sub>2.5</sub> )	03/06 14/06	15/06 28/06	29/06 10/07	11/07 24/07
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	1 ± 1	<LOD.	1 ± 1
<b>Succinic</b>	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Glutaric</b>	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2
<b>Adipic</b>	2 ± 1	1 ± 1	<LOD	1 ± 1
<b>Pimelic</b>	<LOD	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
<b>Suberic</b>	1 ± 1	1 ± 1	<LOD	1 ± 1
<b>Azelaic</b>	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
<b>Furoic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Nicotinic</b>	<LOD	1 ± 2	1 ± 2	2 ± 2
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Phthalic</b>	1 ± 3	1 ± 3	1 ± 3	1 ± 3
<b>2-OH-benz.</b>	1 ± 2	1 ± 2	1 ± 2	2 ± 2
<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>	µg/m <sup>3</sup>
<b>Levoglucothane</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

## 7.4 Risultati relativi all'analisi di campioni di PM provenienti da una campagna di campionamento invernale (Gen-Mar '09)

Concentrazione di acidi carbossilici a basso peso molecolare e zuccheri, espressi con la relativa incertezza, ricavati applicando la tecnica sviluppata di analisi GC-MS e derivatizzazione con BSTFA su campioni di PM<sub>2.5</sub> e PM<sub>1</sub> raccolti in 8 siti di campionamento durante un periodo di circa 60 giorni, dal 14/01/09 al 12/03/09, nel contesto del Progetto Monitor.

### 7.4.1 Acidi carbossilici

Ind A (PM <sub>2.5</sub> )	14/01	22/01	29/01	05/02	12/02	19/02	26/02	06/03
	21/01	28/01	04/02	11/02	18/02	25/02	05/03	12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Malonic	1.6 ± 0.5	3.8 ± 0.5	2.2 ± 0.5	2.0 ± 0.5	1.6 ± 0.5	7.5 ± 0.5	4.4 ± 0.5	2.7 ± 0.5
Succinic	1.3 ± 0.3	0.8 ± 0.3	3.9 ± 0.3	12.7 ± 0.3	12.5 ± 0.3	10.3 ± 0.3	15.8 ± 0.3	<LOD
Glutaric	4.2 ± 0.5	16.3 ± 0.6	10.2 ± 0.5	9.0 ± 0.6	11.2 ± 0.5	22.9 ± 0.6	16.6 ± 0.6	6.9 ± 0.5
Adipic	6.1 ± 0.5	6.3 ± 0.5	5.6 ± 0.5	6.9 ± 0.5	6.8 ± 0.5	9.5 ± 0.5	7.7 ± 0.5	3.7 ± 0.5
Pimelic	4.6 ± 0.6	12.0 ± 0.6	3.4 ± 0.6	3.2 ± 0.6	3.3 ± 0.6	12.6 ± 0.6	5.2 ± 0.6	10.8 ± 0.6
Suberic	13.4 ± 0.9	11.9 ± 0.9	5.4 ± 0.8	6.0 ± 0.8	6.4 ± 0.8	12.0 ± 0.9	7.8 ± 0.8	2.0 ± 0.9
Azelaic	20.6 ± 0.6	15.5 ± 0.6	6.5 ± 0.6	7.1 ± 0.6	7.0 ± 0.6	13.5 ± 0.6	7.1 ± 0.6	2.2 ± 0.6
Glycolic	<LOD	3 ± 1	4 ± 1	14 ± 1	16 ± 1	19 ± 1	16 ± 1	<LOD
Mandelic	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	5 ± 1	<LOD
Malic	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maleic	<LOD	<LOD	2.6 ± 0.4	1.8 ± 0.4	1.9 ± 0.4	4.2 ± 0.4	3.4 ± 0.4	2.8 ± 0.4
Phthalic	<LOD	<LOD	9.3 ± 0.8	13.6 ± 0.8	14.2 ± 0.8	13.5 ± 0.8	9.8 ± 0.8	<LOD
2-OH-benz.	<LOD	<LOD	1.5 ± 0.3	2.2 ± 0.3	3.9 ± 0.3	5.9 ± 0.3	3.4 ± 0.3	1.0 ± 0.3
3-OH-benz.	<LOD	<LOD	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	2.1 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.8 ± 0.3	1.1 ± 0.3
4-OH-benz.	<LOD	<LOD	<LOD	1.7 ± 0.6	2.4 ± 0.6	2.0 ± 0.3	1.9 ± 0.6	2.0 ± 0.6

Ind A (PM <sub>i</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	<LOD	3.0 ± 0.5	2.8 ± 0.6
<b>Succinic</b>	<LOD	<LOD	5.0 ± 0.3	7.1 ± 0.3
<b>Glutaric</b>	9.6 ± 0.5	9.0 ± 0.5	8.7 ± 0.5	12.9 ± 0.5
<b>Adipic</b>	3.1 ± 0.5	4.0 ± 0.5	5.5 ± 0.5	6.6 ± 0.5
<b>Pimelic</b>	5.4 ± 0.6	3.9 ± 0.6	4.6 ± 0.6	3.8 ± 0.6
<b>Suberic</b>	6.0 ± 0.8	6.5 ± 0.8	7.0 ± 0.8	7.0 ± 0.9
<b>Azelaic</b>	3.1 ± 0.6	4.2 ± 0.6	5.0 ± 0.6	4.1 ± 0.6
<b>Glycolic</b>	9 ± 1	7 ± 1	13 ± 1	17 ± 1
<b>Mandelic</b>	<LOD	<LOD	4 ± 1	5 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	<LOD	1.1 ± 0.5	1.1 ± 0.5	2.0 ± 0.4
<b>Phthalic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	2.3 ± 0.8
<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	1.6 ± 0.3	2.0 ± 0.3	3.3 ± 0.3
<b>3-OH-benz.</b>	0.8 ± 0.3	0.9 ± 0.3	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3
<b>4-OH-benz.</b>	1.7 ± 0.7	1.7 ± 0.7	1.8 ± 0.7	1.9 ± 0.7



Mix A (PM <sub>2.5</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02	Mix A (PM <sub>1</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02
	27/01	10/02	26/02	12/03		27/01	10/02	26/02	12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	1.6±0.5	4.5±0.5	1.4±0.5	<b>Malonic</b>	<LOD	<LOD	1.9±0.5	2.3±0.5
<b>Succinic</b>	5.4±0.3	5.3±0.3	9.7±0.3	8.7±0.3	<b>Succinic</b>	1.0±0.3	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Glutaric</b>	6.7±0.5	6.9±0.5	10.6±0.5	21.5±0.6	<b>Glutaric</b>	8.7±0.5	5.3±0.5	9.0±0.5	10.6±0.6
<b>Adipic</b>	2.6±0.5	4.0±0.5	8.0±0.5	8.4±0.5	<b>Adipic</b>	3.4±0.5	3.1±0.5	9.3±0.5	8.2±0.5
<b>Pimelic</b>	2.3±0.6	2.0±0.6	2.1±0.6	11.7±0.6	<b>Pimelic</b>	2.6±0.6	9.3±0.6	12.3±0.6	13.2±0.6
<b>Suberic</b>	2.2±0.9	2.2±0.9	2.0±0.9	5.1 ± 0.9	<b>Suberic</b>	3.7±0.9	3.8±0.9	5.3 ± 0.8	4.8 ± 0.9
<b>Azelaic</b>	4.3±0.6	5.5±0.6	7.6 ± 0.6	16.4±0.7	<b>Azelaic</b>	2.4±0.6	3.3±0.6	3.3 ± 0.6	3.4 ± 0.6
<b>Glycolic</b>	3 ± 1	5 ± 1	11 ± 1	16 ± 1	<b>Glycolic</b>	<LOD	3 ± 1	7 ± 1	12 ± 1
<b>Mandelic</b>	<LOD	<LOD	3 ± 1	4 ± 1	<b>Mandelic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	2.4±0.4	1.6±0.5	1.9 ± 0.4	<LOD	<b>Maleic</b>	2.4±0.4	1.1±0.4	2.1 ± 0.4	<LOD
<b>Phthalic</b>	9.5±0.8	11.2±0.8	14.6±0.8	<LOD	<b>Phthalic</b>	<LOD	<LOD	16.1±0.8	15.7±0.8
<b>2-OH-benz.</b>	1.7±0.3	1.3 ± 0.3	13 ± 0.3	0.9 ± 0.3	<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1.0 ± 0.3	1.0 ± 0.3
<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	0.9 ± 0.3	2.0 ± 0.3	<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.3
<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1.7 ± 0.7	3.1 ± 0.6	<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1.7 ± 0.7	1.7 ± 0.7

Mix B (PM <sub>2.5</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02	Mix C (PM <sub>2.5</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02
	27/01	10/02	26/02	12/03		27/01	10/02	26/02	12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	6.2±0.5	3.7±0.5	2.6±0.5	<b>Malonic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Succinic</b>	6.5±0.3	15.2 ±0.3	8.2 ±0.3	9.2± 0.3	<b>Succinic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Glutaric</b>	10.7 ±0.5	27.4 ±0.7	15.6 ±0.5	10.2 ±0.5	<b>Glutaric</b>	16.3 ±0.6	4.4 ±0.6	9.7 ±0.6	8.0±0.5
<b>Adipic</b>	6.5±0.5	7.6±0.5	6.1±0.5	6.1±0.5	<b>Adipic</b>	5.7 ± 0.5	3.1 ±0.6	5.2±0.5	4.6±0.5
<b>Pimelic</b>	<LOD	5.2±0.6	7.9±0.6	5.1±0.6	<b>Pimelic</b>	<LOD	2.6 ±0.8	5.1±0.8	2.4±0.8
<b>Suberic</b>	4.7±0.9	7.8±0.8	8.3±0.8	6.5±0.8	<b>Suberic</b>	5.8±0.8	3.3 ±0.9	3.3±0.9	2.9±0.9
<b>Azelaic</b>	1.6±0.6	9.6±0.6	6.4±0.6	4.7±0.6	<b>Azelaic</b>	1.6±0.6	<LOD	4.8±0.6	1.6±0.6
<b>Glycolic</b>	6 ± 1	16 ± 1	11 ± 1	13 ± 1	<b>Glycolic</b>	<LOD	47 ± 1	16 ± 1	<LOD
<b>Mandelic</b>	3 ± 1	5 ± 1	3 ± 1	5 ± 1	<b>Mandelic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	7.2±0.9	<LOD
<b>Maleic</b>	2.6±0.4	3.6±0.4	1.4±0.5	<LOD	<b>Maleic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Phthalic</b>	9.8±0.9	19.3 ±0.8	9.4±0.8	6.1±0.8	<b>Phthalic</b>	10.2 ±0.8	9.6 ±0.8	16.7 ±0.8	11.3 ±0.8
<b>2-OH-benz.</b>	1.5±0.3	3.6±0.3	2.6±0.3	2.1±0.3	<b>2-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	1.7±0.3	<LOD
<b>3-OH-benz.</b>	1.0±0.3	2.1±0.3	1.9±0.3	1.0±0.3	<b>3-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	3.1±0.7	2.6±0.7	<LOD	<b>4-OH-benz.</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Ind B (PM <sub>2.5</sub> )	14/01-27/01	28/01-10/02	11/02-26/02	27/02-12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	<LOD	<LOD	2.0 ± 0.5	5.2 ± 0.5
<b>Succinic</b>	15.0 ± 0.3	9.9 ± 0.3	20.6 ± 0.4	17.7 ± 0.3
<b>Glutaric</b>	14.0 ± 0.5	8.8 ± 0.5	15.2 ± 0.5	17.2 ± 0.6
<b>Adipic</b>	6.9 ± 0.5	6.3 ± 0.5	9.0 ± 0.5	8.4 ± 0.5
<b>Pimelic</b>	2.7 ± 0.6	3.8 ± 0.6	7.1 ± 0.6	7.4 ± 0.6
<b>Suberic</b>	5.9 ± 0.8	5.3 ± 0.8	6.4 ± 0.8	5.8 ± 0.8
<b>Azelaic</b>	7.6 ± 0.6	8.2 ± 0.6	13.7 ± 0.6	10.5 ± 0.6
<b>Glycolic</b>	12 ± 1	9 ± 1	27 ± 1	23 ± 1
<b>Mandelic</b>	4 ± 1	5 ± 1	18 ± 1	4 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	6.9 ± 0.4	2.2 ± 0.4	2.6 ± 0.4	4.7 ± 0.4
<b>Phthalic</b>	16.1 ± 0.8	13.4 ± 0.8	20.2 ± 0.9	13.3 ± 0.8
<b>2-OH-benz.</b>	2.1 ± 0.3	2.1 ± 0.3	4.2 ± 0.3	2.3 ± 0.3
<b>3-OH-benz.</b>	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3	1.9 ± 0.3	1.0 ± 0.3
<b>4-OH-benz.</b>	2.4 ± 0.6	1.8 ± 0.6	3.0 ± 0.6	<LOD

Rural (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	1.4 ± 0.5	<LOD	2.5 ± 0.5	7.2 ± 0.5
<b>Succinic</b>	10.0 ± 0.3	7.4 ± 0.3	13.7 ± 0.3	11.5 ± 0.3
<b>Glutaric</b>	9.4 ± 0.5	6.3 ± 0.5	11.5 ± 0.5	10.6 ± 0.5
<b>Adipic</b>	3.2 ± 0.5	4.3 ± 0.5	5.5 ± 0.5	4.0 ± 0.5
<b>Pimelic</b>	2.0 ± 0.6	2.3 ± 0.6	7.7 ± 0.6	3.0 ± 0.7
<b>Suberic</b>	<LOD	2.3 ± 0.9	7.2 ± 0.8	<LOD
<b>Azelaic</b>	7.9 ± 0.6	7.6 ± 0.6	9.7 ± 0.6	6.6 ± 0.6
<b>Glycolic</b>	10 ± 1	8 ± 1	16 ± 1	10 ± 1
<b>Mandelic</b>	4 ± 1	4 ± 1	6 ± 1	3 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	2.3 ± 0.4	<LOD	2.5 ± 0.4	2.2 ± 0.4
<b>Phthalic</b>	11.1 ± 0.8	9.0 ± 0.8	10.8 ± 0.8	12.5 ± 0.8
<b>2-OH-benz.</b>	1.7 ± 0.3	1.4 ± 0.3	1.8 ± 0.3	<LOD
<b>3-OH-benz.</b>	0.9 ± 0.3	0.8 ± 0.3	1.1 ± 0.3	<LOD
<b>4-OH-benz.</b>	1.8 ± 0.6	<LOD	2.0 ± 0.6	<LOD

Urb (PM <sub>2.5</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02	Urb (PM <sub>1</sub> )	14/01	28/01	11/02	27/02
	27/01	10/02	26/02	12/03		27/01	10/02	26/02	12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	3.9±0.5	2.6±0.5	4.3±0.5	6.4±0.5	<b>Malonic</b>	<LOD	1.5±0.5	3.8±0.5	1.0±0.5
<b>Succinic</b>	16.2±0.3	4.0±0.3	18.9±0.3	23.9±0.3	<b>Succinic</b>	5.5±0.3	3.8±0.3	5.3±0.3	8.8±0.3
<b>Glutaric</b>	16.5±0.6	8.5±0.5	14.7±0.5	17.6±0.6	<b>Glutaric</b>	6.5±0.5	6.8±0.7	7.8±0.5	8.6±0.5
<b>Adipic</b>	7.2 ± 0.5	4.9±0.5	7.9 ± 0.5	8.8 ± 0.5	<b>Adipic</b>	10.9±0.5	8.0±0.5	7.4±0.5	5.4±0.5
<b>Pimelic</b>	6.6 ± 0.6	4.2±0.6	11.0±0.6	12.2±0.6	<b>Pimelic</b>	2.9 ± 0.6	3.5±0.6	3.4±0.6	3.3±0.6
<b>Suberic</b>	11.8±0.9	4.7±0.9	13.3±0.9	10.9±0.9	<b>Suberic</b>	6.6 ± 0.8	4.4±0.9	3.0±0.9	6.6±0.8
<b>Azelaic</b>	12.3±0.6	5.9±0.6	12.7±0.6	13.5±0.6	<b>Azelaic</b>	5.8 ± 0.6	4.6±0.6	4.2±0.6	5.4±0.6
<b>Glycolic</b>	17 ± 1	5 ± 1	17 ± 1	23 ± 1	<b>Glycolic</b>	9 ± 1	5 ± 1	6 ± 1	11 ± 1
<b>Mandelic</b>	8 ± 1	3 ± 1	7 ± 1	12 ± 1	<b>Mandelic</b>	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	3.0 ± 0.4	2.0±0.4	2.6 ± 0.4	2.7 ± 0.4	<b>Maleic</b>	<LOD	1.6±0.5	1.1±0.5	<LOD
<b>Phthalic</b>	18.8±0.9	14.5±0.8	26 ± 1	23.4±0.9	<b>Phthalic</b>	10.9±0.8	14.9±0.8	13.7 ±0.8	7.2 ±0.8
<b>2-OH-benz.</b>	5.4±0.3	2.6±0.3	6.7±0.3	5.3±0.3	<b>2-OH-benz.</b>	2.6±0.3	2.3±0.3	1.5±0.3	2.2 ±0.3
<b>3-OH-benz.</b>	2.5±0.3	1.4±0.3	2.6±0.3	2.6±0.3	<b>3-OH-benz.</b>	1.0±0.3	0.8±0.3	<LOD	1.0 ±0.3
<b>4-OH-benz.</b>	3.3±0.6	1.9±0.6	3.9±0.6	3.2±0.6	<b>4-OH-benz.</b>	1.7±0.3	<LOD	<LOD	1.7±0.3

UrbBG (PM <sub>2.5</sub> )	14/01-27/01	28/01-10/02	11/02-26/02	27/02-12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
<b>Malonic</b>	1.8 ± 0.5	<LOD	3.1 ± 0.5	2.4 ± 0.5
<b>Succinic</b>	42.3 ± 0.7	<LOD	3.9 ± 0.3	5.0 ± 0.3
<b>Glutaric</b>	20.6 ± 0.6	5.7 ± 0.5	9.9 ± 0.5	7.9 ± 0.5
<b>Adipic</b>	6.3 ± 0.5	3.6 ± 0.5	8.3 ± 0.5	5.3 ± 0.5
<b>Pimelic</b>	6.5 ± 0.6	2.0 ± 0.6	5.1 ± 0.6	5.9 ± 0.6
<b>Suberic</b>	10.9 ± 0.9	3.4 ± 0.9	5.7 ± 0.8	6.2 ± 0.8
<b>Azelaic</b>	9.7 ± 0.6	4.2 ± 0.6	4.6 ± 0.6	4.0 ± 0.6
<b>Glycolic</b>	29 ± 1	4 ± 1	14 ± 1	12 ± 1
<b>Mandelic</b>	9 ± 1	<LOD	4 ± 1	3 ± 1
<b>Malic</b>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
<b>Maleic</b>	1.3 ± 0.5	<LOD	2.2 ± 0.4	2.2 ± 0.4
<b>Phthalic</b>	<LOD	<LOD	4.9 ± 0.8	2.2 ± 0.9
<b>2-OH-benz.</b>	2.6 ± 0.3	<LOD	2.8 ± 0.3	1.4 ± 0.3
<b>3-OH-benz.</b>	1.7 ± 0.3	<LOD	1.5 ± 0.3	2.3 ± 0.6
<b>4-OH-benz.</b>	2.9 ± 0.6	<LOD	2.3 ± 0.6	<LOD

## 7.4.2 Saccaridi

Ind A (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 21/01	22/01 28/01	29/01 04/02	05/02 11/02	12/02 18/02	19/02 25/02	26/02 05/03	06/03 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	12.9 ± 0.7	6.4 ± 0.7	2.1 ± 0.7	2.0 ± 0.7	2.3 ± 0.7	4.6 ± 0.7	3.2 ± 0.7	<LOD
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	3.2 ± 0.8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	4.2 ± 0.8	2.6 ± 0.8	<LOD
Glucose	5.0 ± 0.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	12 ± 1	<LOD	<LOD	3 ± 1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	10 ± 1	13 ± 1	<LOD	3 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	15 ± 1
Levoglucozani	357 ± 8	218 ± 5	95 ± 2	93 ± 2	100 ± 2	166 ± 4	111 ± 1	150 ± 3

Ind A (PM <sub>1</sub> )	14/01-27/01	28/01-10/02	11/02-26/02	27/02-12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	1.9 ± 0.7	1.9 ± 0.7	1.9 ± 0.7	2.1 ± 0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	4 ± 1	3 ± 1	16 ± 1	5 ± 1
Levoglucozani	150 ± 3	107 ± 2	77 ± 2	111 ± 2

Mix A (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03	Mix A (PM <sub>i</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	2.4±0.7	2.0±0.7	2.0±0.7	8.3±0.7	Arabinose	<LOD	2.0±0.7	1.9±0.7	1.9±0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	3 ± 1	Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	3.4±0.8	Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	7.0±0.5	Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	10 ± 1	Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	4 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	8 ± 1	Maltose	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	6 ± 1
Levogluco.	83 ± 2	71 ± 1	88 ± 2	4.5±0.5	Levogluco.	121±3	88 ± 2	95 ± 2	96 ± 2

Mix B (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03	Mix C (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	1.9±0.7	4.0±0.7	3.3±0.7	1.9±0.7	Arabinose	1.9±0.7	<LOD	2.4±0.7	2.1±0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	2.1±0.8	2.2±0.8	<LOD	Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	Glucose	<LOD	<LOD	1.5±0.6	<LOD
Mycose	<LOD	3 ± 1	<LOD	<LOD	Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	<LOD	7 ± 1	6 ± 1	<LOD	Maltose	9.7±0.6	<LOD	<LOD	<LOD
Levogluco.	105 ± 2	198 ± 4	132 ± 3	74 ± 2	Levogluco.	410 ± 9	97 ± 2	162 ± 3	123 ± 3



Ind B (PM <sub>2.5</sub> )	14/01-27/01	28/01-10/02	11/02-26/02	27/02-12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	3.7 ± 0.7	2.3 ± 0.7	3.7 ± 0.7	3.3 ± 0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	2.1 ± 0.8	<LOD	2.8 ± 0.8	2.2 ± 0.8
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	5 ± 1	7 ± 1	9 ± 1	4 ± 1
Levogluosane	193 ± 4	131 ± 3	168 ± 4	150 ± 3

Rural (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	2.5 ± 0.7	2.0 ± 0.7	2.6 ± 0.7	1.9 ± 0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	7 ± 1	5 ± 1	47 ± 3	4 ± 1
Levogluosane	101 ± 2	81 ± 2	104 ± 2	62 ± 1

Urb (PM <sub>2.5</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03	Urb (PM <sub>1</sub> )	14/01 27/01	28/01 10/02	11/02 26/02	27/02 12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>		ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	3.9±0.7	2.2±0.7	5.2±0.7	4.0±0.7	Arabinose	1.9±0.7	1.9±0.7	<LOD	1.9±0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	2.8±0.8	<LOD	5.7±0.8	6.4±0.8	Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	2.1±0.8
Glucose	<LOD	<LOD	1.7±0.6	<LOD	Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	3 ± 1	<LOD	3 ± 1	3 ± 1	Mycose	3 ± 1	<LOD	<LOD	3 ± 1
Maltose	8 ± 1	7 ± 1	13 ± 1	14 ± 1	Maltose	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1
Levogluco.	327 ± 7	149 ± 3	254 ± 5	255 ± 5	Levogluco.	92 ± 2	79 ± 2	64 ± 1	67 ± 1

UrbBG (PM <sub>2.5</sub> )	14/01-27/01	28/01-10/02	11/02-26/02	27/02-12/03
	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>	ng/m <sup>3</sup>
Arabinose	6.1 ± 0.7	<LOD	2.3 ± 0.7	2.4 ± 0.7
Mannose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	2.1 ± 0.8
Glucose	<LOD	<LOD	<LOD	1.4 ± 0.6
Mycose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	6 ± 1	<LOD	4 ± 1	7 ± 1
Levogluco.	179 ± 4	76 ± 2	118 ± 2	89 ± 2

## 8. BIBLIOGRAFIA

- [1]: R. Ladji, N. Yassaa, A. Cecinato, B.Y. Meklati. *Atmospheric Research*, 86: 249–260, 2007.
- [2]: J. Schwartz. *Environmental Research*, 64: 36–52, 1994.
- [3]: D.W. Dockery, C.A. Pope. *Annu Rev Public Health*, 15: 107–132, 1994.
- [4]: C.A. Pope and D.W. Dockery. *Air pollution and health*. San Diego, Academic Press, 1999.
- [5]: W. Welthagen, J. Schnelle-Kreis, R. Zimmermann. *Journal of Chromatography A*, 1019: 233–249, 2003.
- [6]: D.M. Brown, M.R. Wilson, W. MacNee, V. Stone, K. Donaldson. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 175: 191–199, 2001.
- [7]: H.E. Wichmann, A. Peters. *Phil Trans R Soc Lond*, 358: 2751–2769, 2000.
- [8]: A. Peters, H.E. Wichmann. *Am J Respir Crit Care Med*, 155: 1376–1383, 1997.
- [9]: H.E. Wichmann, C. Spix, T. Tuch, J. Peel, G. Wolke, A. Peters, J. Heinrich, W.G. Kreyling, J. Heyder. *Health Effects Institute, Cambridge, MA*, Report 98, 2000.
- [10]: A.J. Ghio, R.B. Devlin. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 164: 704–708, 2001.
- [11]: P.E. Tolbert, M. Klein, K.B. Metzger, J. Peel, W.D. Flanders, K. Todd, J.A. Mulholland, P.B. Ryan, H. Frumkin. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, 10: 446–460, 2000.
- [12]: G.R. Cass. *Trends in Analytical Chemistry*, 17: 356–366, 1998.
- [13]: B.R.T. Simoneit, A.I. Rushdi, M.R. Bin Abas, B.M. Didyk. *Environmental Science and Technology*, 37: 16–21, 2003.
- [14]: J. Cyrus, M. Stölzel, J. Heinrich, W.G. Kreyling, N. Menzel, K. Wittmaack, T. Tuhe, H.E. Wichmann. *The Science of the Total Environment*, 305: 143–156, 2003.
- [15]: P. Saxena, L.M. Hildemann. *J. Atmos. Chem.*, 24:946–949, 1996.
- [16]: M.C. Jacobson, H.C. Hansson, K.J. Noone, R.J. Charlson. *Rev. Geophys.*, 38(2): 267–294, 2000.
- [17]: M. Kanakidou, J.H. Seinfeld, S.N. Pandis, I. Barnes, F.J. Dentener, M.C. Facchini, R.V. Dingenen, B. Ervens, A. Nenes, C.J. Nielsen, E. Swietlicki, J.P. Putuad, Y. Balkanski, S. Fuzzi, J. Horth, G.K. Moortgat, R. Winterhalter, C.E.L. Myhre, K. Tsigaridis, E. Vignati, E.G. Stephanou, J. Wilson. *Atmos. Chem. Phys.*, 5: 1053–1123, 2005.

- [18]: NARSTO, *Particulate Matter Science for Policy Makers: A NARSTO Assessment*. EPRI 1007735, 2003.
- [19]: J.H. Seinfeld, J.F. Pankow. *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 54:121–140, 2003.
- [20]: A. Middlebrook, D.M. Murphy, S.-H. Lee, D.S. Thomson, K.A. Prather, R.J. Wenzel, D.-Y. Liu, D.J. Phares, K.P. Rhoads, A.S. Wexler, M.V. Johnston, J.L. Jimenez, J.T. Jayne, D.R. Worsnop, I. Yourshaw, J.H. Seinfeld, R.C. Flagan. *J. Geophys. Res.-Atmospheres*, 108: 8424–8432, 2003.
- [21]: A. Middlebrook, D.M. Murphy, D.S. Thomson. *J. Geophys. Res.-Atmospheres*, 103: 475–483, 1998.
- [22]: D.M. Murphy, D.S. Thomson, T.M.J. Mahoney. *Science*, 282: 1664–1669, 1998.
- [23]: IPCC, *Climate Change 2001*. Cambridge University Press: New York, 2001.
- [24]: P. Saxena, L.M. Hildemann, P.H. McMurry, J.H. Seinfeld. *J. Geophys. Res.*, 100: 18755–18770, 1995.
- [25]: R.J. Sheesley, J.J. Schauer, J.D. Hemming, S. Geis, M.A. Barman. *Environmental Science and Technology*, 39(4): 999–1010, 2005.
- [26]: S.H. Chung, J.H. Seinfeld. *J. Geophys. Res.*, 107: 4407–4412, 2002.
- [27]: J. Haywood, O. Boucher. *Rev. Geophys.*, 38(4): 513–543, 2000.
- [28]: M.C. Facchini, M. Mircea, S. Fuzzi, R.J. Charlson. *Nature*, 401: 257–259, 1999.
- [29]: Q. Zhang, D.R. Worsnop, M.R. Canagaratna, J.L. Jimenez. *Atmos. Chem. Phys.*, 5: 3289–3311, 2005.
- [30]: F.M. Bowman, C. Pilinis, J.H. Seinfeld. *Atmospheric Environment*, 29: 579–590, 1995.
- [31]: R.J. Barthelmie, S.C. Pryor. *Sci. Total Environ.*, 205: 167–178, 1997.
- [32]: K. Matsumoto, H. Tanaka, I. Nagao, Y. Ishizaka. *Geophys. Res. Lett.*, 24: 655–658, 1997.
- [33]: IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*). Cambridge University Press: New York, 1995.
- [34]: J.R. Brown, R.A. Field, M.E. Goldstone, J.N. Lester, R. Perry. *Sci. Total Environ.*, 177: 73–84, 1996.
- [35]: A. Dyremark, R. Westerholm, E. Överik, J.-A. Gustavsson. *Atmospheric Environment*, 29: 1553–1558, 1995.
- [36]: Y. Kawanaka, E. Matsumoto, K. Sakamoto, N. Wang, S.-J. Yun. *Atmospheric Environment*, 38: 2125–2132, 2004.
- [37]: V.A. Isidorov. *Organic Chemistry of the Earth's Atmosphere*. Springer-Verlag: Berlin, 1990.
- [38]: S.N. Pandis, R.A. Harley, G.R. Cass, J.H. Seinfeld. *Atmospheric Environment*, 26A: 2269–2282, 1992.
- [39]: J.F. Pankow. *Atmospheric Environment*, 28: 185–188, 1994.
- [40]: J.F. Pankow. *Atmospheric Environment*, 28: 189–193, 1994.
- [41]: J. Yu, R.C. Flagan, J.H. Seinfeld. *Environmental Science & Technology*, 32(16): 2357–2370, 1998.
- [42]: A. Gogou, N. Stratigakis, M. Kanakidou, E.G. Stephanou. *Organic Geochemistry*, 25: 79–96, 1996.

- [43]: W.F. Rogge, M.A. Mazurek, L.M. Hildemann, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit. *Atmospheric Environment*, 27A: 1309–1330, 1993.
- [44]: J.J. Schauer, W.F. Rogge, L.M. Hildemann, M.A. Mazurek, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit. *Atmospheric Environment*, 30: 3837–3855, 1996.
- [45]: J.J. Schauer, G.R. Cass. *Environmental Science and Technology*, 34: 1821–1832, 1996.
- [46]: M.A. Mazurek, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit. *Environmental Science and Technology*, 25: 684–694, 1991.
- [47]: M.A. Mazurek, M. Mason-Jones, H. Mason-Jones, L.G. Salmon, G.R. Cass, K.A. Hallock, M. Leach. *J. Geophys. Res.*, 102: 3779–3793, 1997.
- [48]: M.A. Mazurek. *Environmental Health Perspectives*, 110: 995–1003, 2002.
- [49]: D. Schuetzle, D. Cronn, A.L. Crittenden, R.J. Charlson. *Environmental Science and Technology*, 9: 838–845, 1975.
- [50]: D. Grosjean, K.V. Cauwenberghe, J.P. Schmid, P.E. Kelly, J.N. Pitts Jr. *Environmental Science and Technology*, 12: 313–317, 1978.
- [51]: S.T. Hatakeyama, T. Tanonaka, J. Weng, H. Bandow, H. Takagi, H. Akimoto. *Environmental Science and Technology*, 19: 935–942, 1985.
- [52]: K. Kawamura, K. Ikushima. *Environmental Science and Technology*, 27: 2227–2235, 1993.
- [53]: P. Warneck. *Atmospheric Environment*, 37: 2423–2427, 2003.
- [54]: J.D. Blando, B.J. Turpin. *Atmospheric Environment*, 34: 1623–1632, 2000.
- [55]: K. Kawamura, O. Yasui. *Atmospheric Environment*, 39: 1945–1960, 2005.
- [56]: J.M. Lightstone, T.B. Onasch, D. Imre. *Journal of Physical Chemistry A*, 104: 9337–9346, 2000.
- [57]: K.F. Ho, S.C. Lee, J.J. Cao, K. Kawamura, T. Watanabe, Y. Cheng, J.C. Chow. *Atmospheric Environment*, 40: 3030–3040, 2006.
- [58]: K. Kawamura, H. Kasukabe, L.A. Barrie. *Atmospheric Environment*, 30: 1709–1722, 1996.
- [59]: V.M. Kerminen, C. Ojanen, T. Pakkanen, R. Hillamo, M. Aurela, J. Merilainen. *Journal of Aerosol Science*, 31: 349–362, 2000.
- [60]: K. Kawamura, F. Sakaguchi. *Journal of Geophysical Research*, 104: 3501–3509, 1999.
- [61]: R. Sempere, K. Kawamura. *Atmospheric Environment*, 30: 1609–1619, 1996.
- [62]: K. Kawamura, R. Sempere, Y. Imai. *Journal of Geophysical Research*, 101: 18721–18728, 1996.
- [63]: J. Ray, S. McDow. *Atmospheric Environment*, 39: 7906–7919, 2005.
- [64]: X. Bi, B.R.T. Simoneit, G. Sheng, S. Ma, J. Fu. *Atmospheric Research*, 88: 256–265, 2008.
- [65]: C. Oliveira, C. Pio, C. Alves, M. Evtyugina, P. Santos, V. Goncalves, T. Nunes, A.J.D. Silvestre, F. Palmgren, P. Wahlin, S. Harrad. *Atmospheric Environment*, 41: 5555–5570, 2007.
- [66]: H. Wang, K. Kawamura, K.F. Ho, S.C. Lee. *Environmental Science and Technology*, 40: 6255–6260, 2006.

- [67]: B.R.T. Simoneit, V.O. Elias, M. Kobayashi, K. Kawamura, A.I. Rushdi, P.M. Medeiros, W.F. Rogge, B.M. Didyk. *Environmental Science and Technology*, 38: 5939–5949, 2004.
- [68]: J.M. Oades. *Geoderma*, 56: 377-400, 1993.
- [69]: L.L. Ashbaugh, O.F. Carvacho, M.S. Brown, J.C. Chow, J.G. Watson, K.C. Magliano. *Atmospheric Environment*, 37: 1163-1173, 2003.
- [70]: W.F. Rogge, L.M. Hildemann, M.A. Mature, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit *Environmental Science and Technology*, 32: 113-122, 1998.
- [71]: J.J Schauer, J.J Kleeman, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit, *Environmental Science and Technology*, 35: 1716-1728, 2001.
- [72]: C.G. Nolte, J.J. Schauer, G.R. Cass, B.R.T. Simoneit, *Environmental Science and Technology*, 35: 1912-1919, 2001.
- [73]: J.E. Core, J.A. Cooper, R.T. DeCesar, J.E. Houck. EPA 910/9-82-089a, U.S. EPA, Seattle, Washington (USA).
- [74]: B.R.T. Simoneit. *Applied Geochemistry*, 17: 129-162, 2002.
- [75]: B.R.T. Simoneit, J.J Schauer, C.G. Nolte, D.R. Oros, V.O. Elias, M.P. Fraser, W.F. Rogge, G.R. Cass. *Atmospheric Environment*, 33: 173-182, 1999.
- [76]: B.R.T. Simoneit, X.H. Bi, D.R. Oros, P.M. Medeiros, G.Y. Sheng, J.M. Fu. *Environmental Science and Technology*, 41: 7294-7302, 2007.
- [77]: M. Li, S.R. McDow, D.J. Tollerud, M.A. Mazurek. *Atmospheric Environment*, 40: 2260–2273, 2006.
- [78]: Y.C. Li, J.Z. Yu. *Environmental Science and Technology*, 39: 7616–7624, 2005.
- [79]: X.F. Huang, L.Y. He, M. Hu, Y.H. Zhang. *Environmental Science and Technology*, 43: 4665–4671, 2006.
- [80]: I. Kourtchev, L. Copolovici, M. Claeys, W. Maenhaut. *Environmental Science and Technology*, 43: 4665–4671, 2009.
- [81]: I. Kourtchev, J. Warnke, W. Maenhaut, T. Hoffmann, M. Claeys. *Chemosphere*, 73: 1308–1314, 2008.
- [82]: K. Kawamura, Y. Imai, L.A. Barrie. *Atmospheric Environment*, 39: 599–614, 2005.
- [83]: M. Mochida, A. Kawabata, K. Kawamura, H. Hatsushika, K. Yamazaki. *Journal of Geophysical Research*, 108: 4193, 2003.
- [84]: Z. Yue, M.P. Fraser. *Atmospheric Environment*, 38: 3253–3261, 2004.
- [85]: M. Lewandowski, M. Jaoui, T.E. Kleindienst, J.H. Offenberg, E.O. Edney. *Atmospheric Environment*, 41: 4073–4083, 2007.
- [86]: M. Jaoui, T.E. Kleindienst, M. Lewandowski, E.O. Edney. *Analytical Chemistry*, 76: 4765–4778, 2004.
- [87]: A. Plewka, D. Hofmann, K. Müller, H. Herrmann. *Chromatographia*, 57: S253–S259, 2003.
- [88]: C. Schummer, O. Delhomme, B.M.R. Appenzeller, R. Wennig, M. Millet. *Talanta*, 77: 1473–1482, 2009.

- [89]: J.M. Halket. *Handbook of Derivatives for Chromatography*. Wiley, New York, 1993.
- [90]: M.C. Pietrogrande, M.G. Zampolli, F. Dondi. *Analytical Chemistry*, 78: 2579–2592, 2006.
- [91]: K. Kawamura, I.R. Kaplan. *Analytical Chemistry*, 56: 1616–1620, 1984.
- [92]: M.C. Pietrogrande, D. Bacco, M. Mercuriali. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396: 877-885, 2010.
- [93]: C. Schummer, O. Delhomme, B.M.R. Appenzeller, R. Wennig, M. Millet. *Talanta*, 77: 1473–1482, 2009
- [94]: M.C. Pietrogrande, M.G. Zampolli, F. Dondi, C. Szopa, R. Sternberg, A. Buch, F. Raulin. *Journal of Chromatography A*, 1071: 255–261, 2005.
- [95]: M. Mochida, A. Kawabata, K. Kawamura, H. Hatsushika, K. Yamazaki. *Journal of Geophysical Research*, 108: 4193–4196, 2003.
- [96]: M. Lewandowski, M. Jaoui, T.E. Kleindienst, J.H. Offenbergl, E.O. Edney. *Atmospheric Environment*, 41: 4073–4083, 2007.
- [97]: M. Jaoui, T.E. Kleindienst, M. Lewandowski, E.O. Edney. *Analytical Chemistry*, 76: 4765–4778, 2004.
- [98]: J.M Halket. *Handbook of derivatives for chromatography*, 2nd ed. Wiley, New York (USA), 1993.
- [99]: J. Ray, S.R. McDow. *Atmospheric Environment*, 39: 7906–791, 2005.
- [100]: K. Kawamura, I.R. Kaplan. *Analytical Chemistry*, 56: 1616–1620, 1984.
- [101]: L.E. Yu, M.L. Shulman, R. Kopperud. *Environmental Science and Technology*, 39: 707–715, 2005.
- [102]: J.J. Schauer, W.F. Rogge, L.M. Hildemann, M.A. Mazurek, G.R. Cass. *Atmospheric Environment*, 41: S241–S259, 2007.
- [103]: H. Wang, K. Kawamura, K.F. Ho, S.C. Lee. *Environmental Science and Technology*, 40: 6255–6260, 2006.
- [104]: Y.C. Li, J.Z. Yu. *Environmental Science and Technology*, 39: 7616–7624, 2005.
- [105]: K.F. Ho, S.C. Lee, J.J. Cao, K. Kawamura, T. Watanabe, Y. Cheng, J.C. Chow. *Atmospheric Environment*, 40: 3030–3040, 2006.
- [106]: X.F. Huang, L.Y. He, M. Hu, Y.H. Zhang. *Atmospheric Environment*, 40: 2449–2458, 2006.
- [107]: K. Kawamura, Y. Imai, L.A. Barrie. *Atmospheric Environment*, 39: 599–614, 2005.
- [108]: G.E.P. Box, K.B. Wilson. *Journal of the Royal Statistical Society, series B*, 13(1): 1-45, 1951.
- [109]: D.L. Massart, B.G.M. Vandegiste, L.M.C. Buydens, S. de Song, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke. *Handbook of chemometrics qualimetrics (part a)*, Elsevier Science, Amsterdam, Netherland, 1997.
- [110]: R. Fisseha, M. Dommen, D. Paulsen, M. Kalberer, R. Maurer, F. Hofler, E. Weingartner, U. Baltensperger. *Analytical Chemistry*, 76: 6535-6540, 2004.
- [111]: P.M. Medeiros, B.R.T. Simonet. *Journal of Chromatography A*, 1141: 271-278, 2004.

- [112]: J.F. Rontanil, C. Aubert. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18: 1889-1893, 2004.
- [113]: C. Schummer, O. Delhomme, B.M.R. Appenzeller, R. Wennig, M. Millet, *Talanta*, 77: 1473-1482, 2009.
- [114]: S.S.H. Ho, J.Z. Yu, J.C. Chow, B. Zielinska, J.G. Watson, J.J. Schauer. *Journal of Chromatography A*, 1200: 217-227, 2008.
- [115]: M.D. Hays, R.J. Lavrich. *Trends in Analytical Chemistry*, 26: 88-102, 2007.
- [116]: J. Schnelle-Kreis, M. Sklorz, A. Peters, J. Cyrus, R. Zimmermann. *Atmospheric Environment*, 39: 7702-7714, 2005.
- [117]: L.Y. He, M. Hu, X.F. Huang, Y.H. Zhang, X.Y. Tang. *Science of Total Environment*, 359: 167-176, 2006.
- [118]: T. Rissanen, T. Hyotylainen, M. Kallio, J. Kronholm, M. Kulmala, M.L. Riekkola. *Chemosphere*, 64: 1185-1195, 2006.
- [119]: X. Bi, B.R.T. Simoneit, G. Sheng, J. Fu. *Fuel*, 87: 112-119, 2008.
- [120]: R. Ladjji, N. Yassaa, C. Calducci, A. Cecinato, B.Y. Meklati. *Atmospheric Research*, 92: 258-269, 2009.
- [121]: S. Decesari, M.C. Facchini, E. Matta, F. Lettini, M. Mircea, S. Fuzzi, E. Tagliavini, J.P. Putand. *Atmospheric Environment*, 35: 3691-3699, 2001.



## 9. PUBBLICAZIONI

- 1) Maria Chiara Pietrogrande, Dimitri Bacco, Mattia Mercuriali.

“GC-MS analysis of low-molecular-weight dicarboxylic acids in atmospheric aerosol: comparison between silylation and esterification derivatization procedures.”

*Analytical Bioanalytical Chemistry*, 396: 877-855, 2010.

- 2) Maria Chiara Pietrogrande, Dimitri Bacco.

“GC-MS analysis of water-soluble organics in atmospheric aerosol: Response surface methodology for optimizing silyl-derivatization for simultaneous analysis of carboxylic acids and sugars.”

*Analytica Chimica Acta*, Articolo in stampa.

- 3) Maria Chiara Pietrogrande, Gülcin Abbaszade, Jürgen Schnelle-Kreis, Dimitri Bacco, Ralf Zimmermann.

“Seasonal variation and source estimation of organic compounds in urban aerosol of Augsburg, Germany.”

Articolo sottoposto alla pubblicazione.



# GC–MS analysis of low-molecular-weight dicarboxylic acids in atmospheric aerosol: comparison between silylation and esterification derivatization procedures

Maria Chiara Pietrogrande · Dimitri Bacco ·  
Mattia Mercuriali

Received: 17 July 2009 / Revised: 29 September 2009 / Accepted: 4 October 2009 / Published online: 22 October 2009  
© Springer-Verlag 2009

**Abstract** This paper describes methods for the determination of low-molecular-weight (LMW) dicarboxylic acids in atmospheric aerosols as important chemical tracers for source apportionment of aerosol organics and for studying atmospheric processes leading to secondary organic aerosol formation. The two derivatization procedures most widely used in GC analysis of dicarboxylic acids were compared: esterification using  $\text{BF}_3$ /alcohol reagent and silylation using *N,O*-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA). The advantages and drawbacks of the two methods are investigated and compared in terms of (1) precision and accuracy of the results and (2) sensitivity and detection limit of the procedure. The comparative investigation was performed on standard solutions containing target  $\text{C}_3$ – $\text{C}_9$  dicarboxylic acids and on experimental particulate matter (PM) samples. Attention was focused on low-volume sampling devices that collect small amounts of sample for organic speciation. The results show that, overall, both the techniques appear suitable for the analysis of LMW dicarboxylic acids in atmospheric aerosols since they provide low detection limits ( $\leq 4 \text{ ng m}^{-3}$ ) and satisfactory reproducibility ( $\text{RSD}\% \leq 15\%$ ). Between them, BSTFA should be the reagent of choice under the most limiting conditions of PM filters collected by low-volume air samplers: It provides determination of all the target  $\text{C}_3$ – $\text{C}_9$  dicarboxylic acids with lower detection limits ( $\leq 2 \text{ ng m}^{-3}$ ) and higher reproducibility ( $\text{RSD}\% \leq 10\%$ )

**Keywords** Low-molecular-weight dicarboxylic acids · Derivatization procedures · GC–MS analysis · Atmospheric aerosol · Chemical marker

## Introduction

Dicarboxylic acids are an important group of water-soluble organic compounds. They are ubiquitous in the troposphere and represent a significant fraction of atmospheric organic particulate matter (PM): Total diacids account for about 1–3% of the total particulate carbon in urban areas and even more than 10% in the remote marine environment [1–4]. They have received a great deal of attention because of their potential effect on the global climate: Diacids can modify the surface tension and hygroscopic properties of atmospheric particles, owing to their high water solubility and low vapor pressure [5]. Dicarboxylic acids have been extensively measured in total suspended particulate and  $\text{PM}_{10}$  samples collected in urban sites [2–4, 6–10] and continental background [11–17].

Detailed investigations have demonstrated that the concentration and relative abundance of these acids are useful organic tracers for source apportionment and atmospheric processes leading to secondary organic aerosol formation [2, 8, 18, 19]. In fact, such polar organics are emitted directly into the atmosphere as PM by a multiplicity of different sources and are also produced through secondary organic aerosol formation initiated by photochemical reactions incurred as ozone, hydroxyl, and nitrate radicals react with volatile hydrocarbons [1–4, 6]. In particular, low-molecular-weight dicarboxylic acids ( $\text{C}_3$ – $\text{C}_9$ ) may yield relevant information on the source strength of anthropogenic vs. biogenic precursors [2–4, 9, 20]. It has been suggested that the  $\text{C}_3/\text{C}_4$  ratio is an indicator of

M. C. Pietrogrande (✉) · D. Bacco · M. Mercuriali  
Department of Chemistry, University of Ferrara,  
Via L. Borsari, 46,  
44100 Ferrara, Italy  
e-mail: mpc@unife.it

enhanced photochemical production of dicarboxylic acids in the atmosphere since succinic acid ( $C_4$ ) is a precursor of oxalic ( $C_2$ ) and malonic ( $C_3$ ) acids. On the other hand, the  $C_6/C_9$  ratio has been used as an indicator of the relative source strength of anthropogenic and biogenic diacid precursors: Adipic acid was proposed as a product of the oxidation of anthropogenic cyclohexene, while azelaic acid was thought to come from the oxidation of biogenic unsaturated fatty acids [3, 6, 9, 20].

To date, GC-MS is the one of the methods of choice for characterizing individual organic compounds within aerosol samples, primarily because of its high sensitivity and resolving power. The high polarity and low levels (approximately  $1 \text{ ng m}^{-3}$ ) of dicarboxylic acids demand a derivatization step prior to GC analysis to reduce the polarity of the compounds. The most common reactions used to modify compounds containing acidic hydrogens are alkylation, acylation, and silylation [2–4, 6–16, 20–23]; among them two derivatization processes are mainly used to analyze dicarboxylic acids in PM samples because they offer easy sample preparation and display good analytical characteristics:

1. Esterification of the acid groups using methanol or 1-butanol as derivatizing agent in the presence of a relatively strong acid ( $\text{BF}_3$  or  $\text{BCl}_3$ ) [3, 6, 7, 9, 10, 13, 21] (first applied by Kawamura and co-workers [24]).
2. Silylation based on silylation reagents to form trimethylsilyl (TMS) derivatives [2, 3, 14–16, 21, 23, 25, 26].

The two methodologies differ in terms of the stability of the derivatives formed, the presence of interfering by-products, and speed. Moreover, a combination of the two procedures has been employed to yield a multistep derivatization by which  $-\text{COOH}$  groups are initially derivatized with  $\text{BF}_3/\text{alcohol}$ , and then the remaining hydroxy or keto groups are silylated with a silylation reagent [21].

#### $\text{BF}_3$ esterification

The  $\text{BF}_3/\text{alcohol}$  reagent converts either carboxyl groups into butyl esters or aldehyde groups into dibutyl acetals [17, 18]. Starting from the original Kawamura paper [24], different modifications have been reported and widely applied to make  $\text{BF}_3/\text{alcohol}$  derivatization the most widely used procedure for determining low-molecular-weight (LMW) oxygenates in atmospheric samples [3, 6, 7, 9, 10, 13, 21]. In particular the  $\text{BF}_3/\text{butanol}$  procedure has distinct advantages for quantifying LMW compounds because the resulting butyl derivatives are less volatile and more resistant to evaporative losses than the  $\text{BF}_3/\text{methanol}$  scheme [7, 10]. Because of the presence of

residual acid, the products cannot be directly injected into the GC, but rather a purification step is required before injection [20].

The electron impact (EI) ionization of the butyl derivatives yields mass spectra including some common fragment ions  $m/z=57$  ( $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$ ),  $m/z=41$  ( $[\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2]^+$ ) and  $m/z=73$  ( $[-\text{OC}_4\text{H}_9]^+$ ) arising from  $-\text{OC}_4\text{H}_9$  moiety [21]. Common fragmentation pathways are also the cleavage of the C–O bond adjacent to the butyl group, which gives rise to the  $[\text{M}-73]^+$  fragment, and the additional loss of an alkene fragment: They give rise to an  $[\text{M}-129]^+$  ion fragment, which is the base peak ion for most  $C_3$ – $C_9$  dicarboxylic acids.

#### Silylation

The silylation reaction converts the hydroxyl groups into their corresponding trimethylsilyl derivatives via a substitution reaction, which yields one main product for each compound and with high conversion efficiency [23, 26]. The reagents commonly used for PM analysis are trimethylchlorosilane (TMCS), *N*-methyl-trimethylsilyltrifluoroacetamide, *N,O*-bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) and *N*-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide (MTBSTFA) [2, 3, 14–16, 21, 23, 25, 26]. MTBSTFA should be preferred since its derivatives display a simplified fragmentation pattern yielding fragments with very high relative abundances, especially for  $[\text{M}-57]^+$ , that generates good detection limits. However, it was found that steric hindrance and molecular mass play a very important role in the choice of the best suited derivatization reagent: MTBSTFA derivatization of compounds with sterically hindered sites produces very small analytical responses or no signal at all, and BSTFA derivatization of compounds with high molecular mass produces no characteristic fragmentation pattern. Therefore, the use of BSTFA is the best choice for analysis of sugars or saccharides, which are another class of polar organics commonly determined in PM samples as molecular tracers in elucidating organic carbon sources and atmospheric transport pathways [23]. For these reasons, the present study describes the use of BSTFA for a comprehensive procedure that can be extended to analysis of a wider range of polar organics including sugars.

The BSTFA reaction is moisture sensitive and requires mild conditions to complete the derivatization in order to achieve GC-MS detection at very low concentrations [23, 25, 26]. In opposition to alkylation, silylation normally does not require a purification step, and the derivatives can be injected directly into the GC system [20, 23, 25, 26]. However, it presents some drawbacks, such as the fact that the silylation reagent is dangerous and some artifacts can be produced in the reaction [21, 25].

In the EI mass spectra of TMCS compounds rearrangement reactions of the trimethylsilyl group may occur, making EI mass spectra quite complex and difficult to interpret. Generally, the BSTFA derivatives display a common fragmentation pattern formed by ion fragments at  $m/z=73$  and  $75$ ,  $[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$  and  $[\text{HO}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$ , respectively, derived by substitution of the active H atom with the  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$  group. In addition, compounds with two active H atoms, such as dicarboxylic acids, show abundant ions with  $m/z=147$ , postulated as  $[(\text{CH}_3)_2\text{Si}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$ , and this is accompanied by  $m/z=149$  ion resulting from the hydrogenation of  $m/z=147$  that occurs in the ion trap [23, 26].

This paper focuses on the determination of LMW dicarboxylic acids ( $\text{C}_3\text{--}\text{C}_9$ ) because they contain relevant chemical information to distinguish primary vs. secondary sources as well as anthropogenic vs. biogenic precursors. Preference was given to a faster one-step derivatization procedure to determine selected target compounds: The advantages and drawbacks of the methods using  $\text{BF}_3$ /alcohol and BSTFA are investigated and compared in terms of precision and accuracy of the results, sensitivity, and detection limit of the procedure.

## Experimental

### Reagents and standards

Reagents used for the different derivatizations ( $\text{BF}_3$ -1-butanol and BSTFA 1% trimethylchlorosilane) were obtained from Aldrich Chemical Co. (Milan, Italy). All standards and reagents used were of the highest purity commercially available. Dicarboxylic acid standards were purchased from Fluka/Aldrich/Sigma (Sigma Aldrich, Srl, Milan, Italy). All solvents were trace analysis grade (from 99.7%) from Sigma Aldrich (Milan, Italy).

Individual stock standard solutions were prepared in methanol for each  $\text{C}_3\text{--}\text{C}_9$  dicarboxylic acid at concentrations varying from 500 to  $1,000 \mu\text{g L}^{-1}$ . These solutions were diluted serially—using water obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Vimodrone, Milan, Italy)—to prepare lower concentration solutions to compute calibration curves and assess acid recoveries (proper concentration to obtain an absolute injected quantity ranging from 1.7 to 28 ng of each acid). These quantity values were also translated into air volume concentrations ( $1.5\text{--}25 \text{ ng m}^{-3}$ ) by assuming the analysis of one filter collected over 24 h by a low-volume sampler ( $55 \text{ m}^3$  air volume). The two derivatizing agents, as well as the individual and composite standard solutions, were stored at  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### Extraction of environmental samples

The  $\text{PM}_{10}$  samples were collected on a precombusted quartz fiber filter ( $20\times 25 \text{ cm}$ ) with an automatic outdoor station consisting of a low-volume sampler (Skypost PM, TCRTECORA Instruments, Corsico, Milan, Italy) operating at a flow rate of  $38.3 \text{ L min}^{-1}$  for 24 h. The samples were collected in a rural area (San Pietro Capofiume, Bologna, Italy) in spring (April 2008). After sampling, the procedure outlined in European Standard EN 12341 (CEN, 1998) was applied for equilibration and weighing.

Filter samples were extracted for 30 min in an ultrasonication bath with pure Milli-Q water ( $3\times 10 \text{ mL}$ ), and then the extract aliquots were combined and filtered using a glass fiber filter ( $42.5 \text{ mm}$ , GF Grade, Whatman, Maidstone, UK) to remove insoluble particles. The filtrate was then evaporated completely using a stream of high-purity nitrogen.

Procedural blanks were run in order to monitor significant background interferences in environmental samples.

### Derivatization procedures

#### *BF<sub>3</sub> esterification*

The procedure used is based on a modification [7] of the Kawamura method [24]. Standard solutions of the acids were put into a pear-shaped flask and evaporated to dryness in a gentle nitrogen stream at room temperature. A 14%  $\text{BF}_3$ -butanol ( $10 \mu\text{L}$ ) mixture and  $0.2 \text{ mL}$  of *n*-hexane were added to the samples: The flask was capped with a ground-glass stopper and clamp and sealed with Teflon tape. The sample was heated for 60 min at  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  and then cooled to room temperature. During the reaction, dicarboxylic acids were converted into their corresponding butyl esters. After,  $0.2 \text{ mL}$  of water saturated with sodium chloride was added to neutralize the  $\text{BF}_3$  excess, and the solution was allowed to stand for 2 min. To extract the sample for analysis,  $0.5 \text{ mL}$  of *n*-hexane was added to the sample tube, and then the tube was capped tightly and shaken vigorously for 3 min. The organic layer was transferred into a  $2.5\text{-mL}$  tube and reduced to dryness under high-purity nitrogen stream. Finally,  $100 \mu\text{L}$  of *n*-hexane and  $5 \mu\text{L}$  of *n*-hexadecane solution (at  $0.5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ , as an injection internal standard (IS)) were added, and then  $2 \mu\text{L}$  of the sample was injected into the GC system.

#### *Silylation*

Derivatization of the dicarboxylic acids using BSTFA was performed following the procedure reported in detail elsewhere [26]. The sample was transferred into a  $2.5\text{-mL}$  tube, and the solution evaporated to dryness; then  $10 \mu\text{L}$  of

BSTFA plus 1% TMCS and 85  $\mu\text{L}$  of isooctane were added to form TMS derivatives; 5  $\mu\text{L}$  of *n*-hexadecane solution was added as an injection IS. The tube was sealed with a Teflon-coated cap, and the reaction was performed at 75  $^{\circ}\text{C}$  for 90 min. Then 2  $\mu\text{L}$  of the sample was injected into the GC–MS system.

#### GC–MS analysis

The GC–MS system was a Scientific Focus–GC (Thermo-Fisher Scientific, Milan, Italy) coupled with PolarisQ Ion Trap Mass Spectrometer (Thermo-Fisher Scientific, Milan, Italy). The column used was a DB-5 column ( $L=30$  m, I.D.=0.25 mm,  $df=0.25$   $\mu\text{m}$  film thickness; J&W Scientific, Rancho Cordova, CA, USA). High-purity helium was the carrier gas with a velocity of 1.5  $\text{mL min}^{-1}$ .

Temperature program conditions were optimized for analysis of butyl and silyl derivatives. For butyl derivative analysis the column temperature program consisted of an initial isothermal step at 70  $^{\circ}\text{C}$  for 5 min, a temperature increase to 160  $^{\circ}\text{C}$  at 5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , followed by another increase to 280  $^{\circ}\text{C}$  at 15  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . For silyl derivatives the temperature program started with an initial temperature of 75  $^{\circ}\text{C}$  (hold for 5 min); it was raised to 135  $^{\circ}\text{C}$  at 2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , followed by an isothermal hold for 2 min, and after that, the temperature was increased to 160  $^{\circ}\text{C}$  at 2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , then further raised to 280  $^{\circ}\text{C}$  at 15  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

All samples were injected in splitless mode (splitless time, 30 s); the injector temperature was 250  $^{\circ}\text{C}$ .

The mass spectrometer operated in EI mode (positive ion, 70 eV). Ion source and transfer-line temperatures were 270 and 320  $^{\circ}\text{C}$ , respectively. The mass spectra were acquired with repetitive scanning from 50 to 600  $m/z$  in 1 s. The full scan detection mode was chosen since it allows a comprehensive investigation of the wide range of polar organics yielding derivatives under the selected operative conditions. In addition to total ion chromatograms (TIC), the selected-ion monitoring (SIM) mode was used to quantify the target analytes: Either the base peak ion or one of the most abundant characteristic fragments was chosen as the SIM ions (Table 1, third and sixth columns).

Compound identification was performed by comparison of the chromatographic retention times and mass spectra with those of authentic standards and the mass spectral library of the GC–MS data system.

All samples were analyzed in triplicate. To obtain reliable and reproducible quantitative data, the internal standard procedure was used. Hexadecane was added as an injection IS since it is not subject to the derivatization procedures: The detector response was expressed as peak area value,  $A_{ca}$ , relative to internal standard peak area ( $A_{IS}$ ), i.e.,  $A_{ca}/A_{IS}$ .

#### Analytical parameters of the GC–MS method

The method sensitivity and linearity were evaluated by computing the calibration curves using six multicomponent standard solutions containing  $\text{C}_3$ – $\text{C}_9$  acids in a concentration range corresponding to 1.5–25  $\text{ng m}^{-3}$  in the sampled air (absolute injected quantity 1.7–28 ng) for each compound. Samples were derivatized and analyzed by GC–MS: Each point on the curve, obtained as the average of three replicated measurements, is expressed as peak area ratio  $A_{ca}/A_{IS}$ .

The regression parameters were computed by the least-squares method: The intercept values were verified as statistically equal to zero by computing the 95% two-sided confidence interval for each intercept value ( $b_0$ ) and applying the *t* test at 5% of significance.

Sensitivity was assessed by establishing the detection limit  $X_{LOD}$  for each studied acid. On the basis of the slope of the calibration line,  $X_{LOD}$  was computed as the analyte concentration yielding a signal value  $Y_{LOD} = y_b + 6\sigma_b$ , where  $y_b$  is the blank average signal of 10 blank responses, and  $\sigma_b$  its standard deviation. This  $X_{LOD}$  value corresponds to a 0.13% probability that the blank signal will be misinterpreted and that the compound may be lost [27]. The detection limit was computed as  $X_{LOD} = 6\sigma_b/b_1$ , where  $b_1$  is the slope of the calibration line.

To check the precision and accuracy of the proposed method, recovery experiments were carried out by spiking known amounts of target  $\text{C}_3$ – $\text{C}_9$  dicarboxylic acids onto one half of a blank quartz fiber filter and processing the spiked filters as the real aerosol samples. Three different concentration levels were investigated for each analyte, i.e., 10, 20, and 30  $\text{ng m}^{-3}$ , and the measurements were repeated in triplicate to compute mean recovery and RSD% values.

#### Results and discussion

The two most common derivatization procedures were compared for quantitative analysis of dicarboxylic acids in PM samples by focusing attention on two challenging conditions:

1. Quantification of lighter  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  dicarboxylic acids, since they contain relevant information for source apportionment and secondary organic aerosol formation [2–4, 6, 7, 9, 20].
2. Analysis of PM samples collected by low-volume devices (55  $\text{m}^3$  air volume sampled over 24 h) requiring the highest method sensitivity at trace level [4, 8, 14, 17, 21].

#### $\text{BF}_3$ esterification

After derivatization according to the described procedure (“Extraction of environmental samples”), the standard

**Table 1** Parameters for GC-MS analysis of the target C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub> dicarboxylic acids using esterification (first to third columns) and silylation (fourth to sixth columns) procedures

Acids	tr (min)	<i>m/z</i> max	<i>m/z</i> SIM	tr (min)	<i>m/z</i> max	<i>m/z</i> SIM
	BF <sub>3</sub> esterification			Silylation		
Malonic acid	–	–	–	14.4	<i>147</i> ; 149	75; <i>147</i> ; 149
Succinic acid	–	–	–	20.6	<i>147</i> ; 149	75; <i>147</i> ; 149
Glutaric acid	23.7	<i>87</i> ; <i>115</i>	115	26.0	<i>147</i> ; 149	75; <i>147</i> ; 149
Adipic acid	25.2	<i>111</i> ; 129	129	31.8	75, 141	75; <i>147</i> ; 149
Pimelic acid	26.2	<i>125</i> ; 143	143	37.6	75, <i>155</i>	75; <i>147</i> ; 149
Suberic acid	27.1	139; <i>157</i>	157	43.7	75; 149	75; <i>147</i> ; 149
Azelaic acid	27.9	125; <i>171</i>	171	49.4	75; <i>149</i>	75; <i>147</i> ; 149

Retention times of the analyte derivatives are in the first and fourth columns, major derivative fragment ions in the second and fifth columns (most intense fragments are in italics), and *m/z* values selected for SIM detection in the third and sixth columns

solutions were analyzed by EI in the full scan mode in order to investigate the fragmentation pattern of each compound. The [M-129]<sup>+</sup> ion fragment is the base peak ion for most butyl derivatives, consistently with Kawamura [21] (Table 1, second column). The *m/z* values selected for SIM detection and quantification were either the base peak ion or one of the more abundant characteristic fragment ions (Table 1, third column). Reliable measurements can be obtained only for the dicarboxylic acids heavier than C<sub>5</sub>, since the lighter C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> acids yield butyl esters that are too volatile to avoid evaporative losses and too unstable to be accurately quantified [10, 20]. The calibration curves were computed for C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> acids (Table 2, first to fifth rows): The obtained parameters show that the derivatization procedure displays good linearity and sensitivity, nearly independent of the acid molecular weight. The achieved detection limits are low enough to make the method compatible with environmental analysis: 2.6–4.9 ng m<sup>-3</sup> in the sampled air

(Table 2, fourth column) corresponding to 2.9–5.4 ng as absolute injected quantity (Table 2). The reported *X*<sub>LOD</sub> values resulted higher than some of the data in the literature [1, 7]. This result is consistent with the unfavorable conditions of low sampled volume (55 m<sup>3</sup>), which are mainly critical for lighter dicarboxylic acids.

Recovery experiments were carried out by spiking one half of a blank quartz fiber filter with known amount, i.e., 10, 20, and 30 ng m<sup>-3</sup> of target C<sub>5</sub>-C<sub>9</sub> dicarboxylic acids. The results for the 20 ng m<sup>-3</sup> concentration are listed in Table 3, where the mean recovery and RSD% values are reported for triplicate measurements (Table 3). Recovery of the target compounds varied from 66% for glutaric acid to 120% for azelaic acid (Table 3, first column). The standard derivation values were lower than 15% for the studied acids, with the exception of the lighter glutaric acid (21%; Table 3, second column). As expected, the precision of the method decreases with the analyte concentration since for

**Table 2** Calibration curve parameters for the C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub> acids and *X*<sub>LOD</sub> values

Acids	<i>b</i> <sub>1</sub>	<i>b</i> <sub>0</sub> (ngm <sup>-3</sup> )	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>X</i> <sub>LOD</sub> (ngm <sup>-3</sup> )	<i>X</i> <sub>LOD</sub> (ng)
BF <sub>3</sub> esterification					
Glutaric acid	0.0112±0.0008	-0.01±0.01	0.992	4.9	5.4
Adipic acid	0.0117±0.0004	0.001±0.008	0.994	3.5	3.9
Pimelic acid	0.0110±0.0004	0.006±0.007	0.997	2.9	3.2
Suberic acid	0.0110±0.0005	0.01±0.01	0.995	2.6	2.9
Azelaic acid	0.0120±0.0006	0.02±0.01	0.997	2.9	3.2
Silylation					
Malonic acid	0.100±0.003	-0.11±0.05	0.997	2.6	2.9
Succinic acid	0.135±0.005	-0.09±0.06	0.997	1.9	2.1
Glutaric acid	0.081±0.003	-0.06±0.05	0.995	2.6	2.9
Adipic acid	0.036±0.001	-0.03±0.01	0.997	2.1	2.3
Pimelic acid	0.032±0.001	-0.03±0.02	0.995	2.7	3.0
Suberic acid	0.0296±0.0008	-0.03±0.01	0.997	2.4	2.6
Azelaic acid	0.023±0.001	-0.02±0.01	0.997	2.1	2.3

First to fifth rows, BF<sub>3</sub>esterification reaction (SIM signals at different *m/z* values specific for each acid, see Table 1); sixth to 12th rows, silylation (SIM signal at *m/z*=147 for all the studied acids). *X*<sub>LOD</sub> values are expressed as air volume concentration (ng m<sup>-3</sup>, fourth column) and absolute injected quantity (ng, fifth column)

**Table 3** Accuracy (recovery %) and reproducibility (RSD%) of esterification and silylation procedures estimated on triplicate measurements at 20 ng m<sup>-3</sup> concentration level

	R%	RSD%	R%	RSD%
	BF <sub>3</sub> esterification		Silylation	
Malonic acid	–	–	78	6
Succinic acid	–	–	85	3
Glutaric acid	66	21	95	8
Adipic acid	88	12	99	5
Pimelic acid	90	9	107	9
Suberic acid	95	9	110	6
Azelaic acid	120	15	115	10

all the acids the relative standard derivation values range from 24% to 16% for the 10 ng m<sup>-3</sup> level and from 6% to 14% for the 30 ng m<sup>-3</sup> concentration.

### Silylation reaction

Different experimental conditions have been widely applied to derivatize LMW oxygenate compounds for subsequent GC determination in PM samples [2, 4, 14–16, 21, 23]. Starting from the data in the literature, an optimization study was performed on the derivatization conditions that most affect analytical responses—i.e., reaction temperature and duration time—in order to develop a rapid, reproducible quantitative method for trace levels. The study was performed on standard aqueous solutions of C<sub>5</sub>–C<sub>9</sub> dicarboxylic acids (each acid at 20 µg mL<sup>-1</sup>).

The standard solutions were derivatized according to the procedure described in “Extraction of environmental samples” and submitted to GC analysis MS using SIM detection mode: The most abundant ions with *m/z*=147 and *m/z*=149 are selected for SIM detection to differentiate compounds bearing –COOH from other classes of organics (Table 1, fifth and sixth columns). The analytical responses were expressed as relative peak area  $A_{ca}/A_{IS}$  (hexadecane as internal standard).

The influence of reaction temperature and duration was tested carrying out the reaction at 50, 75, and 100 °C for 30, 60, and 90 min. Among the experimental conditions exploited, the reaction conditions of 75 °C for duration of 90 min yielded the best results and were chosen in the following study.

The analytical performance of the procedure was assessed by the calibration curves computed on standard solutions of C<sub>3</sub>–C<sub>9</sub> acids. The obtained results show that the procedure allows quantification of all the studied acids with good sensitivity, since it achieves low  $X_{LOD}$  values independent of the acid’s molecular weight, ranging in the concentration values from 1.9 to 2.7 ng m<sup>-3</sup> in the sampled

air (Table 2, fourth column) corresponding to 2.1–3.0 ng interval as absolute injected quantity (Table 2, fifth column).

The results obtained from studying procedure precision and accuracy are reported in Table 3 (recovery and RSD% values for the 20 ng m<sup>-3</sup> concentration). Good recoveries were found for all the target compounds ranging from 78% for malonic acid to 115% for azelaic acid (Table 3, third column). The procedure also displays good reproducibility, as evaluated by RSD% values on three replicates, that range from 3% to 10% (Table 3, fourth column). Moreover, these properties were nearly constant for the 10 and 30 ng m<sup>-3</sup> concentration levels.

### Comparison between silyl and butyl ester derivatization

The obtained results confirm that both the methods are reproducible, trace-level procedures suitable for environmental monitoring of dicarboxylic acids. However, some differences can be singled out when the two procedures are compared for the challenging application of quantitative determination of lighter C<sub>3</sub>–C<sub>9</sub> dicarboxylic acids at trace levels. These differences will be discussed below in terms of their relevance in the environmental measurements for PM monitoring.

- The silyl derivatives of dicarboxylic acids have higher molecular weights and are less volatile than the respective butyl derivatives. Thus, less time is required to elute the butyl derivatives, thus significantly reducing the duration of a chromatographic run: Only 30 min is the retention time required for the butyl ester of the most retained C<sub>9</sub> acid, while nearly 50 min is needed for the corresponding silyl derivative (Table 1, first and fourth columns). Nevertheless, the higher volatility yields some evaporative loss during the derivatization procedure thus decreasing analyte recovery.
- One merit of the trimethylsilylated compounds is that their EI mass spectra yield structurally characteristic ions (ion fragment at *m/z*=74, 147, 149), which make identification highly reliable. These ion fragments can be used in SIM detection mode for a simpler and more selective chromatographic signal. This advantage cannot be achieved by butyl derivatives, since their prominent fragmentation pathway commonly gives rise to the [M–73]<sup>+</sup> fragment as the most abundant fragment ion. Therefore, different *m/z* values must be specifically selected for SIM detection and quantification of each target acid (Table 1, third column).
- In general, the method sensitivity obtained with BSTFA derivatives was higher than the one with the butyl esters. This can be explained by the silylation reaction yield (i.e., degree of conversion) or by the



stability of the derivatives during handling. As a consequence, the silylation procedure displays higher sensitivity with lower  $X_{\text{LOD}}$  values for all the investigated  $C_3$ – $C_9$  dicarboxylic acids, compared to butyl esterification. On the other hand, the sensitivity of the  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  method strongly depends on the acid molecular weight: It is unreliable for the lower  $C_3$ – $C_4$  terms, and it significantly increases with the acid molecular weight to achieve detection limits comparable to those of silylation for the heavier  $C_7$ – $C_9$  acids. The low sensitivity for  $C_3$ – $C_4$  acids is also due to the concomitant higher volatility of their derivatives, which yields evaporative loss during the derivatization procedure.

#### Application to real PM samples

In order to confirm the findings obtained upon standard solutions, the two methods were applied to environmental PM matrices. To obtain comparable results on the same aerosol sample, each sample (PM samples 1 and 2 in Table 4) was obtained by two consecutive sets of samples (two quartz fiber filters) combined for extraction and then halved to separately perform derivatization prior to GC–MS analysis. The TIC chromatogram of the  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  derivatized sample (sample 1) is reported in Fig. 1a (derivative retention times are reported in Table 1, first column). The silyl derivatives obtained with BSTFA reagents on the same aerosol sample (sample 1) were analyzed under SIM detection mode at  $m/z=74, 147, 149$  (SIM chromatogram in Fig. 1b; derivative retention times are reported in Table 1, fourth column).

The concentrations of the target dicarboxylic acids were measured with both the procedures using the calibration curves reported in Table 2: The obtained results are reported in Table 4 for both the samples.

As verified on standards, the lighter  $C_3$  and  $C_4$  acids escaped detection by the  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  method. It must be noted that some target acids are present in the investigated

samples at a concentration level close to their detection limit, in particular in the case of  $\text{BF}_3$  esterification, where glutaric acid concentration is lower than  $X_{\text{LOD}}$  (Table 4). However, a good agreement within 4% was shown by the results obtained from the two procedures for all the quantified acids: This proves that both derivatization procedures produce reproducible quantification.

The individual species show similar abundance independent of the carbon chain length, with malonic and azelaic acids predominant. These results are consistent with literature on dicarboxylic acids in  $\text{PM}_{2.5}$  for a rural sampling site [8, 13–17, 23]. The predominance of the  $C_9$  diacid is expected since it is an oxidation product of biogenic unsaturated fatty acids. This result is confirmed by a low value of 0.5 computed for the  $C_6/C_9$  ratio for both samples and using both procedures to indicate a high biogenic input for aerosol diacids (Table 4) [1, 2, 4, 6, 9, 20].

Moreover, BSTFA derivatization also makes it possible to compute the  $C_3/C_4$  ratio as another marker of diacid origin: Both samples yield a value of 1.3 as it is commonly observed in atmospheric aerosols with low anthropogenic sources (combustion of fossil fuels produces  $C_3/C_4 \approx 0.3$ ) and reduced photo-induced secondary formation of dicarboxylic acids (that would yield higher  $C_3/C_4 \geq 3$  values) [3, 4, 6, 9, 20].

#### Conclusions

Comparison of the two popular derivatization reactions shows that, on the whole, both techniques are suitable for the analysis of low-molecular-weight dicarboxylic acids in atmospheric aerosols since they provide low detection limits ( $\leq 4 \text{ ng m}^{-3}$ ) and satisfactory reproducibility (RSD  $\% \leq 15\%$ ).

The BSTFA procedure is preferable when the analysis is performed under the most challenging conditions concerning determination of lighter  $C_3$ – $C_4$  terms in PM

**Table 4** Concentrations of the target dicarboxylic acids measured on two experimental aerosol samples (samples 1 and 2) after derivatization with  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  (first and second columns) and BSTFA (third and fourth columns) reagents

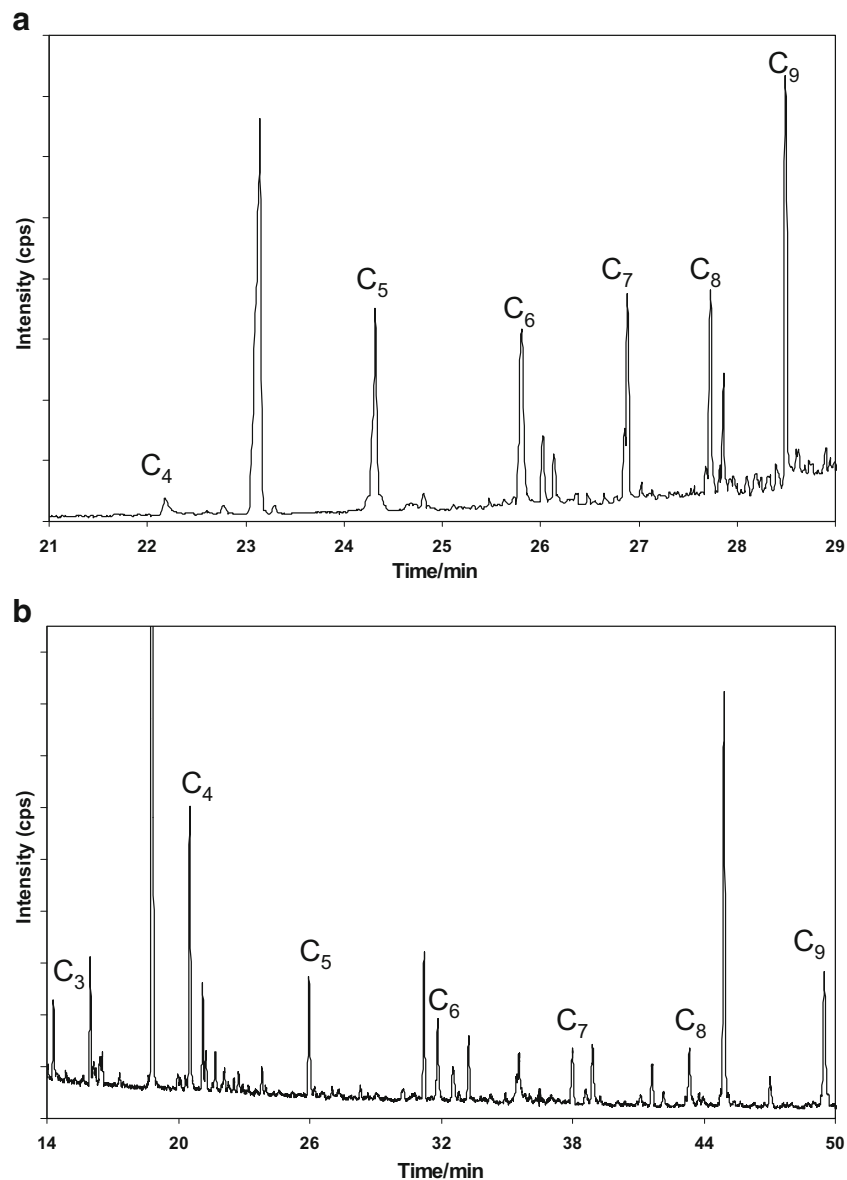
Acids	PM sample 1 ( $\text{ngm}^{-3}$ ) Esterification	PM sample 2 ( $\text{ngm}^{-3}$ )	PM sample 1 ( $\text{ngm}^{-3}$ ) Silylation	PM sample 2 ( $\text{ngm}^{-3}$ )
Malonic acid	–	–	5.2±1.4	5.4±1.5
Succinic acid	–	–	3.8±1.2	4.0±1.6
Glutaric acid	2.6±3.3	2.8±3.2	2.5±1.6	2.7±1.4
Adipic acid	3.1±2.0	3.3±3.8	3.0±1.2	3.2±1.6
Pimelic acid	2.7±1.8	3.0±2.6	2.6±1.8	2.9±1.4
Suberic acid	2.6±2.7	3.0±3.9	2.5±1.4	2.9±1.3
Azelaic acid	5.8±2.8	6.1±3.4	5.6 ±1.8	6.0±2.0

filters collected by low-volume air samplers: It provides lower detection limits ( $\leq 2 \text{ ng m}^{-3}$ ) and higher reproducibility ( $\text{RSD}\% \leq 10\%$ ). Moreover, the use of BSTFA reagent can be extended to other the polar compounds, although containing sterically hindered sites, such as sugars which are relevant molecular markers of biogenic sources. It is evident that the demand for high sensitivity is less constrictive if high-volume sampling devices are used and enough material is collected for detailed organic speciation.

It must be underlined that both procedures require water evaporation: In particular, in the  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  derivatization process water facilitates the reverse derivatization reaction.

The water evaporation step is time consuming and causes significant evaporative losses of the smaller, more volatile target compounds (e.g., malonic acid).

Further work is underway, changing extraction procedure and derivatization operating conditions in order to simultaneously determine additional compounds that are either more or less water soluble (e.g., sugars and larger mono- and dicarboxylic acids) or more volatile (e.g., nonanal). Solutions may also turn to simplified procedures that drop the water extraction and evaporation steps, i.e., mixing the derivatization reagents directly with filter substrates or using direct thermal desorption device coupled



**Fig. 1** GC-MS chromatograms of a derivatized environmental PM matrix (PM sample 1, in Table 4). **a** TIC chromatogram of the  $\text{BF}_3/\text{BuOH}$  derivatives; **b** SIM chromatogram at  $m/z=74, 147, 149$  of the silyl derivatives

to GC–MS to reduce time-consuming sample preparation steps and analyte losses by desorption of the organics within the GC injector.

**Acknowledgments** The authors thank F. Dondi (Department of Chemistry, University of Ferrara) for the fruitful discussion and suggestions. This work was in part financially supported by the Monitor project of the Environment Agency of Emilia Romagna region (ARPAER). The authors thank the personnel of ARPAER for their support in providing the PM filters.

## References

1. Collet JL Jr, Herckes P, Youngster S, Lee T (2008) *Atm Res* 87:232–241
2. Bi X, Simoneit BRT, Sheng G, Ma S, Fu J (2008) *Atm Res* 88:256–265
3. Kawamura K, Ikushima K (1993) *Atm Env* 27:2227–2235
4. Oliveira C, Pio C, Alves C, Evtugina M, Santos P, Goncalves V, Nunes T, Silvestre AJD, Palmgren F, Wahlin P, Harrad S (2007) *Atm Env* 41:5555–5570
5. Peng C, Chan MN, Chan CK (2001) *Environ Sci Technol* 35:4495–4501
6. Wang H, Kawamura K, Ho KF, Lee SC (2006) *Environ Sci Technol* 40:6255–6260
7. Li YC, Yu JZ (2005) *Environ Sci Technol* 39:7616–7624
8. Li M, McDow SR, Tollerud DJ, Mazurek MA (2006) *Atm Env* 40:2260–2273
9. Ho KF, Lee SC, Cao JJ, Kawamura K, Watanabe T, Cheng Y, Chow JC (2006) *Atm Env* 40:3030–3040
10. Huang XF, He LY, Hu M, Zhang YH (2006) *Atm Env* 40:2449–2458
11. Kourtchev I, Copolovici L, Claeys M, Maenhaut W (2009) *Environ Sci Technol* 13:4665–4671. doi:10.1021/es803055w
12. Mochida M, Kawabata A, Kawamura K, Hatsushika H, Yamazaki K (2003) *J Geophys Res* 108:4193–4196
13. Kawamura K, Imai Y, Barrie LA (2005) *Atm Env* 39:599–614
14. Kourtchev I, Warnke J, Maenhaut W, Hoffmann T, Claeys M (2008) *Chemosphere* 73:1308–1314
15. Yue Z, Fraser MP (2004) *Atm Env* 38:3253–3261
16. Lewandowski M, Jaoui M, Kleindienst TE, Offenbergh JH, Edney EO (2007) *Atm Env* 41:4073–4083
17. Yu LE, Shulman ML, Kopperud R (2005) *Environ Sci Technol* 39:707–715
18. Schauer JJ, Rogge WF, Hildemann LM, Mazurek MA, Cass GR (2007) *Atm Env* 41:S241–S259
19. Shrivastava MK, Subramanian R, Rogge WF, Robinson AL (2007) *Atm Env* 41:9353–9369
20. Ray J, McDow SR (2005) *Atm Env* 39:7906–7919
21. Jaoui M, Kleindienst TE, Lewandowski M, Edney EO (2004) *Anal Chem* 76:4765–4778
22. Plewka A, Hofmann D, Müller K, Herrmann H (2003) *Chromatographia* 57:S253–S259
23. Schummer C, Delhomme O, Appenzeller BMR, Wennig R, Millet M (2009) *Talanta* 77:1473–1482
24. Kawamura K, Kaplan IR (1984) *Anal Chem* 56:1616–1620
25. Halket JM (1993) *Handbook of derivatives for chromatography*, 2nd edn. Wiley, New York, p 297
26. Pietrogrande MC, Zampolli MG, Dondi F, Szopa C, Sternberg R, Buch A, Raulin F (2005) *J Chromatogr A* 1071:255–261 *Anal Chem*, 2006, 78, 2579–2592
27. Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMC, De Jong S, Lewi L, Smeyers-Verbeke J (1988) *Handbook of chemometrics and qualimetrics: part A*. Elsevier Science, Amsterdam, p 171





ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Analytica Chimica Acta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/aca](http://www.elsevier.com/locate/aca)



## GC–MS analysis of water-soluble organics in atmospheric aerosol: Response surface methodology for optimizing silyl-derivatization for simultaneous analysis of carboxylic acids and sugars

Maria Chiara Pietrogrande\*, Dimitri Bacco

Department of Chemistry, University of Ferrara, Via L. Borsari, 46, I-44100 Ferrara, Italy

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 29 September 2010  
Received in revised form 18 January 2011  
Accepted 23 January 2011  
Available online xxx

#### Keywords:

Dicarboxylic acids and sugars  
Atmospheric aerosol  
Silylation derivatization procedure  
Experimental design  
Response surface methodology

### ABSTRACT

This paper describes the development of a derivatization procedure – silylation using N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide (BSTFA) – for the simultaneous GC–MS analysis of a wide range of water-soluble organics in atmospheric aerosols. The reaction operating conditions were optimized using the response surface methodology (RSM) including central composite design (CCD) in order to achieve the highest response for a large number of dicarboxylic acids and sugars. The factors considered were: (i) reaction temperature (50–90 °C), (ii) the reaction duration (60–120 min), (iii) reagent concentrations (10–100% of the total solution volume) and (iv) pyridine concentration (0–50% of the derivatization reagent). On the basis of RSM and experimental evidence, the optimum derivatization conditions were defined as reaction temperature of 75 °C, reaction duration of 70 min, BSTFA reagent concentration of 55% and pyridine concentration of 35%. The optimized protocol was extended to a broader range of 22 target analytes that are relevant chemical markers, i.e., 15 carboxylic acids and 7 sugars. In addition, the applicability of the optimized procedure was verified in environmental matrices from PM filters collected under different conditions, i.e., different seasons (summer vs. winter), different sampling sites (urban vs. rural), different particle size dimensions (PM<sub>2.5</sub> vs. PM<sub>1</sub>).

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

In recent years there has been increasing interest in the characterization of polar organic constituents in atmospheric particulate samples – including acids, alkanols, aldehydes and sugar derivatives. In particular, short-chain dicarboxylic acids and sugars/sugar alcohols are the two largest groups of identified compounds in fine PM from different sources [1–5]. Because of their ubiquity and abundance, these compounds are potentially useful molecular tracers when trying to determine the source of both anthropogenic and natural aerosols, elucidating emissions, processes and pathways of the organics in atmospheric aerosols [6–22]. Short-chain dicarboxylic acids are emitted directly into the atmosphere by a multiplicity of sources including power plants, vehicular circulation, meat cooking operations and biomass burning [1,4,5,9,12]. They are also produced through the secondary organic aerosol (SOA) formation initiated by photochemical reactions with volatile hydrocarbons of both anthropogenic and biogenic nature. Secondary constituents from both biogenic (e.g., pinonic acid) and anthropogenic precursors (e.g., phthalic and benzoic acids) have been commonly observed in environmental samples [4–8,10,11].

Among the sugars, glucose and fructose may originate from plant pollens, microorganisms, and fragments of plants and animals [2–6,14,15] while arabinol and mannitol have been established as suitable markers for fungal spores [16]. Some sugars may also be produced by hydrolysis of the corresponding anhydrosugars under the acidic atmospheric conditions created when biomass is burned or emitted directly by thermal stripping during wildfires. This is the case of the anhydrosugars levoglucosan, mannosan and galactosan, all formed via pyrolysis of cellulose and hemicellulose and thus highly specific molecular tracers for biomass burning [17–20,22,24].

GC–MS is the most widely applied technique for the characterization of organic aerosols since it yields excellent results in terms of separation, sensitivity and number of species analyzed in the identification and quantification of many compounds [1,3–5,10,12,13,17,19,23–31]. Indeed, multi-residue analytical methodologies, that achieve simultaneous analysis of several compounds, are useful for reducing the complexity and time required for sample preparation and analysis in order to provide a large amount of reliable data on molecular tracers in atmospheric PM samples [1,3–5,12].

Due to their high polarity, hydrophilicity and low volatility, carboxylic acids and saccharides have to be converted into volatilizable and stable derivatives – i.e., trimethylsilyl or acetate derivatives – to allow GC analysis. The silylation procedure using BSTFA

\* Corresponding author. Tel.: +39 0532455152; fax: +39 0532240709.  
E-mail address: [mpc@unife.it](mailto:mpc@unife.it) (M.C. Pietrogrande).

**Table 1**

Retention time values, calibration curve parameters and sensitivity ( $X_{LOD}$  values) of the optimized procedure. The data for the representative target analytes are reported in bold  $X_{LOD}$  (5th column) computed as  $X_{LOD} = 6\sigma_b/b_1$ , where  $b_1$  is the slope of the calibration line,  $X_{LOD}^*$  (6th column) computed as the concentration corresponding to three times the standard deviation of the peak areas generated by blank filters.

	Retention time min	$b_0$	$b_1$	$R^2$	$X_{LOD}$ (ng m <sup>-3</sup> )	$X_{LOD}^*$ (ng m <sup>-3</sup> )
<i>Acids</i>						
Glycolic acid	7.9	0.116 ± 0.06	0.102 ± 0.04	0.995	4.7	2.8
Malonic acid (C3)	13.7	0.03 ± 0.01	0.040 ± 0.001	0.997	2.3	1.4
Maleic acid	18.9	0.00 ± 0.02	0.060 ± 0.002	0.999	2.0	1.1
<b>Succinic acid (C4)</b>	19.6	0.09 ± 0.02	0.083 ± 0.002	0.999	2.2	0.8
<b>Glutaric acid (C5)</b>	24.9	-0.01 ± 0.02	0.070 ± 0.002	0.998	2.5	1.5
Mandelic acid	29.0	-0.01 ± 0.03	0.057 ± 0.003	0.994	5.2	2.7
Malic acid	30.3	0.005 ± 0.009	0.018 ± 0.001	0.994	4.6	2.4
2 hydroxy benzoic acid	30.5	0.009 ± 0.005	0.0316 ± 0.0004	0.994	1.3	0.7
<b>Adipic acid (C6)</b>	30.7	0.02 ± 0.01	0.044 ± 0.002	0.995	2.9	1.5
3 hydroxy benzoic acid	33.7	0.00 ± 0.02	0.094 ± 0.002	0.999	1.7	0.8
Pimelic acid (C7)	36.2	0.00 ± 0.01	0.033 ± 0.001	0.997	3.9	2.0
4 hydroxy benzoic acid	37.1	-0.03 ± 0.03	0.071 ± 0.002	0.997	2.9	1.7
Phthalic acid	41.6	0.02 ± 0.03	0.067 ± 0.002	0.995	3.7	2.2
Suberic acid (C8)	42.3	-0.02 ± 0.02	0.038 ± 0.002	0.995	3.9	2.3
<b>Azelaic acid (C9)</b>	49.6	-0.006 ± 0.009	0.0236 ± 0.0008	0.997	3.2	1.6
<i>Sugars</i>						
Arabinose	38.5	-0.015 ± 0.009	0.0210 ± 0.0009	0.994	3.7	1.9
Mannose	50.3	0.01 ± 0.02	0.033 ± 0.002	0.994	7.0	2.4
Galactose	53.1	-0.003 ± 0.006	0.0122 ± 0.0005	0.996	4.2	2.1
<b>Glucose</b>	59.6	-0.01 ± 0.02	0.039 ± 0.001	0.998	3.1	1.4
<b>Levoglucozan</b>	43.4	0.001 ± 0.001	0.0050 ± 0.0001	0.999	2.5	1.3
Trehalose (mycose)	73.0	0.01 ± 0.02	0.028 ± 0.001	0.995	5.5	2.9
Maltose	73.4	0.004 ± 0.008	0.0125 ± 0.0007	0.994	5.8	3.0

(N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide) as silylation reagent has been widely used to analyze polyacids and sugars/sugar alcohols in PM samples, since it provides the low detection limits ( $\leq 2$  ng m<sup>-3</sup>) and high reproducibility required by environmental monitoring [1,3,4,12,18,23,25–31]. The silylation conditions reported by various authors widely differ, and at times are even contradictory, because these procedures usually focus on analysis of a particular class of compounds, i.e., carboxylic acids or sugars [1–4,15–19,23,24].

This motivates the present study devoted to systematically investigate the derivatization parameters that mostly affect the analytical response – reaction temperature and duration and reagent composition, including silyl agents and pyridine – in order to identify the best operative conditions for the simultaneous GC–MS analysis of several dicarboxylic acids and sugars. The optimized conditions were sought by applying the response surface methodology (RSM) to achieve the highest derivatization yield for the greatest number of polar organics under milder operating conditions [32]. In addition, the experimental limitations of the operative constraints were considered and verified on real samples of PM filters collected under different environmental conditions.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemicals and standard solutions

Reagents used for the derivatization (BSTFA, 1% trimethylchlorosilane and pyridine) were obtained from Aldrich Chemical Co. (Milan, Italy). Dicarboxylic acid and sugar standards were purchased from Fluka/Aldrich/Sigma (Sigma Aldrich, Milan, Italy): a list of all the studied compounds is reported in Table 1. All standards and reagents used were of purity higher than 98%. All solvents were trace analysis grade (from 99.7%) from Sigma Aldrich (Milan, Italy).

Individual stock standard solutions were prepared in methanol for each dicarboxylic acid and sugar investigated at concentrations varying from 10 to 20 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup>. These solutions were diluted serially

– using water obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Vimodrone, Milan, Italy) – to prepare standard solutions at lower concentration levels (0.5–15  $\mu$ g L<sup>-1</sup> for each compound) to compute the calibration curves and investigate the analytical performance of the method. Standard solutions were prepared containing 6 target compounds to represent the classes of dicarboxylic acids – C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub> and C<sub>9</sub> n-dicarboxylic acids – and sugars, glucose and levoglucozan.

The derivatizing agents, as well as the individual and composite standard solutions, were stored at 4 °C.

### 2.2. Silylation procedure

The derivatization protocol was based on the one reported in detail elsewhere [27]. The sample was transferred into a 1.5-mL tube, the solution evaporated to dryness; then different volumes of BSTFA plus 1% trimethylchlorosilane (TMCS) (10–100  $\mu$ L) and pyridine (0–50  $\mu$ L) were added to different volumes of iso-octane to obtain a total volume of 100  $\mu$ L; finally, 5  $\mu$ L of n-hexadecane (1500 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> concentration in iso-octane) were added to each sample, as an injection internal standard. The tube was sealed with a Teflon-coated cap and the reaction to form trimethylsilyl (TMS) derivatives was performed varying the temperature (50–90 °C) and the duration time (60–120 min). Then 2  $\mu$ L of the sample was injected into the GC–MS system.

### 2.3. GC–MS analysis

The GC–MS system was a Scientific Focus–GC (Thermo–Fisher Scientific, Milan, Italy) coupled with PolarisQ Ion Trap Mass Spectrometer (Thermo–Fisher Scientific, Milan, Italy). The column used was a DB-5 column ( $L = 30$  m, I.D. = 0.25 mm,  $df = 0.25$   $\mu$ m film thickness; J&W Scientific, Rancho Cordova, CA, USA). High purity helium was the carrier gas with a velocity of 1.5 mL min<sup>-1</sup>.

Temperature program conditions were optimized for analysis of a wide range of targets (retention times in Table 1, 1st column): an initial temperature of 75 °C (held for 5 min) was raised to 135 °C at 2 °C min<sup>-1</sup>, followed by an isothermal hold for 3 min; after that,

the temperature was increased to 180 °C at 2 °C min<sup>-1</sup>, then further raised to 300 °C at 7 °C min<sup>-1</sup>. All samples were injected in splitless mode (splitless time: 60 s); the injector temperature was 250 °C.

The mass spectrometer operated in Electron Ionization mode (positive ion, 70 eV). Ion source and transfer-line temperatures were 250 °C and 280 °C, respectively. The mass spectra were acquired in full scan mode from 50 to 650 *m/z* in 1 s. In addition to total ion chromatograms (TIC), the selected-ion monitoring (SIM) mode was used to quantify the target analytes by selecting either the base peak ion or one of the most abundant characteristic fragments. For dicarboxylic acids, the most abundant ions with *m/z* = 147 and *m/z* = 149 differentiate compounds bearing –COOH from other classes of organics and a specific fragment of *m/z* = 193 was acquired for salicylic acid. Though sugar derivatives with BSTFA produce a lot of fragments which makes interpretation of the mass spectrograms quite difficult, fragments with *m/z* = 204, 217 and 191 (for monosaccharides), 204, 217 and 333 (for anhydrosaccharides), 191, 204 and 205, 217, 361, and 417 (for disaccharides) allow quantification of sugars in SIM mode [26,29]. In this paper, SIM detection at *m/z* = 204 and *m/z* = 333 was selected, respectively, for glucose and levoglucosan while detection was performed at *m/z* = 204 + 361 for the extended range of sugars.

To obtain reliable and reproducible quantitative data, the internal standard method was used: hexadecane was added as an injection IS (injected quantity: 150 ng) and acquired in SIM mode at *m/z* = 57 + 71 + 85 (retention time, 38.2 min). All determinations were carried out at least in duplicate and values were averaged and given with their standard deviation (±SD).

#### 2.4. Validation parameters of the GC–MS method

The method linearity and sensitivity were investigated by computing the calibration curves using multicomponent standard solutions (acids and sugars at concentration levels of 0.5–15 ng μL<sup>-1</sup> for each compound). These quantity values were also translated into air volume concentrations (0.9–27 ng m<sup>-3</sup>) by assuming the analysis of one filter collected over 24 h by a low-volume sampler (55 m<sup>3</sup> air volume). Each point on the curve, expressed as peak area ratio  $A_a/A_{IS}$ , was obtained as the average of three replicated measurements. The regression parameters were computed by the least-squares method: the intercept values were verified as statistically equal to zero by computing the 95% two-sided confidence interval for each intercept value ( $b_0$ ) and applying the *t*-test at 5% of significance.

For each target compounds, detectability was assessed by establishing the detection limit  $X_{LOD}$  computed as the analyte concentration yielding a signal value  $Y_{LOD} = \bar{y}_b + 6\sigma_b$ , where  $\bar{y}_b$  is the blank average signal of 10 blank responses and  $\sigma_b$  its standard deviation. This  $X_{LOD}$  value corresponds to a 0.13% probability that the blank signal will be misinterpreted and that the compound may be lost [32]. The detection limit was computed as  $X_{LOD} = 6\sigma_b/b_1$ , where  $b_1$  is the slope of the calibration line.

#### 2.5. Experimental design

In the present work a central composite design (CCD) was used for analyzing and modeling the effects of the derivatization variables for optimizing the response. A two-level, 2<sup>4</sup> full-factorial experimental design was used: in this way, the interactions of parameters and the curvature among experimental variables were studied and, therefore, a real optimum was achieved [32,33].

Multiple regression analysis was performed on the experimental data using the least squares method to identify the mathematical model describing the response surface.

The MATLAB™ 7.5.0 software program was used for the optimization study including the response surface methodology (RSM) and central composite design (CCD).

#### 2.6. Extraction of PM filters

The PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>1</sub> samples were collected on a precombusted quartz fiber filter (20 cm × 25 cm) with an automatic outdoor station consisting of a low volume sampler (Skypost PM, TCRTECOR Instruments, Corsico, Milan, Italy) operating at a flow rate of 38.3 L min<sup>-1</sup> for 24 h. The samples were collected in summer (June and July 2008) and winter (January and February 2009) in different sampling sites in and around Bologna (Northern Italy): rural, mixed and urban areas.

Filter samples were extracted for 30 min in an ultrasonication bath with pure Milli Q water (3 × 10 mL) and then the extract aliquots were combined and filtered using a glass fiber filter (42.5 mm, GF Grade, Whatman, Maidstone, UK) to remove insoluble particles. The filtrate was then evaporated completely using a stream of high-purity nitrogen. Procedural blanks were run in order to monitor significant background interferences in environmental samples.

To compare different derivatization conditions, two PM samples with the same chemical composition were obtained by pooling the extracts of two PM filters and then dividing the sample into two parts corresponding to PM amount of one filter (PM<sub>I</sub> and PM<sub>II</sub>, PM<sub>III</sub> and PM<sub>IV</sub>).

### 3. Results and discussion

The silylation reagent BSTFA, with addition of TMCS as a catalyst, converts the hydroxylic and carboxylic groups into their corresponding trimethylsilyl ether or ester derivatives; the substitution reaction is promoted by pyridine that acts as an acceptor to yield one main product with high conversion efficiency [1,25]. BSTFA is the reagent of choice for sugars, because steric hindrance lowers analytical responses or inhibits derivatization using other silylation reagents [26].

Starting from the previously developed procedure [27], the parameters that most greatly affected analytical response were optimized: reaction temperature, duration and reagent composition, including silyl agents and pyridine. Each independent variable was investigated at three levels, –1, 0 and 1, inside the exploited domain defined by the limits chosen on the basis of the experimental constraints as well as data from the literature (the coded values of independent variables are given in Table 2) [1,3,8,14,15,23–27]. The limits were 50–90 °C for reaction temperature, 60–120 min for reaction duration. The derivatization reagent concentration varied from 10% to 100%, expressed as volume relative % of the total reaction volume of 100 μL (corresponding to 10–100 μL of added reagent) and pyridine concentration varied in the 0–50% range, expressed as volume relative % of the derivatization reagent volume (corresponding to 0–50 μL of added pyridine). A four-factors, three-level Central Composite design with a quadratic model was employed [32]. It generates a total 30 different combinations (including six replicates of the center point) that were experimentally measured in duplicate in random order.

To describe the response surface, the experimental data were fitted by a second polynomial equation containing quadratic terms explaining the non-linear nature of the response, according to the general equation:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_1X_2 + b_6X_1X_3 + b_7X_1X_4 + b_8X_2X_3 + b_9X_2X_4 + b_{10}X_3X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{12}X_2^2 + b_{13}X_3^2 + b_{14}X_4^2 \quad (1)$$

**Table 2**

Data of the central composite design: coded values of the independent variables investigated with 24 full-factorial design and optimized values estimated for each variable.

Independent variables	Code units	Coded variable levels	Optimized values
Temperature (°C), $X_1$	-1, 0, 1	50°C, 70°C, 90°C	75°C
Time (min), $X_2$	-1, 0, 1	60 min, 90 min, 120 min	70 min
Derivatization Reagents %, $X_3$	-1, 0, 1	10%, 55%, 100%	55%
Pyridine Concentration %, $X_4$	-1, 0, 1	0%, 25%, 50%	35%

where,  $Y$  is the studied response;  $X_1$  and  $X_2$  are the variables indicating the reaction temperature and duration, respectively,  $X_3$  the concentration of silyl reagents and  $X_4$  the pyridine composition. The coefficient  $b_0$  is the response mean value,  $b_1$ – $b_4$  the parameters of the isolated variables,  $b_{11}$ – $b_{14}$  those of the interaction and  $b_{11}$ – $b_{14}$  the quadratic terms of the studied variables.

### 3.1. Multivariate optimization on target compounds

Three different models have been investigated by selecting acids (A) or sugars (S) separately or including both the compound classes (AS). The total peak area ( $A_i/A_S$  relative to IS) was chosen as response function to represent the cumulative signal of all the compounds that can be simultaneously determined: it was computed as the sum of the peak area of each compound (at 10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  concentration level) included in the model and was normalized to its maximum value, thus making the response surface independent of the number of investigated compounds.

The results were fitted by equation 1 (coefficient values in Table 3) and a statistical evaluation of the estimate of the parameters was made by using the Student's  $t$ -test: parameters with significance levels ( $p$ ) lower than 5% were considered relevant (bold numbers in Table 3) [32]. The  $R^2$  and calculated  $F$  values – in comparison with fixed  $F$  parameters – were used to verify the significance or not of the model. Finally, the goodness-of-fit statistics are described by the root mean squared error ( $rmse$ ) in order to estimate standard error and the mean squared error ( $sse$ ) to evaluate the sum of squares due to error [32]. Although the coefficients of determination are low ( $R^2 \approx 0.6$ ), the  $p$  values – i.e., statistically significant fit with  $p < 0.1$  for the three models – and the low  $sse$  and  $rmse$  values implied that the equations found can adequately predict the experimental results (Table 3, 16th–20th rows).

**Table 3**

Coefficients and statistical parameters of second-order polynomial equations calculated on experimental results from CCD models implemented for acids (A), sugars (S), and their combination (AS). Statistically significant factors are shown in bold print.

	Acids (A)	Sugars (S)	Acids and sugars (AS)
$b_0$	2.13	2.25	4.24
$b_1$ ( $X_1$ )	-0.31	0.26	-0.05
$b_2$ ( $X_2$ )	<b>-0.52</b>	<b>-1.17</b>	<b>-1.68</b>
$b_3$ ( $X_3$ )	<b>0.66</b>	<b>0.94</b>	<b>1.59</b>
$b_4$ ( $X_4$ )	<b>0.45</b>	<b>0.03</b>	<b>0.49</b>
$b_5$ ( $X_1, X_2$ )	0.72	-0.29	0.43
$b_6$ ( $X_1, X_3$ )	0.38	0.61	1.00
$b_7$ ( $X_1, X_4$ )	0.08	0.76	0.85
$b_8$ ( $X_2, X_3$ )	-0.65	-0.67	-1.33
$b_9$ ( $X_2, X_4$ )	-0.04	-0.76	-0.81
$b_{10}$ ( $X_3, X_4$ )	-0.18	0.23	0.05
$b_{11}$ ( $X_1^2$ )	-0.03	<b>-1.35</b>	<b>-1.33</b>
$b_{12}$ ( $X_2^2$ )	-0.01	-1.19	-1.16
$b_{13}$ ( $X_3^2$ )	-0.14	0.21	0.11
$b_{14}$ ( $X_4^2$ )	<b>-0.74</b>	0.31	<b>-0.44</b>
$R^2$	0.69	0.59	0.73
$p$	0.006	0.05	0.001
$F$	3.38	2.17	4.17
$rmse$	0.18	1.05	0.90
$sse$	3.76	22.1	18.9

To better visualize the effect that each parameter displays on the derivatization yield, the fitted models were plotted separately as a function of a single variable between its low and high boundary levels, holding all other factors at a fixed level (center levels) (Fig. 1). The direction of the line slope gives the direction of the effect of each parameter and the slope is proportional to this effect: in fact, the higher the slope, the greater the influence.

For each class of compounds, the two parameters describing reaction temperature and time (variables  $X_1$  and  $X_2$ ) display similar effects on the response (parameters of  $X_1$  and  $X_4$  in Table 3). For acids, a linear, slightly negative effect is seen suggesting that acid derivatization is favored by decreasing these parameters; on the other hand, a parabolic pattern was found for sugars where the highest response occurred close to the center level for temperature ( $X_1 = 0.2$ , Fig. 1a) and at  $X_2 = -0.6$  for reaction time (Fig. 1b). This sugar pattern prevails when the two classes of compounds are investigated simultaneously (Figs. 1a and b, bold line).

The combination of the two effects can be investigated by reporting the response in a 3-dimensional plot (3D) as a function of both factors at one time (all other factors at center levels) (plot reported in Fig. 2a). The plot (AS model) clearly shows that the derivatization response can be maximized by selecting the parameter values within the maximum region, i.e., a reaction temperature of 75°C and duration of 70 min.

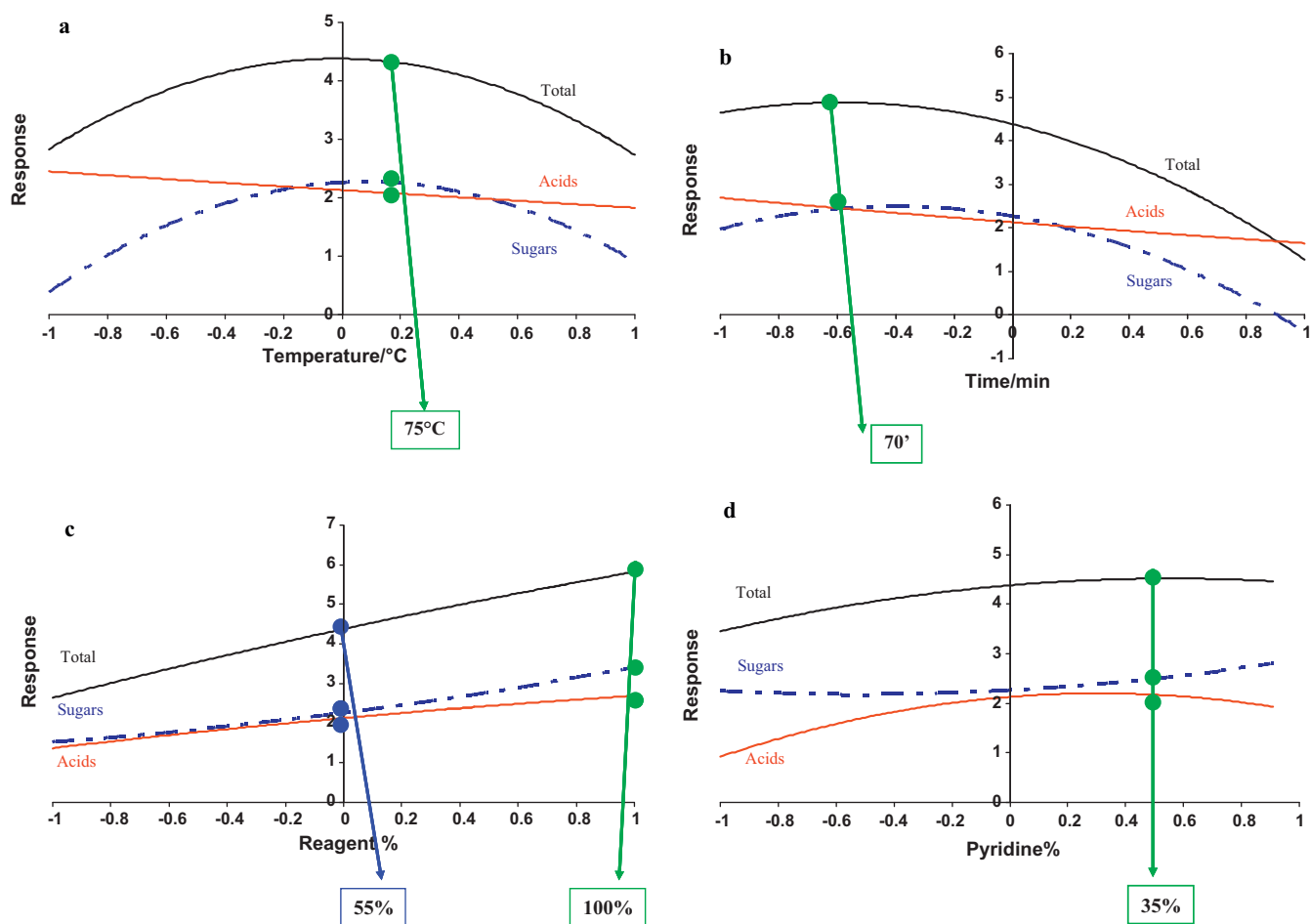
Regarding the effect of silyl reagent concentration (parameters of  $X_3$  variable in Table 2), it is apparent that increasing the concentration brought about a slight linear increase in derivative yield, for both acid and sugar compounds, so that the maximum response is obtained at 100% value (Fig. 1c).

The pyridine reagent concentration (coefficients of  $X_4$  variable in Table 3) displayed a weak effect on sugar response, with a maximum close to the upper boundary of the exploited experimental domain, and a parabolic effect on acid yield with the maximum at concentration values close to the center value (Fig. 1d). The combination of the two behaviors generates a parabolic pattern with a maximum at 35% concentration, when the two classes of compounds are investigated simultaneously (Figs. 1d, bold line).

The interacting effect of BSTFA and pyridine concentrations can be understood in the 3-dimensional plots (3D) of these two factors at a time, holding reaction time and temperature fixed at center levels (plots reported in Figs. 2b and c). The highest BSTFA concentration maximizes the derivative yield for both the classes but under different pyridine concentration conditions: a level close to the center value for acids (Fig. 2b) and close to upper boundary for sugars (Fig. 2c).

In searching for the best silyl concentration, attention must be paid to concomitant drawbacks generated by the addition of large quantities of the silylation reagent. The first problem is the possible formation of additional derivatives or artifacts that yield the GC signals more complex, since most of the obtained byproducts show the fragmentation pattern of the TMS ether and ester groups [8,23,25,34]. In addition, the presence in the injected sample of some unreacted chemicals bearing reactive groups may be unsafe for the GC apparatus reducing the GC system performance and shortening the life of the GC column [25,26]. To limit both these drawbacks the value 55% of the center of the experimental domain was selected as optimum BSTFA concentration, since it guarantees





**Fig. 1.** Reaction response plotted as a function of a single variable, set between its lower and upper boundaries (other parameters constant at their center levels). Three fitted models (Eq. (1)) are reported: acids (bold line), sugars (dotted line) and their combination (solid line). (a) Effect of the reaction temperature ( $X_1$ ); (b) effect of reaction time ( $X_2$ ); (c) effect of silylation reagent concentration ( $X_3$ ); (d) effect of pyridine concentration ( $X_4$ ).

a high reaction yield for acids and sugars while still ensuring mild GC analysis conditions (Fig. 1c).

In conclusion, on the basis of RSM and experimental evidence, the optimum conditions for the derivatization reaction of all the compounds were defined as: reaction temperature: 75 °C, reaction duration: 70 min, BSTFA reagent concentration: 55% and pyridine concentration: 35% (Table 2, 3rd column).

### 3.2. Comparison of the optimized conditions with literature data

A comparative study has been performed to validate the choice of the optimized conditions in comparison with literature data.

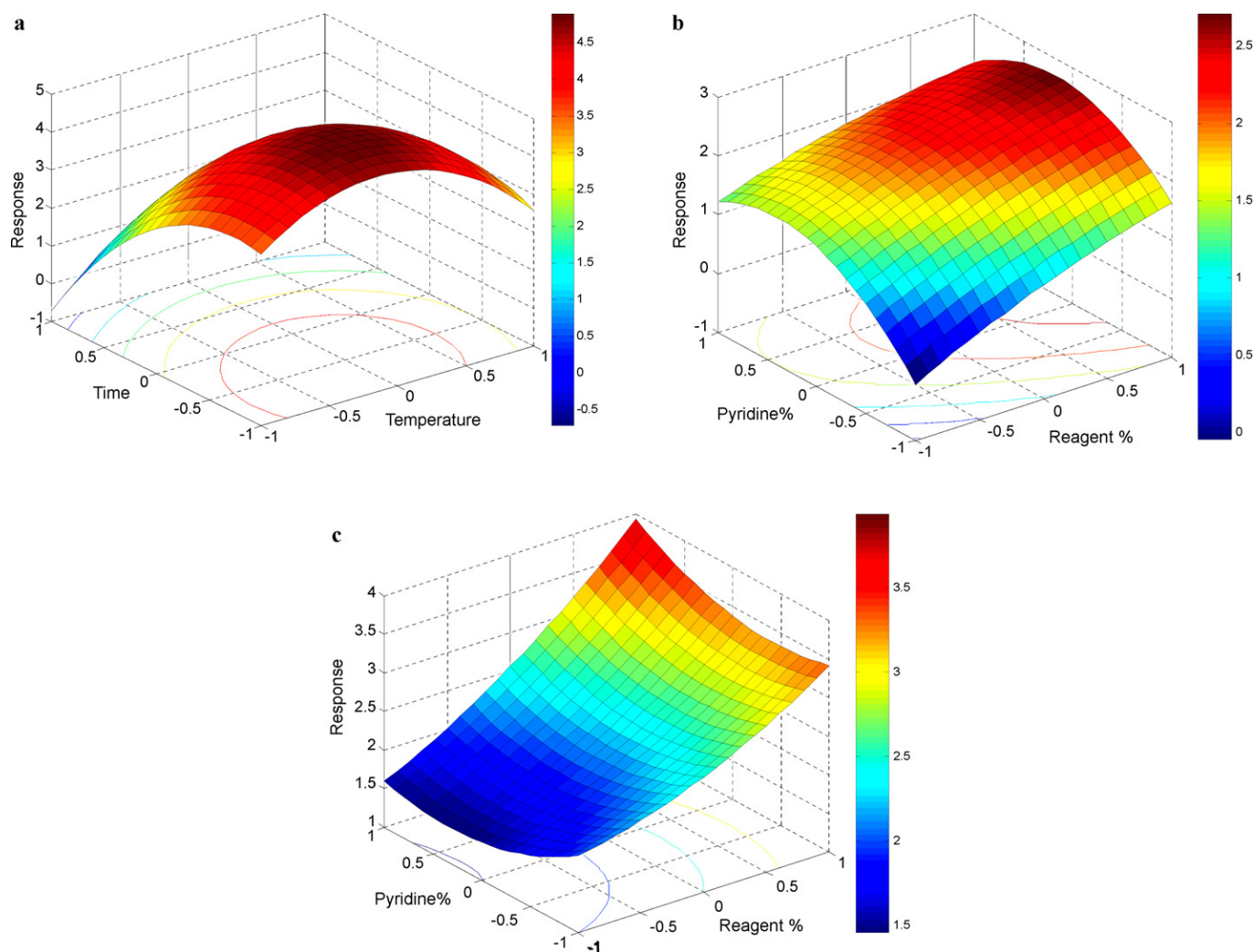
Blank filter (quartz fiber) samples were doped with a solution containing the target representative compounds ( $C_4, C_5, C_6$  and  $C_9$  n-dicarboxylic acids, glucose and levoglucosan) at a concentration level of  $10 \text{ ng m}^{-3}$  (translated into air volume concentrations by assuming filters collected by a low-volume sampler). The samples were derivatized using the optimized conditions (Table 2, 3rd column, sample A) and the most used literature methods, corresponding to a reaction temperature of 70 °C for a duration time of 2 h (sample B) [23] and 3 h (sample C) [1,3,25,31]. For each target compound, the GS-MS response ( $A_d/A_S$ ) was compared with the response obtained using the optimized conditions (sample A). The results obtained show that all the investigated procedures display very similar derivatization yield (Table 4, 1st–2nd columns), thus

confirming that the results of the RSM approach correspond to the best reaction conditions.

In addition, the optimized procedure was experimentally validated on real matrices obtained from PM filters. Two samples properly prepared to assure the same chemical composition (PM<sub>I</sub> and PM<sub>II</sub>, see section 2.6) were submitted to derivatization using BSTFA concentration of 55% (PM<sub>I</sub> sample) and 100%, i.e., the upper level suggested by RSM optimization (PM<sub>II</sub> sample). In order to check the reliability of the selection of the mild condition of 55% for BSTFA%, the reaction yields obtained under different derivatization conditions were compared using the SIM signals (data in Table 4, 3rd column): the obtained values show that the chosen BSTFA concentration significantly increases the reaction response for glucose (+78%) and still preserves a good response for other compounds, under adequate GC analysis conditions.

In order to investigate the real improvement achieved by the present study over the previously reported method [27], two samples with the same chemical composition (PM<sub>III</sub> and PM<sub>IV</sub>) were submitted to derivatization using the optimized conditions (PM<sub>III</sub>) and the literature values (PM<sub>IV</sub>). The comparison between the obtained data confirms the excellent improvement in the response for sugars, in particular glucose, while still ensuring a slight improvement in the response for acids (data in Table 4, 4th column).

Therefore, the experimental evidence confirms the optimum derivatization conditions identified by the RSM approach.



**Fig. 2.** 3D surface plots showing the interacting effects of two derivatization parameters (other parameters constant at their center level) on derivatization yield. (a) Interacting effects of reaction time and temperature ( $X_1$  and  $X_2$  variables) on derivatization yield for all target compounds (AS model); (b) interacting effects of silyl reagents and pyridine concentrations ( $X_3$  and  $X_4$  variables) on acid derivatization yield (A model); (c) interacting effects of silyl reagents and pyridine concentrations ( $X_3$  and  $X_4$  variables) on sugar derivatization yield (S model).

### 3.3. Evaluation of the analytical performance

The analytical performance of the optimized procedure has been evaluated on standard mixtures containing the representative compounds ( $C_4$ ,  $C_5$ ,  $C_6$  and  $C_9$  n-dicarboxylic acids, glucose and levoglucosan).

The reliability for quantitative determination was investigated by computing the calibration curves using multicomponent standard solutions (data reported in bold in Table 1). The results show a very good correlation  $R^2 \geq 0.99$  (Table 1, 4th column). To compute the detection limit values, in addition to the rigorous procedure

yielding  $X_{LOD} = 6\sigma_b/b_1$  ( $X_{LOD}$ , Table 1, 5th column), a common, more conservative method was used to estimate  $X_{LOD}$  as the concentration that corresponds to three times the standard deviation of the peak areas generated by blank filters ( $X_{LOD}^*$ , Table 1, 6th column). The LODs computed for these compounds varied from 0.8 to  $3.0 \text{ ng m}^{-3}$ .

The reproducibility and extraction efficiency of the analytical procedure were evaluated by analyzing three replicates of blank filter samples doped with a mixture of representative target standards at two different concentrations (5 and  $10 \text{ ng m}^{-3}$ ).

**Table 4**

Validation of the optimized conditions by comparison with different reaction conditions. The relative variation of reaction response (peak area ratio  $A_A/A_{IS}$ ) was computed by comparison with the signal obtained under the optimized conditions. Samples A–C: blank filters doped with standard target compounds; sample A: conditions optimized in the present paper; sample B: reaction temperature of  $70^\circ\text{C}$  for 2 h, sample C: reaction temperature of  $70^\circ\text{C}$  for 3 h. PM<sub>I</sub> and PM<sub>III</sub> samples: optimized derivatization conditions; PM<sub>II</sub>: BSTFA concentration of 100%; PM<sub>IV</sub>: derivatization conditions of the previously reported method [27].

Target compounds	B (2 h) vs. A (this paper)	C (3 h) vs. A (this paper)	PM <sub>I</sub> vs. PM <sub>II</sub>	PM <sub>IV</sub> vs. PM <sub>III</sub> .
Succinic acid	–1%	–1%	0%	+5%
Glutaric acid	–2%	–3%	–9%	+7%
Adipic acid	–3%	–3%	–10%	+3%
Azelaic acid	–4%	–4%	–3%	–6%
Glucose	4%	5%	+78%	+1400%
Levoglucosan	3%	4%	–1%	+500%

**Table 5**

Evaluation of the analytical performance of the optimized procedure for standard solutions of representative target compounds: recovery from spiked blank filters, at concentration levels of 5 and 10 ng m<sup>-3</sup>; intra-day and inter-day precision (Relative Standard Deviation RSD% from triplicate measurements).

Target compounds	Spiked concentration (ng m <sup>-3</sup> )	Measured concentration (ng m <sup>-3</sup> )	Recovery%	Intra-day RSD%	Inter-day RSD%
Succinic acid	5	4.6 ± 0.6	92	13	15
	10	9.4 ± 0.8	94	8	9
Glutaric acid	5	4.8 ± 0.5	95	10	11
	10	9.6 ± 0.6	96	6	7
Adipic acid	5	4.8 ± 0.5	96	9	11
	10	9.8 ± 0.5	98	5	6
Azelaic acid	5	4.9 ± 0.4	98	8	10
	10	9.9 ± 0.5	99	5	6
Glucose	5	4.8 ± 0.4	97	8	9
	10	9.9 ± 0.4	99	4	6
Levoglucosan	5	4.9 ± 0.5	99	9	10
	10	10 ± 0.5	101	5	6

The reproducibility was assessed through the relative standard deviation (RSD%) of the triplicate measurements performed in the same day (intra-day RSD%, Table 5, 4th column) or in three consecutive days (inter-day RSD%, Table 5, 5th column). The intra-day reproducibility ranged from approximately 4 to 13%, with generally higher RSD values at lower concentrations, demonstrating satisfactory reproducibility of the analytical method.

The extraction efficiencies of the analytes were determined by comparing the peak areas of the spiked samples after all analytical steps with those of the corresponding standard mixture solution (Table 5, 1st–3rd columns). Good recoveries were obtained, since they varied from 92 to 101% among the different compounds.

These values demonstrated that the developed method achieves analytical performance comparable to that reported by various authors using longer reaction duration, up to 2 or 3 h [3,18,23,25,28,31].

### 3.4. Extension to additional acids and sugars

The optimized procedure was extended to a broader range of 22 target analytes that are mainly relevant in environmental monitoring of PM samples. The extended list included glycolic, maleic, mandelic, malic, 2-, 3- and 4- hydroxyl benzoic and phthalic acids, in addition to the dicarboxylic C<sub>3</sub>–C<sub>9</sub> acids, and 5 more sugars – arabinose, mannose, galactose, trehalose (mycose) and maltose – that have been commonly observed in environmental samples [3–5,14–16].

For all these analytes the analytical performance of the GC–MS method was tested by computing the calibration curves using multicomponent standard solutions (data reported in Table 1). The obtained results show that the procedure allows detection of all the studied analytes with good sensitivity – no matter what the acid's molecular weight – given that it achieves low  $X_{LOD}$  values at 2 ng m<sup>-3</sup> level in the sampled air, by assuming the unfavorable condition of a low-volume sampler collection (55 m<sup>3</sup> air volume).

**Table 6**

Concentration values of acid and sugars in environmental PM matrices: filters were collected in summer and winter (February 2009) with different size dimensions (PM<sub>2.5</sub> vs. PM<sub>1</sub>) in different sites (urban, rural and mixed).

	Summer 2008		Winter 2009					
	Mixed PM <sub>2.5</sub> PM <sub>I</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Mixed PM <sub>2.5</sub> PM <sub>III</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Mixed PM <sub>2.5</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Mixed PM <sub>1</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Urban PM <sub>2.5</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Urban PM <sub>1</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Urban background PM <sub>2.5</sub> (ng m <sup>-3</sup> )	Rural PM <sub>2.5</sub> (ng m <sup>-3</sup> )
<i>Acids</i>								
Malonic	3.1 ± 0.5	3.3 ± 0.5	2.0 ± 0.5	3.0 ± 0.5	4.3 ± 0.5	3.8 ± 0.5	3.1 ± 0.5	2.5 ± 0.5
Succinic	3.0 ± 0.6	3.1 ± 0.6	12.7 ± 0.3	5.0 ± 0.3	18.9 ± 0.3	5.3 ± 0.3	3.9 ± 0.3	13.7 ± 0.3
Glutaric	4.2 ± 0.9	1.5 ± 0.7	9.0 ± 0.6	8.7 ± 0.5	14.7 ± 0.5	7.8 ± 0.5	9.9 ± 0.5	11.5 ± 0.5
Adipic	8.1 ± 0.8	1.1 ± 0.5	6.9 ± 0.5	5.5 ± 0.5	7.9 ± 0.5	7.4 ± 0.5	8.3 ± 0.5	5.5 ± 0.5
Pimelic	11 ± 1	4.1 ± 0.6	3.2 ± 0.6	4.6 ± 0.6	11.0 ± 0.6	3.4 ± 0.6	5.1 ± 0.6	7.7 ± 0.6
Suberic	5.0 ± 0.8	5.2 ± 0.8	6.0 ± 0.8	7.0 ± 0.8	13.3 ± 0.9	3.0 ± 0.9	5.7 ± 0.8	7.2 ± 0.8
Azelaic	12.9 ± 0.9	5.9 ± 0.9	7.1 ± 0.6	5.0 ± 0.6	12.7 ± 0.6	4.2 ± 0.6	4.6 ± 0.6	9.7 ± 0.6
Glycolic	8 ± 1	8 ± 1	14 ± 1	13 ± 1	17 ± 1	6 ± 1	14 ± 1	16 ± 1
Maleic	<LOD	<LOD	3 ± 1	4 ± 1	7 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	6 ± 1
Malic	3.3 ± 0.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mandelic	<LOD	<LOD	1.8 ± 0.4	1.1 ± 0.5	2.6 ± 0.4	1.1 ± 0.5	2.2 ± 0.4	2.5 ± 0.4
Phthalic	7 ± 1	<LOD	13.6 ± 0.8	<LOD	26 ± 1	13.7 ± 0.8	4.9 ± 0.8	10.8 ± 0.8
2 hydroxy benzoic	<LOD	<LOD	2.2 ± 0.3	2.0 ± 0.3	6.7 ± 0.3	1.5 ± 0.3	2.8 ± 0.3	1.8 ± 0.3
3 hydroxy benzoic	2.2 ± 0.9	<LOD	0.8 ± 0.3	1.3 ± 0.3	2.6 ± 0.3	<LOD	1.5 ± 0.3	1.1 ± 0.3
4 hydroxy benzoic	2.0 ± 0.8	<LOD	1.7 ± 0.6	1.8 ± 0.7	3.9 ± 0.6	<LOD	2.3 ± 0.6	2.0 ± 0.6
<i>Sugars</i>								
Arabinose	5.7 ± 0.7	7.7 ± 0.6	2.0 ± 0.7	1.9 ± 0.7	5.2 ± 0.7	<LOD	2.3 ± 0.7	2.6 ± 0.7
Maltose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Glucose	4.1 ± 0.5	5.0 ± 0.5	<LOD	<LOD	5.7 ± 0.8	<LOD	<LOD	<LOD
Galactose	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1.7 ± 0.6	<LOD	<LOD	<LOD
Mycose	<LOD	<LOD	3 ± 1	<LOD	3 ± 1	<LOD	<LOD	<LOD
Maltose	5 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	16 ± 1	13 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	47 ± 3
Levoglucosan	1950 ± 5	2200 ± 5	93 ± 2	77 ± 2	254 ± 5	64 ± 1	118 ± 2	104 ± 2

### 3.5. Application to PM filters

The applicability of the optimized procedure was verified on real PM filters representing aerosol samples with varying compositions: different size dimensions ( $PM_{2.5}$  vs.  $PM_1$ ) collected in different seasons (summer 2008 and winter 2009) in different sites (urban vs. rural). The derivatization procedure made it possible to identify several dicarboxylic acids and sugars at concentration levels higher than  $X_{LOD}$  values and quantify them using the calibration curves reported in Table 1.

The obtained results (Table 6) show that in all samples, the most concentrated compound is levoglucosan, as it was to be expected, since it is the most abundant saccharide in the atmosphere as the major by-product from biomass burning [3,15,17–20]. In addition, other molecular tracers were quantified at the concentration values commonly observed in environmental samples, even some at the low concentration levels found in winter when vegetation is less active. The most abundant compounds were: azelaic acid, marker of biogenic secondary aerosol [4–6]; adipic, hydroxy benzoic and phthalic acids, tracers of anthropogenic secondary aerosol [3,9,10]; glucose and mycose, key molecular markers of soil resuspension [3,14]; and arabinose, galactose and maltose, indicators of primary emissions from biogenic sources [3–5,14–16].

### 4. Conclusions

These results confirm that the reaction conditions optimized using the RSM approach, make the BSTFA derivatization a suitable method for the simultaneous GC–MS analysis of a wide range of polar organic compounds, such as low molecular-weight dicarboxylic acids and sugars. In particular, this procedure provides low detection limits ( $\leq 2 \text{ ng m}^{-3}$ ) and satisfactory reproducibility ( $\text{RSD}\% \leq 13\%$ ) which makes it suitable for environmental analysis. The method has been successfully applied to aerosol monitoring, even in the unfavorable condition of a low-volume air sampling, to achieve a multi-residue analysis of several water-soluble compounds that are potentially useful in elucidating sources, processes and pathways of biologically important organic materials in natural environments.

### Acknowledgements

The authors thank F. Dondi and L. Pasti (Department of Chemistry, University of Ferrara) for the fruitful discussion and suggestions.

This work was in part financially supported by the Monitor project of the Environment Agency of Emilia Romagna region (ARPAER). The authors thank personnel of ARPAER for their support in providing the PM filters.

### References

- [1] C. Oliveira, C. Pio, C. Alves, M. Evtugina, P. Santos, V. Gonc-alves, T. Nunes, A.J.D. Silvestre, F. Palmgren, P. Wahlin, S. Harrad, *Atmos. Environ.* 41 (2007) 5555.
- [2] C. Alves, C. Pio, A. Carvalho, C. Santos, *Chemosphere* 63 (2006) 153.
- [3] X. Bi, B.R.T. Simoneit, G. Sheng, S. Ma, J. Fu, *Atmos. Res.* 88 (2008) 256.
- [4] I. Kourtchev, J. Warnke, W. Meinhart, T. Hoffmann, M. Claeys, *Chemosphere* 73 (2008) 1308.
- [5] E. von Schneidmesser, J.J. Schauer, G.S.W. Hagler, M.H. Bergin, *Atmos. Environ.* 43 (2009) 4155.
- [6] M. Lewandowski, M. Jaoui, J.N. Offenberg, T.E. Kleindiest, E.O. Edney, R.J. Sheesley, J.J. Schauer, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 3303.
- [7] J.L. Collet, P. Herckes, S. Youngster, T. Lee, *Atmos. Res.* 87 (2008) 232.
- [8] R. Fisseha, M. Dommen, D. Paulsen, M. Kalberer, R. Maurer, F. Hofler, E. Weingartner, U. Baltensperger, *Anal. Chem.* 76 (2004) 6535.
- [9] K.F. Ho, S.C. Lee, J.J. Cao, K. Kawamura, T. Watanabe, Y. Cheng, J.C. Chow, *Atmos. Environ.* 40 (2006) 3030.
- [10] H. Wang, K. Kawamura, K.F. Ho, S.C. Lee, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 6255.
- [11] L. Yang, M.B. Ray, L.E. Yu, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 868.
- [12] W. Wang, M.H. Wu, L. Li, T. Zhang, X.D. Liu, J.L. Feng, H.J. Li, Y.J. Wang, G.Y. Sheng, M. Claeys, J. Fu, *Atmos. Chem. Phys.* 8 (2008) 7507.
- [13] B. Graham, O. Mayol-Bracero, P. Guyon, G.C. Roberts, S. Decesari, M.C. Facchini, P. Artaxo, W. Maenhaut, P. Koll, M.O. Andreae, *J. Geophys. Res.* 107 (2002) 8047.
- [14] B.R.T. Simoneit, V.O. Elias, M. Kobayashi, K. Kawamura, A.I. Rushdi, P.M. Medeiros, W.F. Rogge, B.M. Didyk, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 5939.
- [15] P. Medeiros, M.H. Conte, J.C. Weber, B.R.T. Simoneit, *Atmos. Environ.* 40 (2006) 1694.
- [16] H. Bauer, M. Claeys, R. Vermeylen, E. Schueller, G. Weinke, A. Berger, H. Puxbaum, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 588.
- [17] C. Schmidl, H. Bauer, A. Dattler, R. Hitznerberger, G. Weissenboeck, I.L. Marr, H. Puxbaum, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 9070.
- [18] T. Zhang, M. Claeys, H. Cachier, S. Dong, W. Wang, W. Maenhaut, X. Liu, *Atmos. Environ.* 42 (2008) 7013.
- [19] Y.I. Tsai, P.L. Wu, Y.T. Hsu, C.R. Yang, *Atmos. Environ.* 44 (2010) 3708.
- [20] M. Mochida, K. Kawamura, P.Q. Fu, T. Takemura, *Atmos. Environ.* 44 (2010) 3511.
- [21] E.C.H. Wan, J.Z. Yu, *J. Chromatogr. A* 1107 (2006) 175.
- [22] Y. Iinuma, G. Engling, H. Puxbaum, H. Herrmann, *Atmos. Environ.* 43 (2009) 1367.
- [23] M. Jaoui, T.E. Kleindienst, M. Lewandowski, E.O. Edney, *Anal. Chem.* 76 (2004) 4765.
- [24] G. Schkolnik, Y. Rudich, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 26.
- [25] P.M. Medeiros, B.R.T. Simoneit, *J. Chromatogr. A* 1141 (2007) 271.
- [26] C. Schummer, O. Delhomme, B.M.R. Appenzeller, R. Wennig, M. Millet, *Talanta* 77 (2009) 1473.
- [27] M.C. Pietrogrande, D. Bacco, M. Mercuriali, *Anal. Bioanal. Chem.* 396 (2010) 877.
- [28] A. Hoffer, A. Gelencser, M. Blazso, P. Guyon, P. Artaxo, M.O. Andreae, *Atmos. Chem. Phys.* 8 (2006) 3505.
- [29] Z. Fuzfai, I. Boldizsar, I. Molnar-Perl, *J. Chromatogr. A* 1177 (2008) 183.
- [30] X. Ding, M. Zheng, L. Yu, X. Zhang, R.J. Weber, B. Yan, A.G. Russel, E.S. Edgerton, Z. Wang, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 5171.
- [31] P. Fu, K. Kawamura, L.A. Barrie, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 286.
- [32] D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. De Song, P.J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics Qualimetrics (Part A)*, Elsevier Science, Amsterdam, Netherlands, 1997.
- [33] A. Ranz, J. Korpecka, E. Lankmayr, *J. Sep. Sci.* 31 (2008) 746.
- [34] J.F. Rontanil, C. Aubert, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18 (2004) 1889.

1 **Seasonal variation and source estimation of organic compounds in urban aerosol**  
2 **of Augsburg, Germany.**

3  
4 Maria Chiara Pietrogrande\*<sup>1</sup>, Gülcin Abbaszade<sup>2</sup>, Jürgen Schnelle-Kreis<sup>2</sup>, Dimitri  
5 Bacco<sup>1</sup>, Mattia Mercuriali<sup>1</sup>, Ralf Zimmermann<sup>2</sup>

6  
7 <sup>1</sup>Department of Chemistry, University of Ferrara, Via L. Borsari, 46, 44100 Ferrara,  
8 Italy;

9 <sup>2</sup>Joint Mass Spectrometry Centre of the Institute of Ecological Chemistry, Helmholtz  
10 Zentrum München, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg, Germany and  
11 University of Rostock, Dr.-Lorenz-Weg 1, 18051 Rostock, Germany.

12  
13 *Keywords*

14 *PM*<sub>2.5</sub> composition  
15 TD-GC-MS analysis  
16 source contribution  
17

18  
19 **Abstract**

20  
21 This study reports a general assessment of the organic composition of the *PM*<sub>2.5</sub>  
22 samples collected in the city of Augsburg, Germany in a summer (August-September  
23 2007) and a winter (February-March 2008) campaign of 36 and 30 days, respectively.  
24 The samples were directly submitted to in situ derivatisation thermal desorption gas  
25 chromatography coupled with time of flight mass spectrometry (IDTD-GC-TOFMS)  
26 to simultaneously determine the concentrations of many classes of molecular markers,  
27 such as n-alkanes, iso- and anteiso-alkanes, polycyclic aromatic hydrocarbons  
28 (PAHs), oxidized PAHs, n-alkanoic acids, alcohols, saccharides and others.  
29 The PCA analysis of the data identified the contributions of three emission sources,  
30 i.e., combustion sources, including fossil fuel emissions and biomass burning,  
31 vegetative detritus, and oxidized PAHs. The PM chemical composition shows  
32 seasonal trend: winter is characterized by high contribution of petroleum/wood  
33 combustion while the vegetative component and atmospheric photochemical reactions  
34 are predominant in the hot season.

35  
36 **Capsule**

37 Organic composition of the urban *PM*<sub>2.5</sub> identifies seasonal trends of the main  
38 sources: fossil fuel and biomass combustion sources, vegetative detritus, atmospheric  
39 photochemical reactions.

40 **1. Introduction**

41

42 Primary organic aerosol (directly emitted from sources such as plant material, soil  
43 dust, biomass and fossil fuel burning) and secondary organic aerosol (formed in the  
44 atmosphere from the oxidation of gas-phase precursors) are ubiquitous in the  
45 atmosphere (Tsigaridis et al., 2007; Zhang et al., 2009). Molecular level analysis of  
46 the PM organic complex mixture is an ongoing measurement needed to control the  
47 sources of PM and to understand which organic components may affect respiratory  
48 health of populations (Schwarze et al., 2006; Perez et al., 2007; Pedersen et al., 2009;  
49 Fu et al., 2009). This is especially relevant in urban areas where the proximity  
50 between humans and sources of pollutants is closest (Perrone et al., 2010; Wei et al.,  
51 2010).

52 Since the organic fraction of atmospheric aerosols in both rural and urban  
53 environments consists of a complex mixture of hundreds of compounds, a detailed  
54 chemical analysis of both atmospheric samples and sources is far from being  
55 achieved. However, it is possible to identify certain organic compounds that can act as  
56 tracers for the particulate matter emitted by sources of air pollution (Bi et al., 2008).  
57 These organic compounds must be characteristic of some specific sources and their  
58 atmospheric reaction must be slow enough to survive transport from source to  
59 receptor air monitoring stations. Identification and quantification of these molecular  
60 markers can be utilized to identify different sources of ambient organic matter and  
61 evaluate their contribution under different environmental conditions. These studies  
62 may be supported by using statistical approaches such as principal component  
63 analysis (PCA) or positive matrix factorization (PMF) (e.g. Raman et al. 2007;  
64 Shrivastava et al., 2007; Singh et al., 2008; Zhang et al., 2009; Brinkman et al., 2009;  
65 Pengchai et al., 2009).

66 This study reports a general assessment of the organic composition of the  $PM_{2.5}$   
67 samples collected in the city of Augsburg, Germany, in summer and winter. It is  
68 focused on molecular markers of the major categories of emission sources, such as n-  
69 alkanes, iso- and anteiso-alkanes, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), oxidized  
70 PAH (O-PAHs), n-alkanoic acids, alcohols, saccharides and others. These markers  
71 were chosen on the basis of published chemical composition profiles for sources  
72 including gasoline and diesel powered vehicles (Kotianova et al., 2008), motor oil  
73 (Schauer et al., 2002), heating plants (Bi et al., 2008), meat cooking (Robinson et al.,

74 2006a; Zhao et al., 2007), cigarette smoke (Kavouras et al., 1998), and biomass or  
75 wood combustion (Kleeman et al., 2008; Zhang et al., 2008; Wang et al., 2009).

76 A direct thermal desorption-gas chromatography coupled with time of flight mass  
77 spectrometry (DTD-GC-TOFMS) system was used to simultaneously determine  
78 organics belonging to different chemical classes. This technique has been proposed as  
79 a direct procedure as it proves useful in monitoring PM since it reduces the time  
80 required and increases sensitivity vs. solvent-extraction methods (Schnelle-Kreis et  
81 al., 2005; Fushimi et al., 2007; Ho et al., 2008).

82 The resulting data describe the seasonal abundance and day-to-day variations in key  
83 classes of organic compounds in a densely populated urban site. The aim of this study  
84 is to investigate the capability of the TCD-GC-MS technique to characterize PM  
85 organic chemical compositions in one single analytical run and the suitability of the  
86 obtained information to estimate the contribution of the different sources of urban  
87 particle-associated organics.

88

## 89 **2. Experimental**

90

### 91 *2.1. Sampling*

92

93 Urban air PM was sampled daily at the air monitoring station of the Helmholtz  
94 Zentrum München 2 km south of the city of Augsburg, Germany (Cyrus et al., 2006).  
95 The sampling campaign started in summer 2007, from August 1<sup>st</sup> to September 5<sup>th</sup>,  
96 and continued in winter 2008, from February 12<sup>th</sup> to March 12<sup>th</sup>, 30 days.

97 For chemical analysis, PM<sub>2.5</sub> samples were collected with a sequential sampler  
98 (Partisols-Plus Model 2025, Thermo Scientific, USA) on quartz fiber filters (T293,  
99 Munktell, Grycksbo, Sweden) at a flow rate of 1 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup>. Sampling time was 00:00 to  
100 24:00 resulting in a sample volume 24 m<sup>3</sup> each day. The loaded filters were stored in  
101 glass containers at -20°C until analysis.

102

### 103 *2.2. Instrumental analysis*

104

105 The PM<sub>2.5</sub> samples were analyzed using in-situ derivatization thermal desorption gas  
106 chromatography time of flight mass spectrometry (IDTD-GC-TOFMS). For analysis,  
107 filter punches representing 0.5 to 1 m<sup>3</sup> were placed into a GC-liner, the internal

108 standard mixture (isotope labeled reference compounds) was added for quantification  
109 and the liners were closed with removable Teflon caps. The following steps were  
110 carried out by an autosampler (Combi PAL, CTC Analytics AG, Zwingen, CH). For  
111 derivatisation, MSTFA was added directly onto the filter punches. Closed liners were  
112 placed in an oven at 80°C for 1h to allow the derivatisation reaction takes place. After  
113 this derivatisation step, the liners were put into the cold injector. For desorption, the  
114 temperature was raised to 300°C and maintained for 16 min. During desorption,  
115 MSTFA was added to the carrier gas to complete derivatisation and to prevent the  
116 derivatives from decomposing. Desorbed compounds were focused on a retention gap  
117 at an oven temperature of 70°C. DTD-GC-TOFMS instrumentation: injection port:  
118 Optic III with LINEX-TD system (ATAS-GL, Veldhoven, NL); GC: Agilent 6890  
119 (Agilent, Palo Alto, CA, USA); TOFMS: Pegasus III (LECO Ltd., St. Joseph, MI,  
120 USA). Retention gap: deactivated fused silica, 2.5 m, 0.22mm I.D. (SGE, Ringwood,  
121 AUS). Column: BPX5, 25 m, 0.22mm I.D., 0.25 µm film (SGE), flow: 0.7 ml min<sup>-1</sup>  
122 helium. Thermal desorption: filter purge at 50°C, split 100 ml min<sup>-1</sup> (2 min hold),  
123 temperature ramp to 320°C (15 min hold) at 1 K s<sup>-1</sup>, split during desorption 2ml min<sup>-1</sup>.  
124 Oven parameters: 70°C (22 min hold) to 130°C at 80°C min<sup>-1</sup>; second ramp to 320°C  
125 (20 min hold) at 81°C min<sup>-1</sup>. The TOFMS was operated with a data acquisition  
126 frequency of 25 scan s<sup>-1</sup>. The mass range was 35–500 m/z. For quantification, a  
127 standard mixture containing isotope-labeled compounds was used as internal  
128 standard: it consisted of fifteen deuterated PAHs (CIL, MA, USA), two deuterated O-  
129 PAHs (synthesized in own lab), four deuterated alkanes (CIL, MA, USA), <sup>13</sup>C6-  
130 levoglucosan (Omicron Biochemicals, IN, USA), <sup>13</sup>C6-vanillin (Larodan Fine  
131 Chemicals, Sweden) and D31-palmitic acid (CIL, MA, USA).  
132 Field blank filters were placed in the sampling unit every week and analyzed together  
133 with the samples of the respective week, allowing field blank correction even for the  
134 measured low summer concentrations. The method linearity and sensitivity were  
135 investigated by computing the calibration curves using multicomponent standard  
136 solutions (at concentration levels ranging from 0.05 to 20 ngm<sup>-3</sup> for each compound.  
137 From the calibration curves (highly linear with R<sup>2</sup> greater than 0.98 for most of the  
138 target compounds) low detection limits were computed, suitable for environmental  
139 analysis of PM samples, i.e., LOD ≤ 2 ngm<sup>-3</sup> for C<sub>20</sub>-C<sub>35</sub> n-alkanes, LOD ≤  
140 0.4 ngm<sup>-3</sup> for PAHs and oxidized PAHs, and LOD ≤ 90 ngm<sup>-3</sup> for levoglucosan.



141 A satisfactory reproducibility ( $RSD\% \leq 20\%$ ) was obtained from repeated  
142 measurements.

143

### 144 *2.3. Principal component analysis*

145

146 The Principal Component Analysis (PCA) was applied to the dataset as an exploratory  
147 tool to identify the major sources of atmospheric organics, since it allows data  
148 reduction with minimal loss of original information (Massart et al. 1998).

149 A data pretreatment was applied: the data were auto scaled, i.e., standardized (scaled  
150 to the same units dividing each element of the matrix by the standard deviation of its  
151 column) and mean centered (each element subtracted by its mean column). In this  
152 study, Varimax rotation was used to redistribute the variance in order to create PC  
153 loadings and scores that were more interpretable to identifiable source categories.

154 All mathematical and statistical computations were performed using the MATLAB™  
155 7.5.0 software program.

156

## 157 **3. Results and discussion**

158

159 The collected PM filters were directly submitted to IDTD-GC-TOFMS analysis to  
160 identify the following target compounds:  $C_{20}$ - $C_{35}$  n-alkanes, anteiso- and iso- $C_{29}$ - $C_{33}$   
161 n-alkanes, 10 PAHs and 7 oxidized PAHs, and more polar compounds, including long  
162 chain n-alkanoic acids, levoglucosan and cholesterol. Although some compounds  
163 showed concentration levels very close or little below the analytical quantification  
164 limit, especially in summer samples, all the values are considered, as descriptive  
165 parameters to investigate the time trend of individual compounds and groups and  
166 compare their season behavior. Table 1 presents the average seasonal concentrations  
167 measured during the two periods (seasonal mean and standard deviation values). In  
168 both the seasons, similar daily trends were observed for the most abundant organics  
169 (daily values for total n-alkanes, total PAHs, total O-PAHs and levoglucosan are  
170 shown in Figure 1).

171 Levoglucosan was the most abundant component in both the seasons, followed by  
172 palmitic and stearic acids, n-alkanes and PAHs with their oxidized derivatives.

173

174

175 3.1. *N-alkane concentrations and distribution*

176

177 N-alkanes are especially well suited compounds to tracking the origin and fate of  
178 atmospheric aerosols, since they are ubiquitous and can be derived from both biogenic  
179 and anthropogenic sources which can, in turn, be differentiated according to their n-  
180 alkane distribution, i.e., carbon number maximum ( $C_{max}$ ) and carbon preference index  
181 (CPI) (He et al., 2006; Rissanen et al., 2006; Bi et al., 2008; Ladji et al., 2009).

182 The concentrations of the homologous series of n-alkanes ( $C_{20} - C_{35}$ ) were determined  
183 (Table 1, 1<sup>st</sup>-16<sup>th</sup> rows) and the summer and winter concentrations were compared  
184 (Figure 2a). The total n-alkane concentration shows an average value of  $32 \text{ ngm}^{-3}$   
185 (ranging from 7.9 to  $83 \text{ ngm}^{-3}$ ) in the winter period, while this average is  $26 \text{ ngm}^{-3}$   
186 (ranging from 0.65 to  $56 \text{ ngm}^{-3}$ ) in summer (Table 1, 27<sup>th</sup> row).

187 Even if the total n-alkane level displays a minor increase in the cold vs. the warmer  
188 period (values are 1.3-fold higher in winter), the abundance distribution of each series  
189 term shows significant seasonal variation (for seasonal evolution of the n-alkane  
190 average concentrations see Fig. 2a). The observed changes in emission profiles can  
191 most likely be ascribed to significant changes in the n-alkane sources, shifting from a  
192 pattern dominated by vehicle exhaust emissions in the colder period to a plant wax  
193 dominated pattern in the warmer season (Schnelle-Kreis et al., 2005; Shao et al.,  
194 2009, Ladji et al., 2009). In fact, the most abundant n-alkanes in winter are  $C_{20} - C_{32}$   
195 terms (grey bars in Fig.2a) mainly from lubricating oil or fuel sources with maximum  
196 at  $C_{25}$  for gasoline-powered vehicles and at  $C_{20}$  for heavy duty diesel trucks  
197 (Kotianova et al., 2008): the concentrations of  $C_{20} - C_{28}$  n-alkanes were nearly triple in  
198 the colder period. The summer profile (black bars in Fig.2a) is dominated by the  
199 heavier n-alkanes ( $C \geq C_{27}$ ) mainly emitted from plant waxes, introduced into the  
200 atmosphere from plant abrasion or as products of incomplete biomass combustion  
201 (Guo et al., 2004; Rissanen et al., 2006; Fu et al., 2009): the  $C_{29} - C_{33}$  level is nearly  
202 1.5 times higher in the warmer period. N-alkanes from these sources are characterized  
203 by a strong odd/even prevalence ( $CPI \geq 2$ ) with maximum for the  $C_{29}$  and  $C_{31}$  terms.  
204 These results are confirmed by the  $CPI$  values computed on the whole investigated  
205 range ( $CPI_{tot}$ , 28<sup>th</sup> row in Table 1) that show a slight increase (from 1.2 to 1.5) from  
206 the cold to the warm season. This behavior is better described by the  $CPI_{bio}$

207 parameter computed on plant n-alkanes ( $C \geq C_{27}$ ) indicating an increased impact of  
208 the biogenic emissions in the warmer period ( $CPI_{bio}$ , from 1.2 in winter to 2.0 in  
209 summer, 29<sup>th</sup> row in Table 1).

210 In addition to n-alkanes, also iso- and anteiso alkanes were measured as suitable  
211 tracers for particulate environmental emissions from tobacco smoke (ETS) in the  
212 indoor and outdoor urban atmosphere (Table 1, 17<sup>th</sup>-26<sup>th</sup> rows). In fact, iso- and  
213 anteiso  $C_{29}$ - $C_{33}$  alkanes show a specific pattern in tobacco leaf waxes and partially  
214 survive in the cigarette combustion process (Rogge et al., 1994; Kavouras et al., 1998;  
215 Bi et al., 2005). Low concentrations were measured in both seasons, ranging from  
216 0.04 to 2.4  $ngm^{-3}$  (Table 1, 17<sup>th</sup>-26<sup>th</sup> rows): these data are consistent with levels  
217 usually found in outdoor samples, significantly lower than those in the indoor aerosols  
218 (Bi et al., 2005).

219

### 220 3.2. PAH and O-PAH concentrations and distribution

221

222 Among the compounds of anthropogenic origin, ten target PAHs were quantified as  
223 relevant source tracers: 4 semi volatile PAHs with 4-rings — i.e., pyrene,  
224 fluoranthene, benz[a]anthracene, chrysene (co-eluting with triphenylene) — and 6  
225 PAHs with 5- and 6-rings — i.e., benzo[fluoranthenes, benzo[e]pyrene,  
226 benzo[a]pyrene, indeno[cd]pyrene, benzo[ghi]perylene, coronene. They are all  
227 constituents of emissions from traffic, from the combustion of gas, fuel oil, wood or  
228 coal (Singh et al., 2008; Ravindra et al., 2008; Kleeman et al., 2008). Several of these  
229 compounds have proven to be mutagenic and/or carcinogenic (Pedersen et al., 2009;  
230 Ianiestcki et al., 2009).

231 In addition, due to their toxicological relevance, their oxidized derivatives (O-PAH)  
232 were investigated since they might be involved in the occurrence of oxidative stress:  
233 xanthon, 9,10-anthracenedione, cyclopenta[def]phenanthrenone, benzo[a]fluorene-11-  
234 one, benzo[b]fluorene-11-one, benz[de]anthracene-7-one, benz[a]anthracene-7,12-  
235 dione (Rissanen et al., 2006; Sklorz et al., 2007; Ravindra, et al., 2008).

236 The average total PAH concentration in winter is 11  $ngm^{-3}$  (ranging from 0.78 to 36  
237  $ngm^{-3}$ ) while it is 1.34  $ngm^{-3}$  (ranging from 0.27 to 3.66  $ngm^{-3}$ ) in summer; the total  
238 O-PAH concentration is 3.2  $ngm^{-3}$  ( $\pm$  2.9  $ngm^{-3}$ ) in winter and 0.66  $ngm^{-3}$   
239 ( $\pm$  1.1  $ngm^{-3}$ ) in summer (Table 1, 30<sup>th</sup> and 48<sup>th</sup> rows).

240 On average, the PAHs showed 8.8-fold higher mean values whereas the O-PAH mean  
241 concentrations increased 6.2-fold in the colder period (grey bars in Fig. 2b). The  
242 higher winter abundance is mainly the result of increased emissions from primary  
243 sources — i.e. motor vehicle traffic and domestic heating. This last one, using fuel oil  
244 and natural gas, is of particular relevance as such contribution increases as ambient  
245 temperatures drop (Schnelle-Kreis et al., 2005; Ladji et al, 2009; Shao et al, 2009).  
246 Additionally, there are the concomitant effects of atmospheric conditions,  
247 characterized by shallower mixed layers in the winter urban atmosphere, with  
248 consequent reduction of atmospheric transport. Furthermore, the reduced  
249 photochemical activity and lower ozone concentrations in winter should decrease the  
250 atmospheric photo degradation of PAHs, even though it reduces the atmospheric  
251 formation of O-PAH (Schnelle-Kreis et al., 2005; He et al., 2006; Feng et al., 2006;  
252 Sklorz et al., 2007). Additionally, it must be underlined that sampling artifacts due to  
253 reaction of PAHs are lower in winter with lower concentration of atmospheric  
254 oxidants (Liu et.al. 2006).

255 The distribution of PAH and O-PAH concentrations (seasonal mean values reported  
256 in Fig. 2b) shows that, in both seasons, the most abundant PAHs are PYR, CRY,  
257 BbKF and IND (Table 1, 30<sup>th</sup>-39<sup>th</sup> rows); the dominating PAH-quinone is BdeA-O  
258 (Table1, 41<sup>st</sup>-47<sup>th</sup> rows). A comparison between winter and summer profiles shows an  
259 increased influence of non-traffic sources in the colder period characterized by an  
260 increased relative abundance of BaP, BaA, BbkF, CRY, IND, and BdA-O — related  
261 to the combustion of natural gas for domestic heating — vs. compounds prominent in  
262 emissions from gasoline and diesel vehicles, i.e., BeP, BghiP, COR, BaF-O (grey bars  
263 in Fig. 2b).

264

### 265 *3.3. Concentrations and distribution of polar organic compounds*

266

267 Finally, some polar organic species were investigated as valuable markers in tracking  
268 the sources of atmospheric aerosols: in particular fatty acids, dehydroabietic acid,  
269 levoglucosan and cholesterol were quantified to estimate the contribution from  
270 specific biomass/biofuel burning and fossil fuel combustion (Table 1, 49<sup>th</sup>-54<sup>th</sup> rows).  
271 Among them, C<sub>16</sub> fatty acid and levoglucosan were identified as the most abundant  
272 single compounds in both the seasons (Table 1, 49<sup>th</sup> and 53<sup>rd</sup> rows).

273

274 *Fatty acids*

275 Fatty acid homologues with  $C \leq C_{20}$  are ubiquitous in atmospheric aerosols, palmitic  
276 ( $C_{16:0}$ ) and stearic ( $C_{18:0}$ ) acids being the most abundant constituents. They are  
277 derived from terrestrial higher plant waxes (Kourtchev et al., 2008) and are also  
278 produced by anthropogenic sources, including the combustion of fossil fuels  
279 (maximizing at  $C_{16:0}$ ), wood and organic detritus and meat cooking (Robinson et al.,  
280 2006a; Shao et al., 2009; Fu et al., 2009).

281 The measured values (Table 1, 49<sup>th</sup>-51<sup>st</sup> rows) show that the wax portion presents  
282 higher concentrations in winter than in summer, in particular for stearic acid (39 vs.  
283 8.4, Table 1, 50<sup>th</sup> row). The higher winter amounts of waxy acids could be associated  
284 with the higher wax content in dead leaves and with wind abrasion: in fact the fatty  
285 acid wax content in dead leaves is 5 times higher than that of green leaves (Guo et al.,  
286 2004). Similar seasonal trends have been observed in several European and Chinese  
287 mega cities (He et al., 2006; Oliveira et al., 2007; Bi et al., 2008; Shao et al., 2009;  
288 Ladjji et al., 2009).

289 The ratio of  $C_{18:0}/C_{16:0}$  has been used as a qualitative tool for source assessment.  
290 Ratios lower than 0.25 were registered for foliar vegetation combustion, waxy leaf  
291 surface abrasions, and wood smoke; values between 0.25 and 0.5 resulted from car  
292 and diesel truck exhausts; ratios in the interval 0.5–1 were achieved for paved and  
293 unpaved road dust and for hamburger charbroiling (Zhao et al., 2007; Oliveira et al.,  
294 2007; Ladjji et al., 2009). The values found (Table 1, 57<sup>th</sup> row) indicate a high  
295 contribution of vehicular emissions and cooking operations in winter  
296 ( $C_{18:0}/C_{16:0}=0.48$ ) and the prevalence of vegetation input during summer  
297 ( $C_{18:0}/C_{16:0}=0.11$ ).

298 In urban environments, oleic acid ( $C_{18:1}$ ) is mainly emitted by cooking, motor vehicles  
299 and biomass burning; it oxidizes rapidly so that it is often used as an indication of  
300 aerosol aging (Robinson et al., 2006a; Robinson et al., 2006b; Oliveira et al., 2007).  
301 Lower ratios of unsaturated  $C_{18:1}$  to stearic acids ( $C_{18:1}/C_{18:0}$ ) are usually found during  
302 summer, indicating aged aerosols and/or greater degradation of the fatty acids due to  
303 atmospheric conditions. Curiously, the aerosols investigated present a summer vs.  
304 winter decrease in this ratio (from 0.52 in summer to 0.01 in winter, Table 1, 56<sup>th</sup>  
305 row): this may indicate specific combinations of emissions and atmospheric

306 processes, taking into consideration that photo oxidation of unsaturated fatty acids  
307 occurs slowly under the weak radiation conditions found in mid-latitude regions.  
308 To investigate the contribution of meat cooking to fatty acid emission, cholesterol was  
309 also quantified as another molecular marker derived from meat cooking (Robinson et  
310 al., 2006a). Most of the winter samples showed concentration levels below the  
311 analytical detection limit while an average concentration of  $2.4 \text{ ngm}^{-3}$  was found in  
312 summer (Table 1, 54<sup>th</sup> row) suggesting the evident contribution of emissions from  
313 food preparation (Zhao et al., 2007).

314

#### 315 *Tracers of biomass burning*

316 Levoglucosan and dehydroabietic acid were quantified to estimate the contribution  
317 from specific biomass burning sources (Simoneit, 2002; Robinson et al., 2006b;  
318 Kleeman et al., 2008).

319 Levoglucosan has been considered an excellent tracer of biomass burning sources  
320 because it is emitted in large quantities, is stable in the atmosphere and, furthermore,  
321 is specific to the thermal breakdown of cellulose (Fu et al., 2009). It is consistently  
322 identified in high concentrations in fine particle emissions from vegetation smoke,  
323 residential wood combustion, campfire burning and cigarette smoke (Zhao et al.,  
324 2007; Zhang et al., 2008; Fu et al., 2009; Shao et al., 2009; Wang et al., 2009).

325 Dehydroabietic acid (DHAA) is a known tracer of coniferous wood burning (mostly  
326 pine), since it has been specifically found in plumes from burning of conifer trees  
327 (Simoneit et al., 2000; Robinson et al., 2006b; Wang et al., 2009).

328 As expected, both markers of wood smoke showed significant increases in  
329 concentration during winter: their average concentrations nearly tripled from summer  
330 to winter (Table 1, 52<sup>nd</sup>-53<sup>rd</sup> rows), indicating higher emissions of smoke particles,  
331 associated with residential wood burning (He et al., 2006; Oliveira et al., 2007; Shao et  
332 al., 2009). It must be noted that this behavior is also associated with the decrease of  
333 the mixing heights and the existence of inversion layers in winter, which reduce  
334 aerosol dispersion and dilution of atmospheric pollutants (Feng et al., 2006).

335 Because levoglucosan is emitted by burning of all types of cellulose containing  
336 biomass, whereas DHAA is emitted only by softwood combustion, a ratio of the two  
337 can be used to distinguish contributions from different types of biomass (Table 1, 58<sup>th</sup>  
338 row). The values found, 11.8 in winter and 6.06 in summer, are consistent with the  
339 composition of smoke emissions from residential wood burning in urban sites and

340 suggest a greater relative contribution of softwood combustion in the hot season  
341 (Oliveira et al., 2007; Kleeman et al., 2008).

342

### 343 *3.4. PCA and source identification*

344

345 PCA was applied to the experimental data set to describe the impact of source  
346 categories. To achieve sufficient degrees of freedom in the dataset to increase PCA  
347 result accuracy, the number of variables in the original dataset was reduced so that the  
348 number of observations greatly exceeded the number of variables (Massart et al.,  
349 1998). Based on their relevance as markers for specific sources and the percentage of  
350 samples that were above the quantification limit, 42 variables were selected for  
351 inclusion in the model (compound concentrations and indices reported in Table 2).

352 From PCA three significant PCs emerged able to explain 86% of the variance  
353 contained in the data: the loading factors with associated variance are reported in  
354 Figure 3. The computed PCA factors are easily distinguishable from others by sharp  
355 differences in factor loadings and can be interpreted as the marker species that  
356 primarily loaded the factor; indeed, for many individual variables, the variance is  
357 explained primarily by a single PC. The obtained results are consistent with the  
358 expectation that a factor is mainly loaded from multiple marker species for the same  
359 source type.

360 The main PCA1, that explains 59% of the total variance, contains almost all the  
361 variables describing combustion sources, including fossil fuel emissions and biomass  
362 burning: it presents strong ( $>0.80$ ) positive loadings on evenly distributed n-alkanes  
363 with lower carbon numbers  $C_{20} - C_{28}$ , associated with a combination of four–five rings  
364 PAHs, those more prominent in emissions from gasoline and diesel vehicles — BeP,  
365 BghiP, COR, BaF-O — and natural gas combustion in domestic heating plants —  
366 BaP, BaA, BkF, CRY,IND, and BdA-O. In addition, it shows a significant  
367 contribution (loadings  $\approx 0.4$ ) of the markers emitted when wood and biomass are  
368 burned, i.e., levoglucosan, oleic acid and DHAA. The grouping pattern of these  
369 compounds would be explained by the similarities of their emission sources,  
370 characteristic of urban primary sources including mobile (vehicular) and stationary  
371 (residential heating and power plants) origin (Zhao et al., 2007; Singh et al., 2008;  
372 Pengchai et al., 2009).

373 Explaining about 14% of variance, PCA2 represents emissions from biogenic sources  
374 such as vegetative detritus and cooking. In fact, it shows strong positive loadings  
375 ( $>0.75$ ) on heavier odd  $C_{29}$ - $C_{35}$  n-alkanes and moderate positive loadings ( $>0.50$ ) on  
376 *CPI* parameters — indicating odd carbon number preference — as well as ( $>0.25$ )  
377 fatty acids and cholesterol, representing meat cooking. In addition, PCA2 contains the  
378 contribution of tracers for environmental tobacco smoke, as indicated by high loading  
379 ( $\approx 0.8$ ) for the cigarette markers iso- and anteiso-alkanes.

380 Explaining 4 % of the total variance, PCA3 is mainly loaded (loadings  $\approx 0.3$ ) by O-  
381 PAHs, Xanthon, ANQ-DO, CPPH-O and BdeA-O. Therefore, this factor can be taken  
382 to represent Secondary Organic Aerosol formed by photochemical reactions in the  
383 atmosphere.

384 The contribution of the different sources of the investigated samples can be visualized  
385 by plotting the scores of the three PCs. The score plot PC2 vs. PC1 (Figure 4a) shows  
386 that the summer samples (solid circles) are clustered at low PC1 scores with scattered  
387 PC2 values, indicating low contribution of anthropogenic emissions – i.e., motor  
388 vehicle traffic and domestic heating – and variable impact of the biogenic emissions  
389 from the vegetation activity. The winter samples (empty circles) are located at low  
390 PC2 values and distributed along the PC1 axis: this is consistent with the higher  
391 contribution of anthropogenic emissions from domestic heating during the cold  
392 season. The samples located in the region of low PC1 and PC2 scores likely represent  
393 the same emission from the traffic activity common in both the seasons that is  
394 enhanced by domestic heating emissions in winter.

395 A season clustering is also evident when PC3 is plotted vs. PC2 (Figure 4b): the  
396 contribution of O-PAH formation by photochemical transformations from PAHs  
397 discriminated between winter samples, clustered at lower PC3 values, and summer  
398 samples, located at higher PC3 scores. This is consistent with meteorological  
399 conditions, since higher temperature and higher solar intensity in summer are more  
400 favorable to photochemical and/or chemical reaction in the atmosphere.

401

#### 402 **4. Conclusions**

403

404 The results obtained confirm that IDTD–GC-MS is an effective technique applicable  
405 to atmosphere monitoring since it provides a large data set for simultaneous  
406 characterization of many chemical markers in particulate samples.



407 The molecular distributions of tracer compounds were determined and the results  
408 made it possible to identify the different sources of urban particle-associated organics.  
409 Though a rigorous source apportionment study is beyond the aim of the present paper  
410 and the information obtained is inadequate for any differentiation between the finer  
411 sources of organics, PCA did identify the main factors representing different sources,  
412 i.e., anthropogenic from combustion sources, including fossil fuel emissions and  
413 biomass burning (PC1), biogenic from plant waxes (PC2) and SOA from atmospheric  
414 photochemical processes (PC3). These factors make it possible to discriminate PM  
415 samples according to seasonality, in agreement with the results supported by n-alkane  
416 and PHA concentration distribution. Winter is characterized by high emissions from  
417 petroleum/wood combustion while the contributions from higher plant waxes and  
418 atmospheric photochemical reactions are dominant in summer.  
419 A more detailed source apportionment and a deeper view inside atmospheric  
420 processes can be reached by acquiring a larger dataset in order to achieve enough data  
421 variability and by expanding the investigation to more specific indicators, e.g.  
422 hopanes, short chain di-acids or sugar alcohols.

423  
424  
425

## 426 **References**

427

- 428 Bi, X., Sheng, G., Feng, Y., Fu, J., Xie, J., 2005. Gas- and particulate-phase specific  
429 tracer and toxic organic compounds in environmental tobacco smoke. *Chemosphere*  
430 61, 1512–1522.
- 431 Bi, X., Simoneit, B.R.T., Sheng, G., Fu, J., 2008. Characterization of molecular  
432 markers in smoke from residential coal combustion in China. *Fuel* 87, 112–119.
- 433 Brinkman, G.L., Milford, J.B., Schauer, J.J., Shafer, M.M., Hannigan, M.P., 2009.  
434 Source identification of personal exposure to fine particulate matter using organic  
435 tracers. *Atmospheric Environment* 43, 1972–1981.
- 436 Cyrys, J., Pitz, M., Heinrich, J., Wichmann, H. E., Peters, A., 2006. Small scale  
437 temporal-spatial variability of particle number concentration in Augsburg,  
438 Germany. *Epidemiology* 17, S251-S251.
- 439 Feng, J., Hu, M.H., Chan, C.K., Lau, P.S., Fang, M., He, L., Tang, X., 2006. A  
440 comparative study of the organic matter in PM<sub>2.5</sub> from three Chinese megacities in  
441 three different climatic zones. *Atmospheric Environment* 40, 3983–3994.
- 442 Fu, P.Q., Kawamura, K., Pavuluri, C.M., Swaminathan, T., 2009. Molecular  
443 characterization of urban organic aerosol in tropical India: contributions of  
444 biomass/biofuel burning, plastic burning, and fossil fuel combustion. *Atmospheric  
445 Chemistry and Physics Discussion* 9, 21669–21716.
- 446 Fushimi, A., Tanabe, K., Hasegawa, S., Kobayashi, S., 2007. Investigation of  
447 characterization method for nanoparticles in roadside atmosphere by thermal  
448 desorption–gas chromatography/mass spectrometry using a pyrolyzer. *Science of  
449 the Total Environment* 386, 83–92.

- 450 Guo, Z.G., Feng, J.L., Fang, M., Chen, H.Y., Lau, K.H., 2004. The elemental and  
451 organic characteristics of PM<sub>2.5</sub> in Asian dust episodes in Qingdao, China, 2002.  
452 *Atmospheric Environment* 38, 909–919.
- 453 He, L.Y., Hu, M., Huang, X.F., Zhang Y.H., Tang X.Y., 2006. Seasonal pollution  
454 characteristics of organic compounds in atmospheric fine particles in Beijing.  
455 *Science of the Total Environment* 359, 167–176.
- 456 Ho, S.S.H., Yu, J.Z., Chow, Y.C., Zielinska, B., Watson, J.G., Sit, E.H.L., Schauer, J.  
457 J., 2008. Evaluation of an in-injection port thermal desorption-gas  
458 chromatography/mass spectrometry method for analysis of non-polar organic  
459 compounds in ambient aerosol samples. *Journal of Chromatography A* 1200, 217–  
460 227.
- 461 Kavouras, I.G., Stratigakis, N., Stephanou, E.G., 1998. Iso- and anteiso-alkanes:  
462 specific tracers of environmental tobacco smoke in indoor and outdoor particle-size  
463 distributed urban aerosols. *Environment Science & Technology* 32, 1369-1377.
- 464 Kleeman, M.J., Robert, M.A., Riddlea, S.G., Fine P.M., Hays M.D., Schauer. J.J.,  
465 Hannigan, M.P., 2008. Size distribution of trace organic species emitted from  
466 biomass combustion and meat charbroiling. *Atmospheric Environment* 42, 3059–  
467 3075.
- 468 Kotianova, P., Puxbaum, H., Bauer, H., Caseiro, A., Marr, I.L., Cık, G., 2008.  
469 Temporal patterns of n-alkanes at traffic exposed and suburban sites in Vienna.  
470 *Atmospheric Environment* 42, 2993–3005.
- 471 Kourtchev, I., Warnke, J., Maenhaut, W., Hoffmann, T., Claeys, M., 2008. Polar  
472 organic marker compounds in PM<sub>2.5</sub> aerosol from a mixed forest site in western  
473 Germany. *Chemosphere* 73, 1308–1311.
- 474 Ianistcki, M., Dallarosa, J., Saue, C., Teixeira, C.E., da Silva, J. 2009. Genotoxic  
475 effect of polycyclic aromatic hydrocarbons in the metropolitan area of Porto  
476 Alegre, Brazil, evaluated by *Helix aspersa* (Muller, 1774). *Environmental Pollution*  
477 157, 2037–2042.
- 478 Ladjji, R., Yassaa, N., Balducci, C., Cecinato, A., Meklati, B.Y., 2009. Annual  
479 variation of particulate organic compounds in PM<sub>10</sub> in the urban atmosphere of  
480 Algiers. *Atmospheric Research* 92, 258–269.
- 481 Liu, Y., Sklorz, M., Schnelle-Kreis, J., Orasche, J., Ferge, T., Kettrup, A.,  
482 Zimmermann, R., 2006. Oxidant denuder sampling for analysis of polycyclic  
483 aromatic hydrocarbons and their oxygenated derivatives in ambient aerosol  
484 Evaluation of sampling artefact. *Chemosphere*, 1889-1898.
- 485 Vandeginste, B.G.M., Massart, D.L., Buydens, L.M.C., De Song, S., Lewi, P.J.,  
486 Smeyers-Verbeke, J., 1998. *J. Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part B*,  
487 Elsevier Science, Amsterdam, NL.
- 488 Oliveira, C., Pio, C., Alves, C., Evtyugina, M., Santos, P., Goncalves, V, Nunes, T.,  
489 Armando, J.D., Silvestre, A., Palmgren, F., Wahlin, P., Harrad, S., 2007. Seasonal  
490 distribution of polar organic compounds in the urban atmosphere of two large cities  
491 from the North and South of Europe. *Atmospheric Environment* 41, 5555–5570.
- 492 Pedersen, M., Wichmann, J., Autrup, H., Dang, D.A., Decordier, I., Hvidberg, M.,  
493 Bossi, R., Jakobsen, J., Loft, S., Knudsen, L.E., 2009. Increased micronuclei and  
494 bulky DNA adducts in cord blood after maternal exposures to traffic-related air  
495 pollution. *Environmental Research* 109, 1012–1020.
- 496 Pengcha, P., Chantara, S., Sopajaree, K., Wangkarn, S., Tengcharoenkul, U.,  
497 Rayanakorn, M., 2009. Seasonal variation, risk assessment and source estimation of  
498 PM<sub>10</sub> and PM<sub>10</sub>-bound PAHs in the ambient air of Chiang Mai and Lamphun,  
499 Thailand. *Environmental Monitoring Assessment* 154, 197–218.

500 Perez, I.R., Serrano, J., Alfaro-Moreno, E., Baumgardner, D., Garcia-Cuellar, C.,  
501 Martin del Campo, J.M., Raga, G.B., Castillejos, M., Colm, R.D., Osornio Vargas,  
502 A.R., 2007. Relations between PM10 composition and cell toxicity: a multivariate  
503 and graphical approach. *Chemosphere* 67, 1218–1228.

504 Perrone, M.G., Gualtieri, M., Ferrero, L., Lo Porto, C., Udusti, R., Bolzacchini, E.,  
505 Camatini, M., 2010. Seasonal variations in chemical composition and in vitro  
506 biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere* 78, 1368–1377.

507 Raman, R.S., Hopke, P.K., 2007. Source apportionment of fine particles utilizing  
508 partially speciated carbonaceous aerosol data at two rural locations in New York  
509 State. *Atmospheric Environment* 41, 7923–7939.

510 Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic  
511 hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric  
512 Environment* 42, 2895–2921.

513 Rissanen, T., Hyotylainen, T., Kallio, M., Kronholm, J., Kulmala, M., Riekkola, M.L.,  
514 2006. Characterization of organic compounds in aerosol particles from a coniferous  
515 forest by GC–MS. *Chemosphere* 64, 1185–1195.

516 Robinson, A.L., Subramanian, R., Donahue, N.M., Bernardo-Bricker, A., Rogge,  
517 W.F., 2006a. Source apportionment of molecular markers and organic aerosol-3.  
518 Food cooking emissions. *Environmental Science & Technology* 40, 7820–7827.

519 Robinson, A.L., Subramanian, R., Donahue, N.M., Bernardo-Bricker, A., Rogge,  
520 W.F., 2006b. Source apportionment of molecular markers and organic aerosol-2.  
521 Biomass smoke. *Environmental Science & Technology* 40, 7811–7819.

522 Rogge, W.F., Hildemann, L.M., Mazurek, M.A., Cass, G.R., 1994. Sources of fine  
523 organic aerosol. 6. Cigarette-smoke in the urban atmosphere. *Environmental  
524 Science & Technology*, 28, 1375–1388.

525 Schauer, J.J., Kleeman, M.J., Cass, G.R., Simoneit, B.R.T., 2002. Measurement of  
526 emissions from air pollution sources. 5. C-1-C-32 organic compounds from  
527 gasoline-powered motor vehicles. *Environmental Science & Technology* 36, 1169–  
528 1180.

529 Schnelle-Kreis, J., Sklorz, M., Peters, A., Cyrys, J., Zimmermann, R., 2005.  
530 Analysis of particle-associated semi-volatile aromatic and aliphatic hydrocarbons in  
531 urban particulate matter on a daily basis TDGCMS. *Atmospheric Environment* 39,  
532 7702–7714.

533 Schwarze, P.E., Ovreivik, J., Lag, M., Refsnes, M., Nafstad, P., Hetland, R.B.,  
534 Dybing, E., 2006. Particulate matter properties and health effects: consistency of  
535 epidemiological and toxicological studies. *Human & Experimental Toxicology*, 25,  
536 559–579.

537 Shrivastava, M.K., Subramanian, R., Rogge, W.F., Allen, L., Robinson, A.L., 2007.  
538 Sources of organic aerosol: positive matrix factorization of molecular marker data  
539 and comparison of results from different source apportionment models.  
540 *Atmospheric Environment* 41, 9353–9369.

541 Sklorz, M., Schnelle-Kreis, J., Liu, Y., Orasche, J., Zimmermann, R., 2007. Daytime  
542 resolved analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban aerosol samples –  
543 Impact of sources and meteorological conditions. *Chemosphere* 67, 934–943.

544 Simoneit, B.R.T., Rogge, W.F., Lang, Q., Ja. R. 2000. Molecular characterization of  
545 smoke from campfire burning of pine wood (*Pinus elliottii*). *Chemosphere:  
546 Global Change Science* 2, 107–122.

547 Simoneit, B.R.T., 2002. Biomass burning—a review of organic tracers for smoke  
548 from incomplete combustion. *Applied Geochemistry* 17, 129–162.

549 Singh, K.P., Malik, A., Kumar, R., Saxena, P., Sinha, S., 2008. Receptor modeling for  
550 source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban atmosphere.  
551 Environmental Monitoring Assessment 136, 183–196.

552 Tsigaridis, K., Kanakidou, M., 2007. Secondary organic aerosol importance in the  
553 future atmosphere. Atmospheric Environment 41, 4682–4692.

554 Wang, Z., Bi, X., Sheng, G., Fu, J., 2009. Characterization of organic compounds and  
555 molecular tracers from biomass burning smoke in South China I: Broad-leaf trees  
556 and shrubs. Atmospheric Environment 43, 3096–3102.

557 Wei, Y., Han, I.K., Hu, M., Shao, M., Zhang, J., Xiaoyan Tang, X., 2010. Personal  
558 exposure to particulate PAHs and anthraquinone and oxidative DNA damages in  
559 humans. Chemosphere, in press: doi:10.1016/j.chemosphere.2010.08.055

560 Zhang, T., Claeys, M., Cachier, H., Dong, S., Wang, W., Maenhaut, W., Liu, X.,  
561 2008. Identification and estimation of the biomass burning contribution to Beijing  
562 aerosol using levoglucosan as a molecular marker. Atmospheric Environment 42,  
563 7013–7021.

564 Zhang, Y.X., Sheesley, R.J., Schauer, J.J., Lewandowski, M., Jaoui, M., Offenberg,  
565 J.H., Kleindienst, T.E., Edward O. Edney, E.O., 2009. Source apportionment of  
566 primary and secondary organic aerosols using positive matrix factorization (PMF)  
567 of molecular markers, Atmospheric Environment 43, 5567–5574.

568 Zhao, Y., Hu, Y.M., Slanina, S., Zhang, Y., 2007. Chemical compositions of fine  
569 particulate organic matter emitted from chinese cooking. Environmental Science &  
570 Technoogy. 41, 99-105.  
571

572  
573  
574

**Table 1:** Seasonal mean values and standard deviations (SD) of the measured concentrations and relative parameters computed from them in the two seasons.

Compound	WINTER		SUMMER	
	Mean <i>ngm</i> <sup>-3</sup>	SD	Mean <i>ngm</i> <sup>-3</sup>	SD
n-eicosane, n- <i>C</i> <sub>20</sub>	1.1	1.1	1.87	0.96
n-heneicosane, n- <i>C</i> <sub>21</sub>	1.8	1.7	0.30	0.12
n-docosane, n- <i>C</i> <sub>22</sub>	2.9	2.7	0.52	0.24
n-tricosane, n- <i>C</i> <sub>23</sub>	3.2	2.8	0.42	0.23
n-tetracosane, n- <i>C</i> <sub>24</sub>	3.1	2.3	1.33	0.65
n-pentacosane, n- <i>C</i> <sub>25</sub>	2.6	1.9	1.90	0.85
n-hexacosane, n- <i>C</i> <sub>26</sub>	3.6	2.1	0.88	0.40
n-heptacosane, n- <i>C</i> <sub>27</sub>	2.8	1.8	1.2	0.63
n-octacosane, n- <i>C</i> <sub>28</sub>	1.9	1.3	0.92	0.52
n-nonacosane, n- <i>C</i> <sub>29</sub>	2.2	1.3	2.3	1.0
n-triacontane, n- <i>C</i> <sub>30</sub>	1.02	0.72	0.66	0.37
n-hentriacontane, n- <i>C</i> <sub>31</sub>	1.9	1.3	2.3	1.2
n-dotriacontane, n- <i>C</i> <sub>32</sub>	0.55	0.38	0.39	0.30
n-tritriacontane, n- <i>C</i> <sub>33</sub>	0.72	0.46	1.03	0.55
n-tetratriacontane, n- <i>C</i> <sub>34</sub>	0.38	0.23	0.36	0.67
n-pentatriacontane, n- <i>C</i> <sub>35</sub>	0.17	0.11	0.28	0.18
iso-nonacosane, i- <i>C</i> <sub>29</sub>	0.66	0.40	0.68	0.45
anteiso-nonacosane, a- <i>C</i> <sub>29</sub>	0.13	0.09	0.24	0.18
iso-triacontane, i- <i>C</i> <sub>30</sub>	0.17	0.08	0.28	0.28
anteiso-triacontane, a- <i>C</i> <sub>30</sub>	0.26	0.14	1.10	0.70
iso-hentriacontane, i- <i>C</i> <sub>31</sub>	0.48	0.34	2.2	1.3
anteiso-hentriacontane, a- <i>C</i> <sub>31</sub>	0.09	0.05	0.32	0.42
iso-dotriacontane, i- <i>C</i> <sub>32</sub>	0.10	0.07	0.36	0.45
anteiso-dotriacontane, a- <i>C</i> <sub>32</sub>	0.39	0.27	2.4	2.9
iso-tritriacontane, i- <i>C</i> <sub>33</sub>	0.23	0.19	1.15	0.62
anteiso-tritriacontane, a- <i>C</i> <sub>33</sub>	0.04	0.03	0.15	0.15
Σ(n-Alkanes)	32	22	26	11
<i>CPI</i> <sub>tot</sub>	1.19	0.20	1.51	0.52
<i>CPI</i> <sub>bio</sub>	1.23	0.22	2.00	0.57
Pyrene, PYR	2.6	2.4	0.35	0.14
Fluoranthene, FLU	0.68	0.72	0.07	0.03
Benzo[a]anthracene, BaA	0.59	0.68	0.06	0.04
Chrysene, CRY	1.2	1.2	0.14	0.07
Benzo[b/k]fluoranthenes, BbkF	1.6	1.5	0.18	0.11
Benzo[e]pyrene BeP	0.70	0.68	0.06	0.04
Benzo[a]pyrene, BaP	0.83	0.92	0.08	0.07

Indeno[cd]pyrene, IND	1.5	1.3	0.18	0.19
Benzo[ghi]perilene, BghiP	0.92	0.91	0.09	0.06
Coronene, COR	0.64	0.41	0.13	0.11
Σ(PAH)	11	10	1.34	0.73

Xanton	0.30	0.25	0.06	0.05
9,10-anthracenedione, ANQ-DO	0.21	0.17	0.03	0.02
cyclopenta[def]phenanthrenone, CPPH-O	0.22	0.18	0.04	0.03
benzo[a]fluoren-11-one, BaF-O	0.34	0.30	0.05	0.14
benzo[b]fluoren-11-one, BbF-O	0.31	0.26	0.08	0.21
benz[de]anthracen-7-one, BdeA-O	1.9	1.8	0.37	0.83
benz[a]anthracene-7,12-dione, BaA-DO	0.20	0.13	0.02	0.02
Σ(O-PAH)	3.2	2.9	0.7	1.1

Palmitic acid	83	53	75	23
Stearic acid	39	23	8.4	2.7
Oleic acid	0.34	0.78	4.3	2.5
Dehydroabietic acid, DHAA	30	107	18	18
Levoglucozan	337	174	112	84
Cholesterol	0.02	0.06	2.4	12
Palmitic/Stearic acids	2.2	0.43	9.1	1.7
Oleico/Stearic acids	0.01	0.01	0.52	0.26
Stearic/Palmitic acids	0.48	0.09	0.11	0.02
Levoglucozan/ DHAA	12	0.17	6.06	0.09

575

576

577 CPI: Carbon Preference Index (ratio of the sum of odd carbon number n-alkanes to  
578 the sum of even number n-alkanes computed over the whole investigated range

579 ( $C_{21} \geq C_{33}$   $CPI_{tot}$ ) and on biogenic n-alkanes ( $C \geq C_{26}$ ,  $CPI_{bio}$ ).

Variable	Code
n-eicosane	$C_{20}$
n-heneicosane	$C_{21}$
n-docosane	$C_{22}$
n-tricosane	$C_{23}$
n-tetracosane	$C_{24}$
n-pentacosane	$C_{25}$
n-hexacosane	$C_{26}$
n-heptacosane	$C_{27}$
n-octacosane	$C_{28}$
n-nonacosane	$C_{29}$
n-triacontane	$C_{30}$
n-hentriacontane	$C_{31}$
n-dotriacontane	$C_{32}$
n-tritriacontane	$C_{33}$
n-tetratriacontane	$C_{34}$
n-pentatriacontane	$C_{35}$
$\Sigma(\text{anteiso-iso-alkanes})$	$\Sigma(\text{a-i-alkanes})$
$CPI_{tot}$	$CPI_{tot}$
$CPI_{bio}$	$CPI_{bio}$
Pyrene	PYR
Fluoranthene	FLU
Benzo[a]anthracene	BaA
Chrysene	CRY
Benzo[b/k]fluoranthenes	BbkF
Benzo[e]pyrene	BeP
Benzo[a]pyrene	BaP
Indeno[cd]pyrene	IND
Benzo[ghi]perilene	BghiP
Coronene	COR
Xanthon	Xanton
9,10-anthracenedione	ANQ-DO
cyclopenta[def]phenanthrenone	CPPH-O
benzo[a]fluoren-11-one	BaF-O
benzo[b]fluoren-11-one	BbF-O
benz[de]anthracen-7-one	BdeA-O
benz[a]anthracene-7,12-dione	BaA-DO
Palmitic acid	Palmitic acid
Stearic acid	Stearic acid
Oleic acid	Oleic acid
Dehydroabietic acid	DHAA
Levoglucosan	Levoglucosan
Cholesterol	Cholesterol

582 **Figure captions**

583

584

585 **Figure 1:** daily trend of the most abundant chemical markers, total n-alkanes, total  
586 PAHs, total O-PAHs and levoglucosan

587 a): winter

588 b): summer.

589 Symbols: diamond: levoglucosan, squares: total O-PAHs, triangles: total PAHs,  
590 circles: total n-alkanes.

591 For plot scaling, the plotted values for levoglucosan and total n-alkanes are 1/100 and  
592 1/10 of the original values, respectively.

593

594 **Figure 2:** Seasonal evolution in chemical marker concentrations: winter (grey bars)  
595 and summer (black bars) seasonal average concentration ( $ngm^{-3}$ ):

596 a): concentration of  $C_{20}$  -  $C_{32}$  n-alkanes;

597 b): concentrations terms of the IPA and O-IPA investigated.

598

599 **Figure 3:** Loadings of the main 5 PCs emerged from PCA. For variable identification,  
600 see code in the second column of Table 2.

601

602 **Figure 4.** Score plots of the PCA data set showing grouping of winter (empty circles)  
603 and summer (solid circles) samples:

604 a): score plot PC2 (biogenic sources) vs. PC1 (fossil fuel emissions);

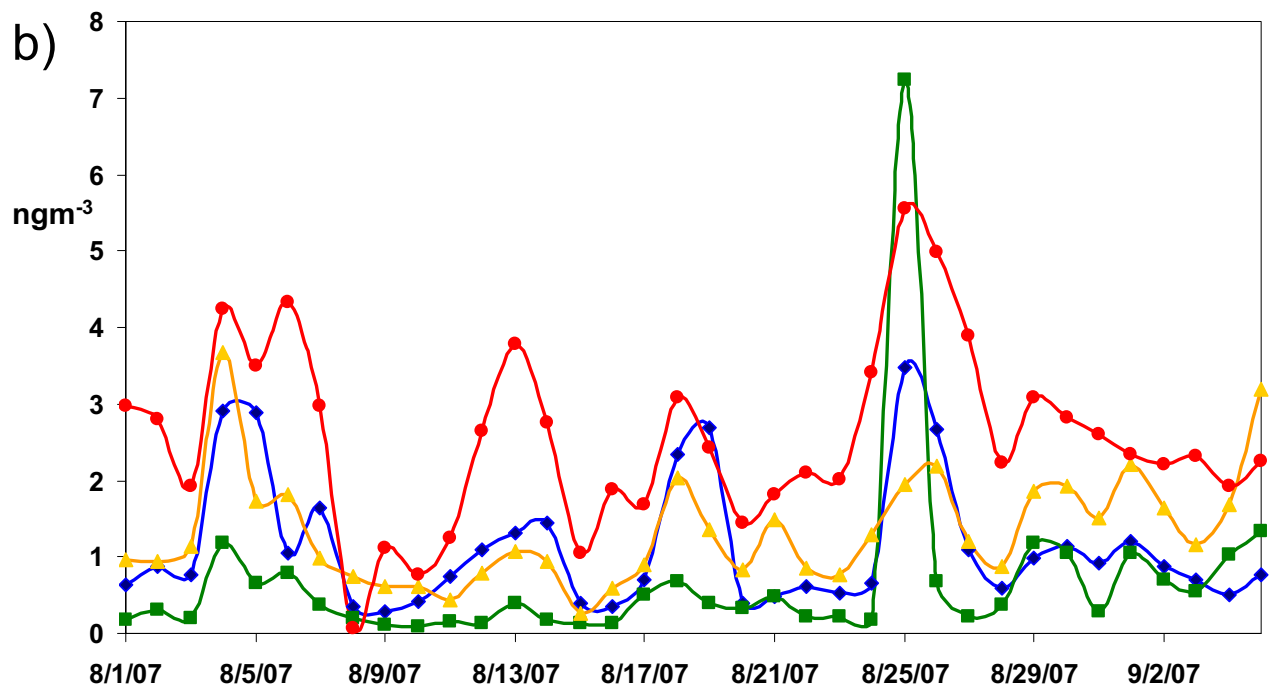
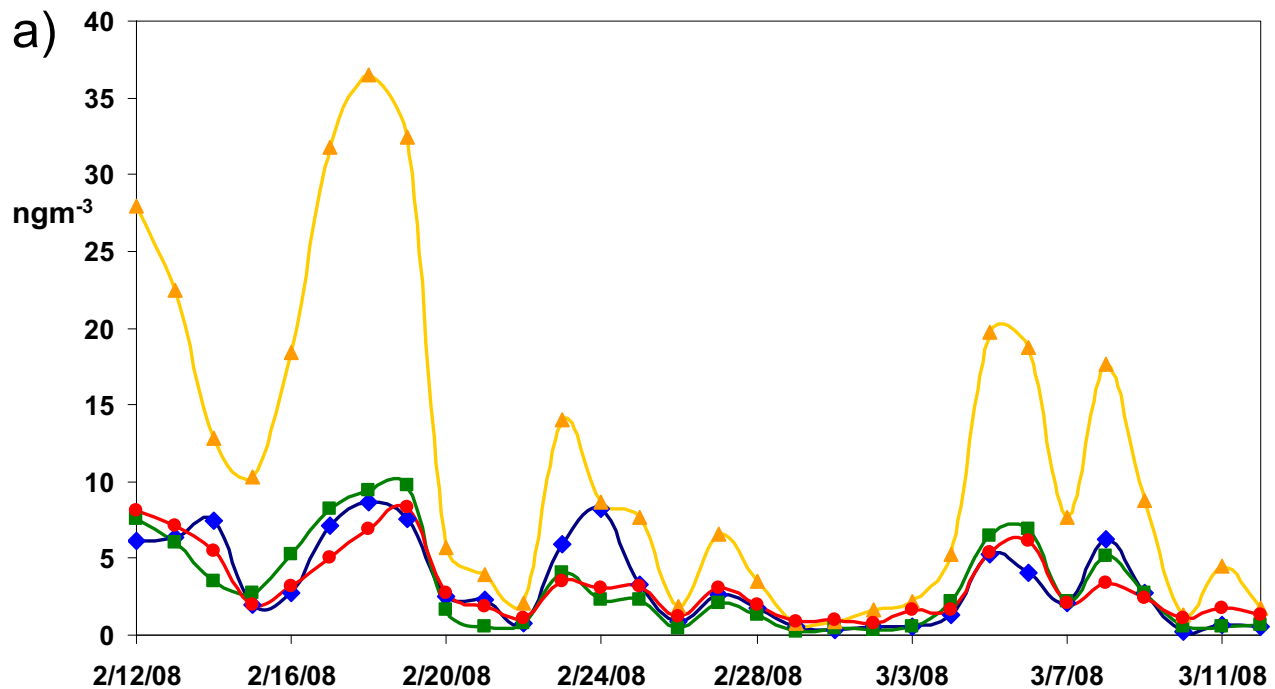
605 b): score plot PC3 (combustion sources) vs. PC2 (biogenic sources).

606

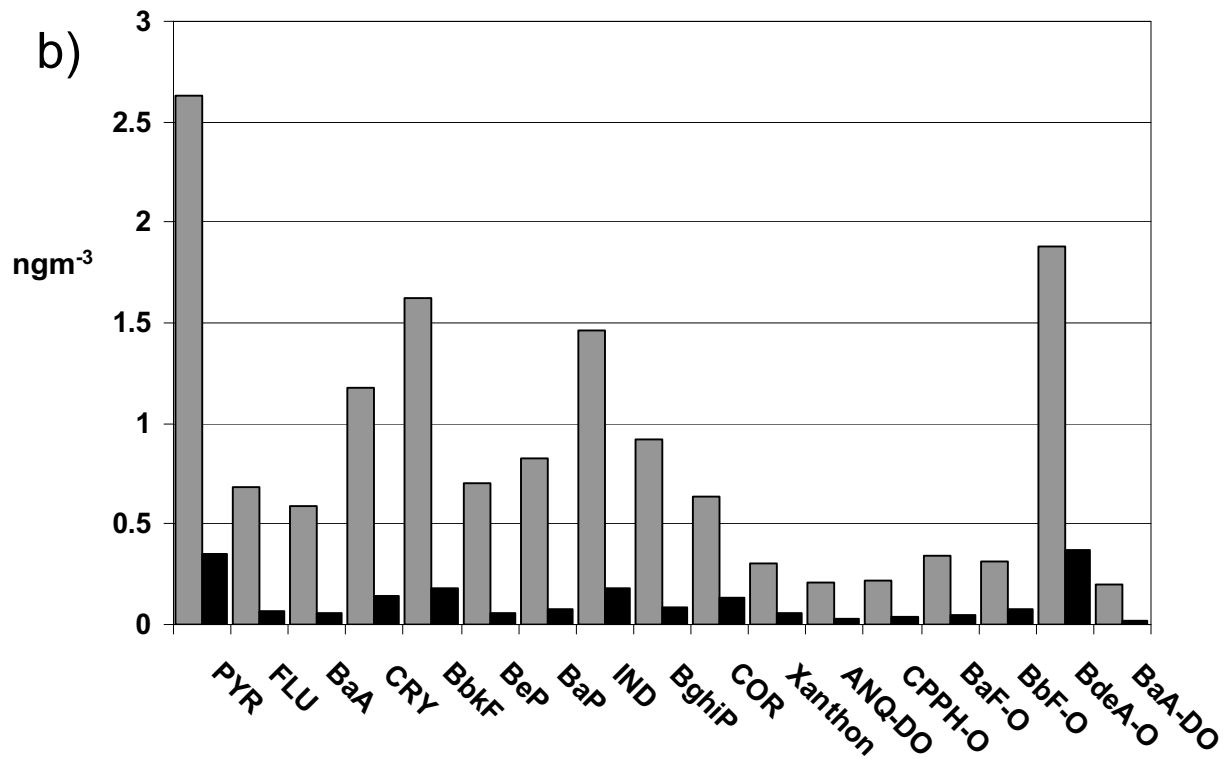
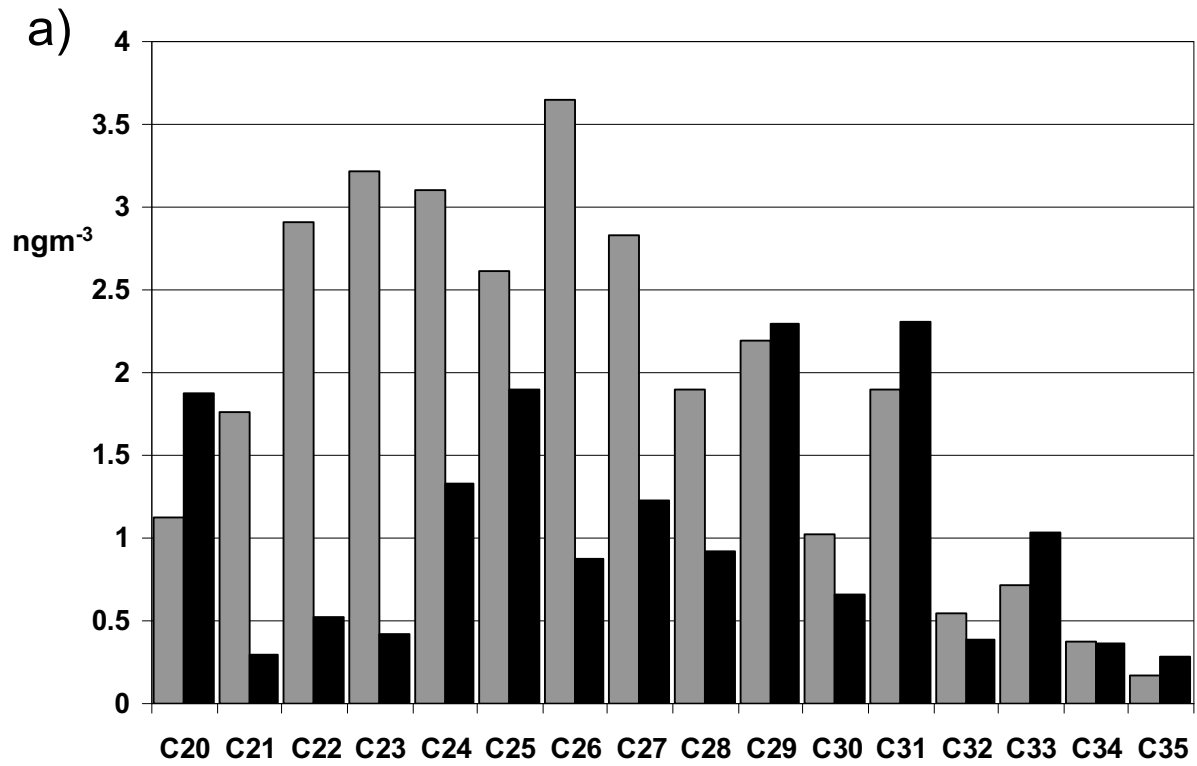
607



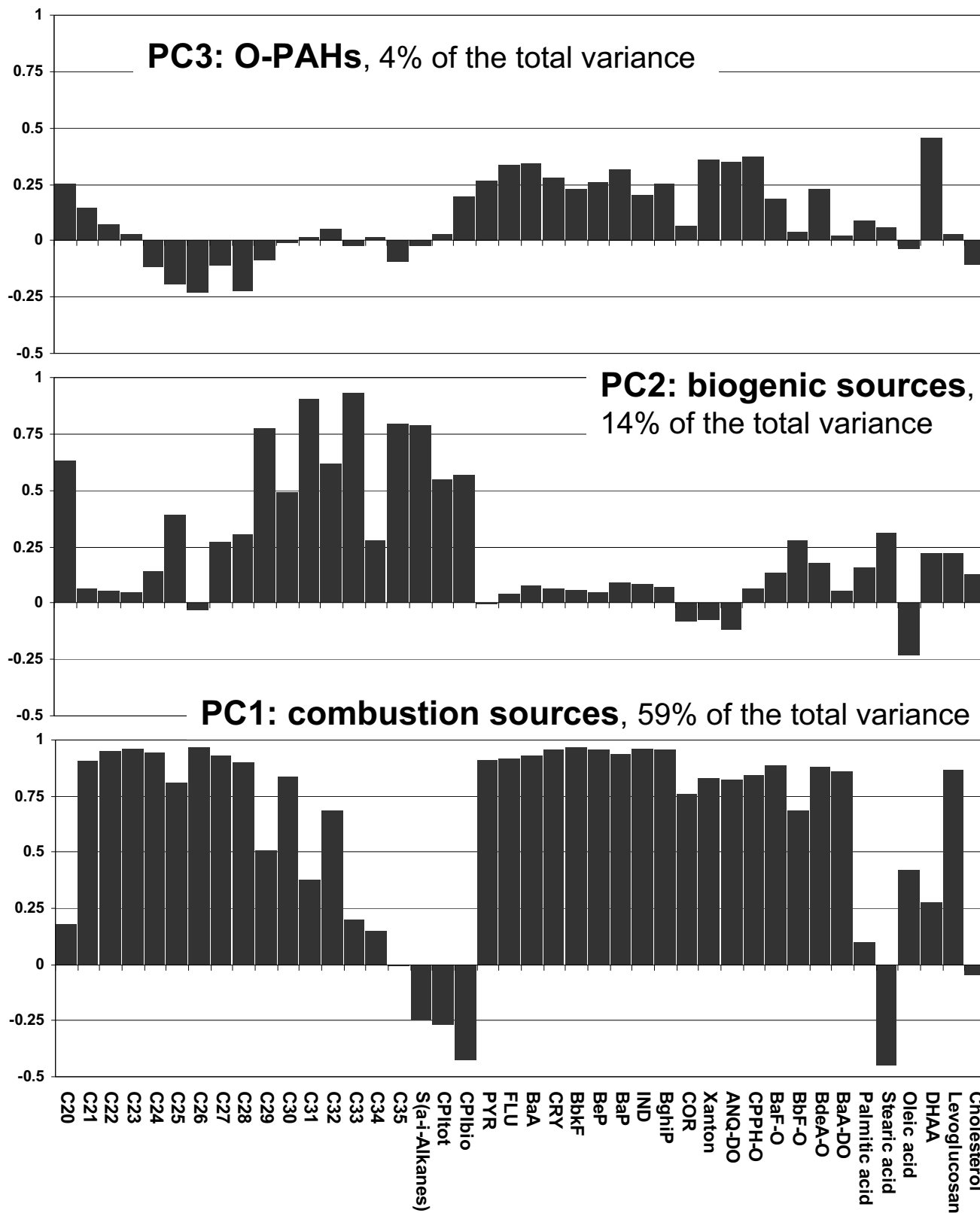
Fig. 1



**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**

