



Università
Ca' Foscari
Venezia

Corso di Laurea Magistrale
in Scienze Ambientali

LM-75 (Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il Territorio)

Tesi di Laurea Magistrale

**Studio degli amminoacidi e degli
zuccheri nelle diverse frazioni
dell'aerosol artico**

Relatore

Prof. Andrea Gambaro

Laureanda

Silvia Tedeschi - 846742

Correlatore

Dott. Matteo Feltracco

Anno Accademico

2018 / 2019

Indice

SCOPO DELLA TESI	7
CAPITOLO 1	9
L'aerosol atmosferico	9
1.1 Definizione e caratteristiche.....	9
1.2 Composizione chimica dell'aerosol.....	13
1.3 Effetti su clima, ecosistemi e salute umana	15
CAPITOLO 2	19
GLI ANALITI	19
2.1 Amminoacidi.....	19
2.2 Zuccheri	25
2.3 Acido metansolfonico (MSA).....	33
CAPITOLO 3	35
AREA DI STUDIO E CAMPIONAMENTO	35
3.1 Isole Svalbard	35
3.2 Campionamento.....	39
CAPITOLO 4	43
STRUMENTAZIONE.....	43
4.1 <i>High Pressure Liquid Cromatography (HPLC)</i>	43
4.2 HPLC di ripartizione.....	45
4.2.1 Separazione cromatografica enantioselettiva	46

4.3	<i>High Performance Anion Exchange Chromatography (HPAEC)</i>	47
4.4	Spettrometria di massa	49
4.4.1	La sorgente.....	50
4.4.2	L'analizzatore.....	51
4.4.3	Il detector.....	53
CAPITOLO 5		55
MATERIALI E METODI		55
5.1	Standard e solventi	55
5.2	Procedura analitica	56
5.3	Trattamento dei campioni	57
5.4	Metodo analitico HPLC-ESI-MS/MS	59
5.5	Metodo analitico HPAEC-ESI-MS	60
CAPITOLO 6		63
RISULTATI E DISCUSSIONE		63
6.1	Andamento di L- e D-amminoacidi	63
6.2	Andamento degli zuccheri	68
6.3	Sorgenti e trasporto	72
6.3.1	Sorgenti e trasporto degli amminoacidi.....	72
6.3.2	Sorgenti e trasporto degli zuccheri	80
6.4	Analisi statistica degli analiti in esame	88
6.4.1	Cenni teorici della <i>cluster analysis</i>	88
6.4.2	Risultati della <i>cluster analysis</i>	89
CONCLUSIONI		93
RINGRAZIAMENTI		95

APPENDICE A	97
BIBLIOGRAFIA	99

Scopo della Tesi

L'aerosol atmosferico, sia di tipo naturale che antropogenico, ha elevati impatti sul clima, sugli ecosistemi e sulla salute dell'uomo. Una componente importante è rappresentata dall'aerosol organico carbonioso, di cui fanno parte gli amminoacidi e gli zuccheri.

L'obiettivo della tesi consiste nello studio degli amminoacidi e degli zuccheri nelle diverse classi dimensionali dell'aerosol artico. La ricerca si focalizza sull'identificazione delle principali sorgenti naturali ed antropiche di questi composti e sui processi di trasporto in atmosfera, attraverso lo studio della composizione e distribuzione dimensionale e il confronto con *markers* specifici. Il campionamento è stato condotto presso il laboratorio di Gruvebadet, alle Isole Svalbard, utilizzando un campionatore ad alto volume con un impattore multistadio.

La determinazione degli amminoacidi è stata eseguita attraverso cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata a spettrometria di massa (triplo quadrupolo), mentre gli zuccheri sono stati determinati mediante cromatografia ionica accoppiata a spettrometria di massa (singolo quadrupolo).

Capitolo 1

L'aerosol atmosferico

1.1 Definizione e caratteristiche

Il termine *aerosol* viene utilizzato per indicare l'insieme di particelle liquide o solide sospese in un mezzo gassoso (Prospero et al., 1983). In particolare, l'aerosol atmosferico comprende particelle¹ di diverso diametro: la diversità delle sorgenti ne determina formazione e composizione. La dimensione è uno dei parametri più importanti per distinguere l'aerosol e il suo comportamento chimico in atmosfera. Il diametro delle particelle ricopre un range che va da pochi nanometri (nm) fino a centinaia di micrometri (μm) (Calvo et al., 2013) e in base ad esso si possono distinguere tre frazioni (Marconi, 2003; Prospero et al., 1983):

- frazione ultrafine (*ultrafine fraction*), comprende particelle fino ad un diametro di $0.1 \mu\text{m}$;
- frazione fine (*fine fraction*), è la classe dimensionale intermedia che include particelle nell'intervallo $0.1\text{-}2.5 \mu\text{m}$;
- frazione grossolana (*coarse fraction*), presenta diametro fino a $100 \mu\text{m}$.

I processi di formazione delle particelle variano a seconda della classe granulometrica alla quale appartengono e si possono distinguere tre mode relative alla distribuzione dimensionale dell'aerosol atmosferico (Figura 1.1).

La moda di nucleazione (*nucleation mode*) si riferisce a particelle con diametro

¹ I termini materiale particellato e particolato vengono talvolta utilizzati come sinonimi di "aerosol", sebbene non sia propriamente corretto poiché viene esclusa la componente liquida.

fino a 0.1 μm , quindi quelle appartenenti alla frazione ultrafine. Queste sono generate principalmente per nucleazione omogenea di fasi gassose sovrassature (come SO_2 , NH_3 , NO_x) costituite da un'unica o più specie chimiche. Le particelle ultrafini coagulano abbastanza velocemente, portando alla moda di accumulazione (*accumulation mode*). Questa moda comprende le particelle fini, le quali derivano oltre che dalla coagulazione di particelle ultrafini, anche dalla condensazione di molecole gassose su particelle già esistenti nello stesso intervallo (adsorbimento) e da processi di conversione gas-particella, cioè dalla reazione di gas atmosferici con ossidanti per produrre specie meno volatili. Infine, la moda grossolana (*coarse mode*) ricopre l'intervallo di particelle con diametro 2.5-100 μm . Queste sono generate, invece, da processi meccanici di erosione, macinazione di particelle con dimensioni maggiori, risospensione e trasporto generati dall'azione del vento e immissione di spray marino.

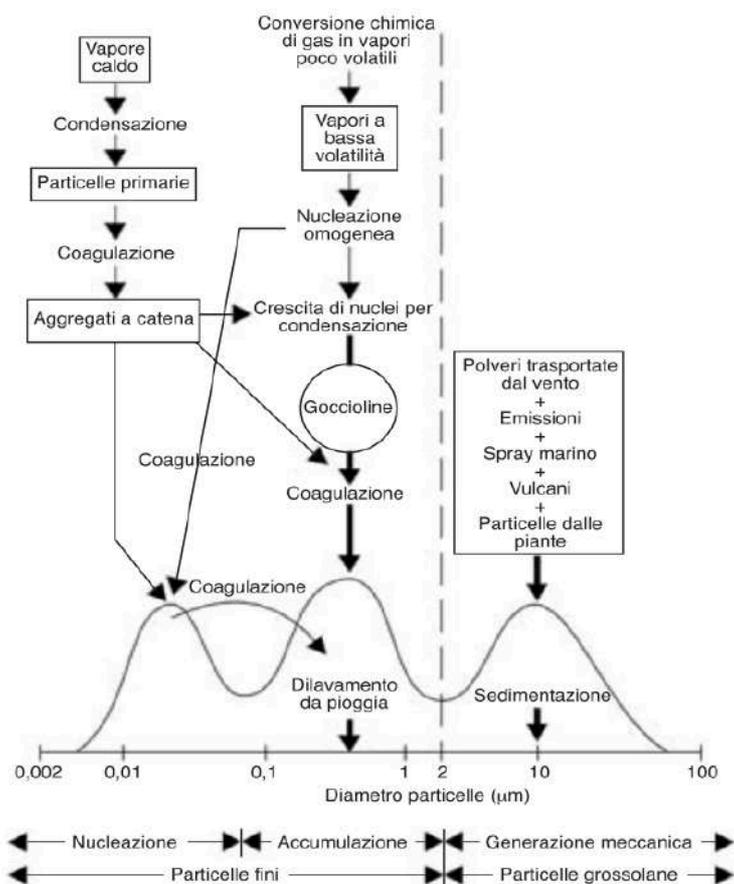


Figura 1.1 Distribuzione dimensionale delle particelle aerodisperse e schematizzazione della loro origine e reazioni chimico-fisiche (Marconi, 2003)

I meccanismi di trasformazione e di rimozione dell'aerosol sono strettamente legati al tempo di residenza del materiale particolato in atmosfera.

I principali processi di rimozione sono due: deposizione umida e deposizione secca. La prima consiste nell'incorporazione di particelle in gocce d'acqua durante fenomeni di precipitazione all'interno delle nuvole (*rainout*) o nella collisione di gocce di pioggia e particelle al di sotto delle nubi (*washout*). Il secondo tipo di deposizione, invece, è riferito a particelle che raggiungono la superficie per diffusione (generata dal movimento di mulinelli d'aria), per impatto (quando avvengono cambiamenti della corrente d'aria e le particelle non riescono a seguire la modificazione e impattano sulla superficie) o per gravità (Davidson and Wu, 1990; Prospero et al., 1983).

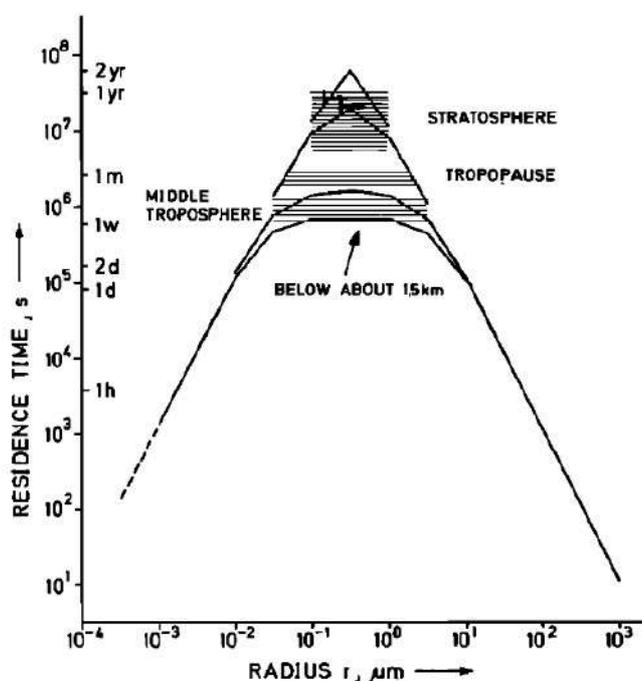


Figura 1.2 Tempo di residenza in atmosfera delle particelle in funzione della dimensione (Prospero et al., 1983)

Il tempo di residenza in atmosfera del materiale particolato è molto variabile e non è solo funzione dei processi di rimozione e trasformazione, ma dipende anche da due fattori:

1. dimensione delle particelle
2. localizzazione nei diversi strati dell'atmosfera

L'aerosol ultrafine è caratterizzato da particelle soggette ai fenomeni di trasporto a lungo raggio e può, però, subire facile coagulazione e condensazione generando così particelle fini. Le particelle fini sono generalmente troppo piccole per sedimentare e troppo grandi per coagulare, acquisendo proprietà intermedie tra particelle ultrafini e grossolane. Particelle ultrafini e fini percorrono distanze estese e sono soggette a deposizione umida, unendosi a gocce d'acqua durante fenomeni meteorologici. La frazione grossolana generalmente sedimenta molto velocemente (Figura 1.2) e rimane in atmosfera poche ore o minuti, depositandosi quindi vicino alle sorgenti di emissione. Inoltre, particelle comprese tra 0.1 e 10 μm permangono in troposfera circa una settimana, mentre nella stratosfera possono resistere per mesi o anni. Questa differenza è legata principalmente alla distribuzione del vapore acqueo e a quella di specie reagenti prodotte fotochimicamente, come ozono e radicale ossidrile (Prospero et al., 1983). Il vapore acqueo influenza i processi di rimozione e in seguito ad una inferiore rimozione umida nella stratosfera rispetto alla troposfera, le particelle fini, specialmente quelle con un diametro attorno a 0.3 μm permangono in atmosfera per tempi più lunghi (Jaenicke, 1981).

Un'altra classificazione è relativa all'origine dell'aerosol, in particolare alla distinzione tra sorgenti primarie e secondarie e tra sorgenti naturali ed antropiche. Le particelle costituenti l'aerosol primario vengono emesse direttamente dalla sorgente. Tra le fonti di generazione naturali si possono elencare processi di erosione del suolo, frantumazione di particelle maggiori, emissione di spray marino, eruzioni vulcaniche, emissioni da parte di specie vegetali e combustione di biomassa. Le sorgenti antropiche sono principalmente attività industriali, inquinamento urbano ed inquinamento domestico (Calvo et al., 2013).

L'aerosol secondario, invece, deriva da reazioni chimiche tra particelle primarie e molecole oppure da processi di conversione gas-particella in atmosfera in situazioni di sovrasaturazione. Esempi di questi processi sono l'ossidazione di composti organici volatili (VOCs) da parte di radicali ossidrile (OH), radicali nitrato (NO_3) e ozono (O_3) oppure la nucleazione e condensazione di gas (NO_x e SO_x) su particelle preesistenti (Kroll and Seinfeld,

2008; Turpin and Huntzicker, 1989).

1.2 Composizione chimica dell'aerosol

L'aerosol atmosferico è costituito sia da molecole inorganiche che organiche originate da fonti molto diverse tra loro. Per quanto riguarda i composti inorganici, l'aerosol presenta sali, principalmente di nitrato e solfato, generati rispettivamente da acido nitrico e acido solforico (Jacobson et al., 2000) e polveri terrestri o polveri minerali insolubili come particelle di quarzo, calcite, dolomia, argille, feldspati ed altri minerali (Calvo et al., 2013). Queste particelle derivano da erosione eolica di zone povere o prive di vegetazione come deserti, letti di fiumi e in generale superfici aride. Il materiale crostale è un'importante fonte di ferro e di fosforo e per questo motivo le polveri minerali giocano un ruolo chiave nel trasferimento di questi elementi tra sistema terrestre e atmosfera. Le forme azotate sono rappresentate principalmente da nitrati e ammonio, prodotti secondari dell'ossidazione di ossido di azoto (NO) e ammoniaca (NH₃). Questi derivano da attività degradativa batterica nel suolo e da operazioni agricole, come l'utilizzo di fertilizzanti (Mahowald et al., 2011). La frazione solforosa consiste specialmente in solfati derivanti da gas precursori, cioè biossido di zolfo (SO₂) e dimetilsolfuro (DMS) che subiscono ossidazione in atmosfera. Il biossido di zolfo è emesso per più del 70% da attività antropiche, mentre il dimetilsolfuro rappresenta la principale fonte naturale di zolfo in atmosfera (Calvo et al., 2013). Esso deriva dal dimetilsolfoniopropionato (DMSP) ed è una forma biogenica di zolfo prodotta specialmente da comunità fitoplanctoniche nelle acque marine (Becagli et al., 2016; Park et al., 2018). Dal dimetilsolfuro si originano per ossidazione l'acido metansolfonico (MSA) e *non-sea salt sulphate* (nssSO₄²⁻) (Legrand and Pasteur, 1998).

L'aerosol organico è caratterizzato da un'ampia varietà di composti, per alcuni dei quali la composizione non è ancora conosciuta. La frazione carboniosa del particolato è costituita da carbonio organico (OC) e carbonio elementare (EC). Quest'ultimo viene definito come la frazione altamente polimerizzata, di colore

scuro e resistente ad ossidazione a temperature inferiori a 400°C. Rappresenta il contenuto carbonioso di materiale simile a grafite presente nella fuliggine (*soot*), cioè il prodotto della combustione o pirolisi incomplete di idrocarburi, e in altri tipi di particolato derivante da combustione. Deriva, quindi, direttamente da processi di combustione di carburanti e se prese in considerazione le proprietà ottiche il carbonio elementare viene chiamato *black carbon* (BC) (Lavanchy et al., 1999; Pöschl, 2005). Dal punto di vista concettuale è difficile considerare una netta separazione tra carbonio organico e carbonio elementare poiché quest'ultimo è quasi sempre legato a composti organici (Jacobson et al., 2000).

È importante sottolineare la presenza di una frazione di materiale particolato organico idrosolubile, chiamata anche WSOC (*Water Soluble Organic Carbon*). Essa è caratterizzata da molti composti, tra i quali acidi mono- e di-carbossilici, carboidrati, proteine ed amminoacidi, alcoli, ammine, eteri (Saxena and Hildemann, 1996) e possono arrivare a rappresentare fino al 95% del carbonio organico totale (Yttri et al., 2007b).

L'aerosol organico carbonioso, a differenza del carbonio elementare, può essere classificato sia di origine primaria che secondaria. L'aerosol organico primario (*Primary Organic Aerosol - POA*) viene emesso in maggior misura da vegetazione, suolo e superficie marina, andando a formare il cosiddetto aerosol biogenico primario, nonché combustione di biomassa (incendi boschivi). Sono da considerare anche le fonti di origine antropica, vale a dire processi di combustione di legname, attività industriali, riscaldamento domestico, emissioni da cotture alimentari e traffico stradale. Gli autoveicoli emettono n-alcani e idrocarburi policiclici aromatici (IPA) in quantità diverse a seconda del tipo di carburante utilizzato. Motori diesel emettono più n-alcani di motori a gasolio, e questi ultimi emettono più IPA ad alto peso molecolare (Pant and Harrison, 2013). L'aerosol organico secondario (*Secondary Organic Aerosol - SOA*), invece, ha origine dall'ossidazione e conversione gas-particella di composti organici volatili o semivolatili (VOCs e SVOCs). Tra questi sono presenti non solo VOCs di origine antropica ma anche quelli emessi dalla biosfera (Pöschl, 2005).

1.3 Effetti su clima, ecosistemi e salute umana

Il materiale particolato naturale ed antropogenico ha elevati impatti sia sul clima che sugli ecosistemi. Infatti, esiste una forte interazione tra l'aerosol e la radiazione solare e terrestre, il sistema nuvole-precipitazioni e i cicli biogeochimici.

Gli effetti climatici si possono distinguere in diretti ed indiretti. Gli effetti diretti sono determinati dalle proprietà ottiche dell'aerosol, che comportano un'alterazione del forzante radiativo o *radiative forcing*. Questo è definito come i cambiamenti nei flussi di energia di radiazione solare e radiazione terrestre nell'atmosfera, provocati da modificazioni naturali ed antropiche dell'attività solare, della composizione dell'aerosol e delle caratteristiche della superficie terrestre. Se il *forcing* è positivo si ha un aumento dell'assorbimento della radiazione terrestre da parte di gas serra e del sistema nubi, comportando un riscaldamento della terra. Se, invece, il *forcing* è negativo, esso si traduce in una maggiore dispersione e riflessione della radiazione solare da parte dell'aerosol e delle nuvole causando un raffreddamento della superficie terrestre (Pöschl, 2005). Il *black carbon*, per esempio, costituisce solo una piccola parte dell'aerosol ma essendo un forte composto che assorbe radiazione luminosa ha un alto impatto climatico. È in grado di assorbire la radiazione sia in atmosfera sia dopo il suo rilascio dalla stessa, quando si deposita sulla neve (Calvo et al., 2013).

Gli effetti indiretti sono provocati invece dalla formazione delle nubi da parte dell'aerosol, specialmente formato da sali inorganici e composti organici solubili, che agisce da nucleo di condensazione (*Cloud Condensation Nuclei* – CCN) o da nucleo di cristallizzazione (*Ice Nuclei* - IN) per la formazione di cristalli di ghiaccio. Questo è possibile grazie alla natura igroscopica delle particelle, che permette la crescita di goccioline di acqua per condensazione di vapore acqueo attorno ai CCN. Questo si traduce, inoltre, in un impatto sul ciclo idrologico globale.

Secondo alcuni studi (Flanner et al., 2009, 2007), un altro possibile effetto indiretto dell'aerosol sul clima è generato dalla sua interazione con la neve. Infatti, quando il materiale particolato, caratterizzato principalmente da

particelle con un elevato assorbimento di lunghezze d'onda brevi del visibile (per esempio *black carbon* e polveri minerali) si deposita sulla neve o su ghiaccio marino, esso può ridurre l'albedo. Questi cambiamenti nell'albedo della neve hanno ripercussioni poi sul suo periodo di scioglimento e scatenano dei feedback positivi o negativi.

L'interazione con gli ecosistemi e i cicli biogeochimici è attribuibile alla deposizione del particolato sulla superficie terrestre. Le emissioni di diverse forme di azoto operate dall'uomo in atmosfera (in seguito all'utilizzo di fertilizzanti o a combustione) impattano direttamente sulla deposizione di azoto al suolo e negli oceani, modificando così il suo ciclo biogeochimico (Mahowald et al., 2011).

L'azoto è spesso un fattore limitante di molti ecosistemi, vale a dire che è presente in concentrazione inferiore rispetto a quella necessaria, ma la deposizione di specie chimiche azotate presenti in atmosfera può favorire la fertilizzazione di quelle zone. Tuttavia, la deposizione di aerosol può essere anche dannosa: le attività antropiche emettono sostanze azotate nell'ambiente in quantità più elevate alla naturale capacità degli ecosistemi di assimilarle e quindi, una volta depositate, vanno a disperdersi nei suoli o ad accumularsi nei laghi, fiumi e acque sotterranee causando eutrofizzazione. La deposizione di particolato non consiste unicamente nel rilascio di nutrienti come azoto e fosforo al suolo: le sostanze depositate possono essere tossiche e possono modificare il pH. Un esempio è dato dal fenomeno delle piogge acide, generate in atmosfera in seguito all'aumento di biossido di zolfo (SO_2), un inquinante di tipo antropico, e in misura minore di ossidi di azoto (NO_x). Questi gas, a contatto con l'acqua, vengono convertiti in acido solforico e acido nitrico, provocando un abbassamento del pH delle precipitazioni, le quali depositandosi al suolo causano danni ad edifici e materiali, vegetazione ed acidificazione di bacini idrici e fiumi (Mahowald, 2011).

Per quanto riguarda gli effetti dell'aerosol sulla salute umana, studi epidemiologici confermano che il particolato atmosferico ha conseguenze negative, nello specifico provoca danni a livello respiratorio e cardiovascolare, aumento della mortalità e di allergie (Pöschl, 2005). La pericolosità non è la stessa, ma è variabile a seconda della dimensione dell'aerosol. Più piccola è la particella, maggiore è la sua capacità di penetrare nel sistema respiratorio e

circolatorio. Le particelle più pericolose sono quindi quelle con diametro inferiore a 10 μm : una volta inalate, riescono a penetrare le membrane del sistema respiratorio e particelle fini e ultrafini vengono scambiate con il sangue entrando nel sistema circolatorio. L'aerosol, inoltre, ha un grado di rischio diverso a seconda non solo della dimensione ma anche delle caratteristiche chimiche (Kim et al., 2015). Per esempio, i metalli di transizione come il ferro possono essere mutageni e quindi causare danni al materiale genetico (Gilli et al., 2007). Secondo Pöschl (2005), le molecole proteiche, che compongono circa il 5% dell'aerosol urbano, sono tra le principali responsabili dell'insorgenza di allergie. Sono presenti sia nella frazione più grossolana dell'aerosol di origine biologica che nella frazione fine (piccoli frammenti di pollini, microrganismi, resti vegetali).

Capitolo 2

Gli analiti

2.1 Amminoacidi

Gli amminoacidi sono composti organici idrosolubili che presentano un gruppo carbossilico (-COOH) e un gruppo amminico (-NH₂). Essi si presentano come zwitterioni o ioni dipolari, cioè molecole con cariche sia positive che negative localizzate. Questo avviene poiché il gruppo carbossilico (che agisce da acido) e quello amminico (che agisce da base) reagiscono tra di loro per formare un sale interno. In funzione del pH, la molecola può essere neutra, positiva o negativa.

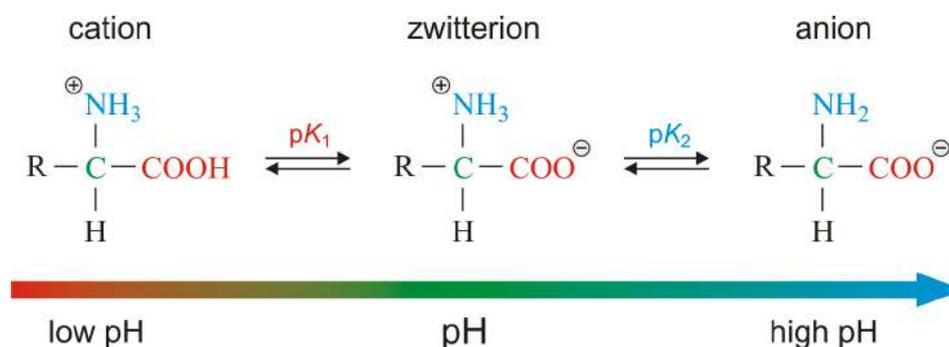


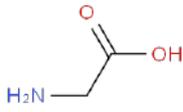
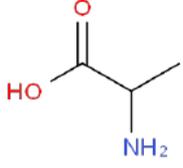
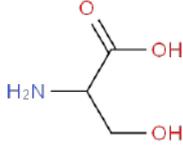
Figura 2.1 Forma cationica, zwitterionica e anionica degli amminoacidi

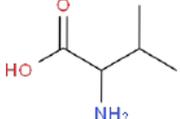
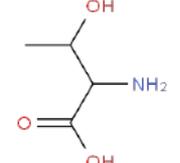
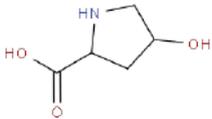
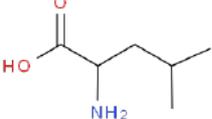
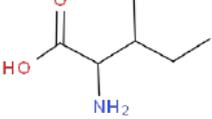
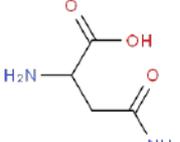
Gli amminoacidi che compongono le proteine sono 20 e sono presenti come α -amminoacidi, ovvero i gruppi carbossilico e amminico sono legati a uno stesso atomo di carbonio. Gli altri due gruppi legati al carbonio α sono un atomo di idrogeno e la catena laterale (o gruppo R). Tutti gli amminoacidi, tranne la

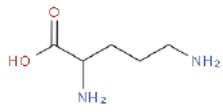
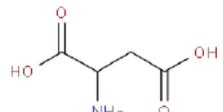
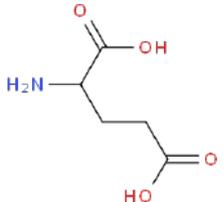
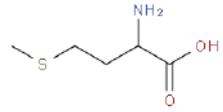
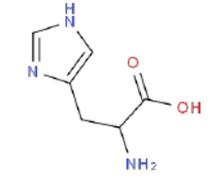
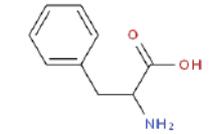
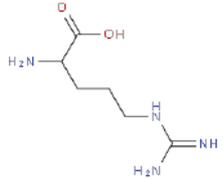
glicina, hanno quindi uno stereocentro, rendendo la molecola chirale. La catena laterale è ciò che differenzia gli amminoacidi: è diversa per struttura, dimensione e carica e va ad influire sulla solubilità in acqua dell'amminoacido. Avendo uno stereocentro, i quattro gruppi diversi si possono disporre nello spazio secondo due configurazioni. Pertanto, le molecole amminoacidiche presentano due enantiomeri, cioè immagini speculari l'una dell'altra non sovrapponibili. I due enantiomeri hanno le medesime proprietà chimico-fisiche, ma sono in grado di ruotare la luce polarizzata in due diverse direzioni. La nomenclatura degli amminoacidi si basa sulla configurazione assoluta stabilita da Fischer nel 1891, come per gli zuccheri, che prevede la distinzione di L- e D-amminoacidi a seconda che la loro configurazione sia correlata a quella della L-gliceraldeide o della D-gliceraldeide rispettivamente. In natura la maggior parte degli amminoacidi ha configurazione L, mentre gli stereoisomeri D sono presenti in pochi peptidi, di piccole dimensioni, caratteristici della parete cellulare batterica (Cox et al., 2006).

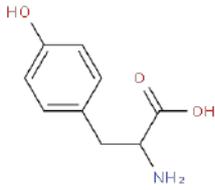
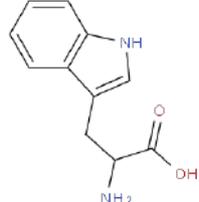
In Tabella 2.1 sono elencati gli amminoacidi analizzati nel presente lavoro di tesi.

Tabella 2.1 Composto, simbolo, peso molecolare e struttura degli amminoacidi in esame

Composto	Simbolo	Peso molecolare	Struttura
Glicina	Gly	75.07	
Alanina	Ala	89.09	
Serina	Ser	105.09	

Prolina	Pro	115.13	
Valina	Val	117.15	
Treonina	Thr	119.12	
t-4- Idrossiprolina	4-Hyp	131.13	
Leucina	Leu	131.17	
Isoleucina	Ile	131.17	
Asparagina	Asn	132.12	

Ornitina	Orn	132.16	
Acido aspartico	Asp	133.10	
Acido glutammico	Glu	147.13	
Metionina	Met	149.21	
Istidina	Hys	155.16	
Fenilalanina	Phe	165.19	
Arginina	Arg	174.20	

Tirosina	Tyr	181.19	
Triptofano	Trp	204.23	

In base all'indice idropatico², gli amminoacidi possono essere distinti in tre classi (Pommié et al., 2004):

1. idrofobici: alanina, fenilalanina, leucina, isoleucina, metionina, triptofano, valina;
2. neutri: glicina, istidina, prolina, serina, tirosina, treonina;
3. idrofilici: arginina, acido aspartico, acido glutammico, asparagina.

Oltre ai 20 amminoacidi essenziali che costituiscono le proteine, esistono anche amminoacidi meno comuni, derivanti da modificazioni di natura chimica di residui già incorporati in polipeptidi. Un esempio è la *trans*-4-idrossiprolina, presente nelle proteine che formano la parete cellulare vegetale (Cox et al., 2006).

I composti amminoacidici costituiscono una frazione del carbonio organico idrosolubile (Saxena and Hildemann, 1996). Essi rientrano anche tra i più significativi composti organici azotati presenti in natura, poiché compongono le proteine. Questi composti prevedono due forme distinte: amminoacidi liberi (*free amino acids* - FAA) ed amminoacidi combinati (*combined amino acids* - CAA), ossia sotto forma di peptidi, polipeptidi e proteine. Gli FAA sono stati rilevati

² Indice che permette di stabilire l'idrofilicità o idrofobicità di un amminoacido sulla base delle caratteristiche chimico-fisiche della catena laterale (Kyte and Doolittle, 1982)

nell'ambiente a concentrazioni inferiori rispetto ai CAA. Infatti, nei sistemi biologici è più frequente trovare gli amminoacidi nella loro forma combinata piuttosto che in quella libera (Milne and Zika, 1993). Gli amminoacidi sono molto studiati per la loro biodisponibilità in seguito a deposizione, per il loro possibile ruolo nei processi ecologici e nella nutrizione delle piante (Zhang and Anastasio, 2003). Per quanto riguarda la biodisponibilità di azoto e l'assimilazione di questo da parte delle piante, in uno studio relativo alla concentrazione di azoto organico disciolto (*dissolved organic nitrogen* – DON) nel percolato dell'orizzonte pedologico Oa (quello più superficiale, ricco di sostanza organica decomposta), esso era presente in percentuali elevate, tra il 77 e il 99% dell'azoto totale e l'azoto proveniente da FAA e CAA rappresentava il 59-78% del DON (Yu et al., 2002).

Per quanto riguarda l'azoto a livello atmosferico Zhang e Anastasio (2001) riportano una quantità significativa di azoto organico disciolto nelle nebbie della Central Valley (California), circa il 16% dell'azoto totale quantificato. Di questo, circa il 3.4% del DON era caratterizzato da azoto di amminoacidi liberi, mentre una quantità superiore (6.1-29%) era rappresentata da azoto di amminoacidi combinati. I composti organici azotati presenti in atmosfera possono influire, quindi, sul ciclo biogeochimico dell'azoto.

Gli amminoacidi mostrano diversi tipi di reattività e tempi di semi-vita che ricoprono un lungo intervallo: alcuni vanno da pochi minuti od ore fino ad alcuni mesi. Due amminoacidi molto reattivi sono la metionina e il triptofano. Questi permangono pochi minuti in atmosfera e vanno incontro a reazioni fotochimiche, che possono essere dirette o indirette. In reazioni fotochimiche dirette gli amminoacidi assorbono la radiazione e si degradano; in quelle indirette, invece, si producono dei reattivi intermedi (radicale OH; O₃) che reagiscono poi con gli amminoacidi causando la loro degradazione (McGregor and Anastasio, 2001). Un esempio è dato dalla produzione di ioni ammonio, ammidi e acidi chetonici per reazioni di amminoacidi con radicale ossidrilico (Milne and Zika, 1993).

A livello continentale, gli amminoacidi provengono dalla vegetazione, pollini, spore fungine e batteri (Barbaro et al., 2015; Milne and Zika, 1993; Zhang and Anastasio, 2003). Sono presenti anche nel suolo e nelle polveri terrestri e sono stati rilevati nelle emissioni vulcaniche e in seguito a processi di combustione

di biomassa (Mace et al., 2003; Mukhin et al., 1978; Scalabrin et al., 2012; Scheller, 2001). È stato inoltre ipotizzato il ruolo di ice nuclei per alcuni amminoacidi, come la L-leucina, e il loro coinvolgimento nella formazione di nuvole (Szyrmer and Zawadzki, 1997). Per quanto riguarda l'ambiente marino, questi composti organici idrosolubili derivano principalmente da produzione biologica primaria operata da fitoplancton e dalla degradazione batterica (Barbaro et al., 2015b; Scalabrin et al., 2012).

Uno studio sulle concentrazioni di amminoacidi liberi a livello globale ha evidenziato che le concentrazioni di questi composti tendono ad essere maggiori in primavera-estate rispetto al periodo invernale (Matos et al., 2016). Le concentrazioni medie di amminoacidi in atmosfera sono state calcolate in diversi ambienti. In aree polari, le concentrazioni medie sono nettamente inferiori rispetto a contesti rurali o urbani: in Artico la concentrazione media nel PM10 era di $0.6 \pm 0.3 \text{ ng m}^{-3}$ nel periodo primaverile (Feltracco et al., 2019) e in Antartide di 0.11 ng m^{-3} in estate (Barbaro et al., 2015; Matos et al., 2016), mentre per ambiente rurale la media era di 18.7 ng m^{-3} in primavera (Mace et al., 2003; Matos et al., 2016) e di 271.5 ng m^{-3} per ambiente urbano in estate (Di Filippo et al., 2014).

2.2 Zuccheri

Gli zuccheri (chiamati anche carboidrati o glucidi) sono macromolecole biologiche con diverse funzioni: a) strutturali e protettive, dato che sono presenti nella parete cellulare batterica e vegetale, nei tessuti connettivi animali e sono alla base degli acidi nucleici; b) energetica, in seguito alla loro ossidazione; c) nutritiva, poiché sono alla base di una normale dieta (Cox et al., 2006).

I carboidrati sono polidrossialdeidi e polioidrossichetoni, ciò significa che contengono almeno un gruppo aldeidico (o chetonico) e vari gruppi ossidrilici. I glucidi si distinguono in tre classi: monosaccaridi, oligosaccaridi e polisaccaridi. I monosaccaridi sono formati da una sola unità di

poliidrossialdeide o poliidrossichetone e sono quindi definiti come gli zuccheri più semplici. Presentano da tre a nove atomi di carbonio e sono chiamati aldosi se hanno un gruppo aldeidico e chetosi quando il gruppo è chetonico.

Un esempio di questa distinzione è dato dalla gliceraldeide e dal diidrossiacetone (Figura 2.2).

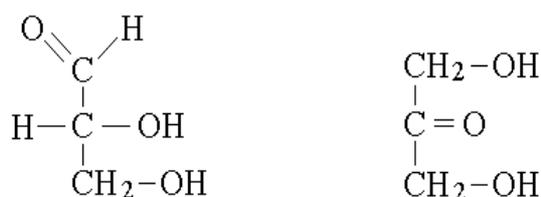


Figura 2.2 Gliceraldeide e diidrossiacetone

Come per gli amminoacidi, la configurazione degli zuccheri si basa sulla convenzione D, L creata da Fischer grazie proprio allo studio sulla gliceraldeide. In Figura 2.3 sono riportati le strutture D- ed L-gliceraldeide che per convenzione vengono presi come esempio per assegnare le configurazioni a tutti gli altri monosaccaridi. I monosaccaridi D sono quelli che presentano al carbonio asimmetrico più lontano dal gruppo carbonilico la stessa configurazione della D-gliceraldeide, cioè quando il gruppo ossidrilico del carbonio chirale si trova alla destra nella proiezione di Fischer. Lo stesso ragionamento, considerando il gruppo ossidrilico a sinistra, vale per la configurazione L.

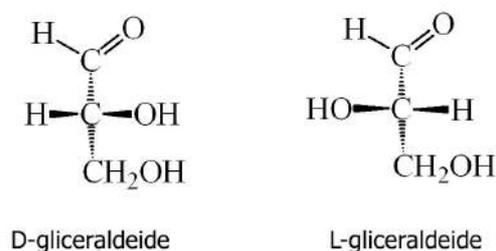


Figura 2.3 Configurazione D, L della gliceraldeide secondo la proiezione di Fischer

Nel mondo biologico, la maggior parte degli zuccheri è presente nella forma D, ma la motivazione non è ancora conosciuta. Inoltre, la maggioranza di essi è

rappresentata da pentosi e da esosi (a cinque e sei atomi di carbonio rispettivamente). I monosaccaridi più abbondanti in natura sono il D-glucosio, il D-galattosio e il D-fruttosio, tutti e tre costituiti da sei atomi di carbonio: glucosio e galattosio sono aldosi, mentre il fruttosio è un chetoso.

I monosaccaridi vengono definiti epimeri quando differiscono per la configurazione attorno ad un atomo di carbonio: un esempio è dato dal D-glucosio e il D-mannosio che sono diversi stereochimicamente a livello del carbonio 2.

Grazie alla presenza di gruppi -OH polari, i monosaccaridi creano facilmente legami idrogeno con l'acqua e sono quindi molto solubili in essa. Quando sono presenti in soluzione acquosa, gli aldotetrosi (quattro atomi di C) e tutti i monosaccaridi con cinque o più atomi di C assumono la forma di emiacetali, cioè una forma ciclica, poiché il gruppo carbonilico forma un legame covalente con l'ossigeno di un gruppo ossidrilico della catena. La forma ciclica è in equilibrio con la forma lineare. Con la forma ciclica, si crea un nuovo centro chirale a livello del carbonio carbonilico e l'emiacetale può assumere due configurazioni, una definita α e l'altra β . L'atomo di carbonio carbonilico viene chiamato anomero e quindi l'emiacetale può assumere due configurazioni anomeriche diverse. L'emiacetale può reagire successivamente con una seconda molecola di alcol e formare un acetale.

I monosaccaridi subiscono diversi tipi di reazioni che portano alla formazione di diversi prodotti di ossidazione e riduzione. Oltre alla produzione di emiacetali e poi acetali, i monosaccaridi possono essere ridotti ad alditoli (o alcol-zuccheri). Questo avviene quando il gruppo carbonilico è ridotto ad ossidrilico da agenti riducenti. Esempi di alditoli sono l'eritritolo, il D-mannitolo e lo xilitolo. In condizioni basiche, inoltre, il gruppo aldeidico di uno zucchero può essere ossidato a gruppo carbossilato ($-\text{COO}^-$). Il D-glucosio, ad esempio, viene ossidato a D-gluconato, che è l'anione dell'acido D-gluconico (Brown and Poon, 2014).

Gli oligosaccaridi contengono due o più unità monosaccaridiche. Tra questi vi sono i disaccaridi, composti da due unità monomeriche unite da legame O-glicosidico: questo si genera quando l'ossidrilico di uno zucchero reagisce con il carbonio anomero di un altro. Il legame glicosidico è idrolizzabile dagli acidi, ma non dalle basi. Inoltre, se i carboni anomeriche di uno zucchero sono tutti

impegnati da questo tipo di legame, esso li rende non ossidabili e gli zuccheri non sono quindi riducenti³. Il saccarosio è il disaccaride più abbondante: è formato da α -D-glucosio e β -D-fruttosio; è sintetizzato dalle piante e non presenta carboni anomericici liberi, quindi è uno zucchero non riducente. Il lattosio è costituito da D-galattosio e D-glucosio ed è, invece, uno zucchero riducente, perché solo un carbonio anomericico (quello del galattosio) è impegnato nel legame.

I polisaccaridi, invece, sono polimeri complessi composti da più di venti unità monosaccaridiche. Differiscono tra loro per lunghezza della catena, tipo di unità costituenti e legami glicosidici e possono presentare anche ramificazioni. Si distinguono in omopolisaccaridi, quando sono formati da un solo tipo di unità monomerica ripetuta molte volte, ed eteropolisaccaridi, se presentano due o più unità diverse. La cellulosa è un omopolisaccaride (unità ripetute di D-glucosio) che svolge funzione strutturale nella parete cellulare vegetale; l'amido, invece, ha un ruolo di riserva di glucosio per le cellule (Cox et al., 2006).

I polisaccaridi come cellulosa, emicellulosa e pectina costituiscono fino al 75% della massa del tessuto vegetale di piante vascolari (Srithawirat and Brimblecombe, 2015).

Un esempio di eteropolisaccaride costituito da N-acetilglucosammina ed acido N-acetilmuramico si trova nel peptidoglicano, polimero costituito da zuccheri e da amminoacidi presente nella parete cellulare batterica.

I carboidrati con due o più unità formano anche complessi definiti glicoconiugati, vale a dire molecole composte da zuccheri (oligosaccaridi o polisaccaridi) legati covalentemente a proteine e lipidi. Si ottengono così glicoproteine e glicolipidi rispettivamente, situati prevalentemente nella membrana citoplasmatica. Permettono di trasmettere informazioni tra cellule, di marcare proteine per trasportare organelli specifici e sono anche siti di riconoscimento di segnali molecolari (Cox et al., 2006).

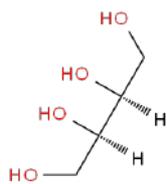
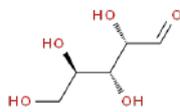
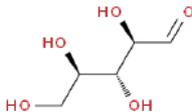
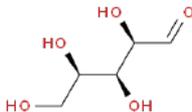
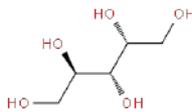
³ Uno zucchero è definito riducente quando presenta un gruppo aldeidico o chetonico in grado di ridurre un composto.

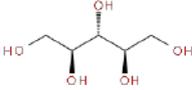
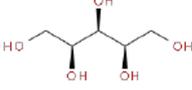
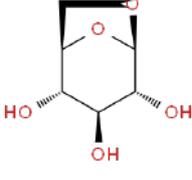
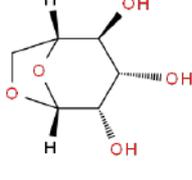
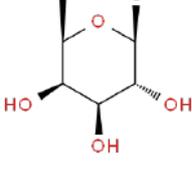
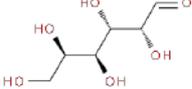
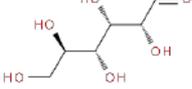
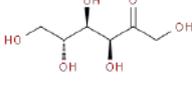
Gli zuccheri analizzati in questo lavoro di tesi rientrano in quattro classi di composti:

1. monosaccaridi: arabinosio, fruttosio, galattosio, glucosio, mannosio, ribosio e xilosio
2. disaccaridi: saccarosio
3. alcol-zuccheri (alditoli): iso-eritritolo, mannitolo, sorbitolo, xilitolo, maltitolo, galactitolo ed arabitolo
4. anidro-zuccheri: levoglucosan, mannosan e galactosan

In Tabella 2.2 sono elencati gli zuccheri analizzati nel presente lavoro di tesi.

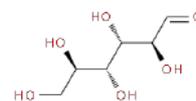
Tabella 2.2 Composto, peso molecolare e struttura degli zuccheri in esame

Composto	Peso molecolare	Struttura
Iso-eritritolo	122.12	
Arabinosio	150.13	
Ribosio	150.13	
Xilosio	150.13	
Arabitolo	152.15	

Ribitolo	152.15	
Xilitolo	152.15	
Levoglucosan	162.15	
Mannosan	162.15	
Galactosan	162.15	
Galattosio	180.15	
Glucosio	180.15	
Fruttosio	180.15	

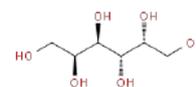
Mannosio

180.15



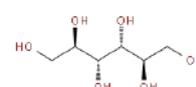
Galactitolo

182.17



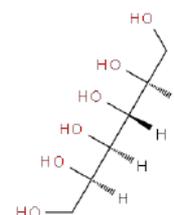
Mannitolo

182.17



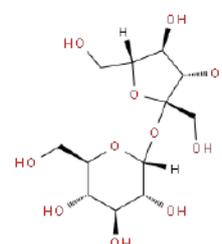
Sorbitolo

182.17



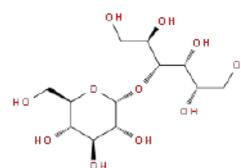
Saccarosio

342.3



Maltitolo

344.3



Anche i glucidi, come gli amminoacidi, rappresentano una frazione importante del WSOC atmosferico ed essendo ubiquitari il loro studio è interessante per poter comprendere le fonti di carbonio organico e i meccanismi di trasporto in atmosfera.

I saccaridi (monosaccaridi e saccarosio) e gli alcol-zuccheri sono *markers* di particolato collegato a sorgenti biologiche primarie (*biogenic markers*), come vegetazione, suolo, biota associato e spore fungine (Graham et al., 2003). Un esempio è dato dal glucosio, che è il monosaccaride più abbondante in natura, specialmente nelle piante vascolari e rappresenta per i microrganismi terrigeni, funghi e batteri una importante fonte di carbonio (Medeiros et al., 2006).

Invece, gli anidro-zuccheri sono noti per essere traccianti di combustione di biomassa, generati per degradazione termica della cellulosa ed emicellulosa. Sono stati rilevati a livello globale, in aerosol urbano e rurale ma anche in quello marino e in zone remote, perciò si tratta di glucidi che sono relativamente stabili durante *long-range transport* (Simoneit et al., 2004). Sono resistenti alla degradazione fino a dieci giorni di trasporto, ma successivamente possono essere trasformati in atmosfera per fotossidazione con il radicale OH (Yttri et al., 2007b).

In generale, le concentrazioni di zuccheri nell'aerosol sono inferiori in inverno ed aumentano in primavera ed estate. Una spiegazione di questo può essere data dal fatto che nel periodo invernale la maggior parte dei suoli è ricoperta da neve e ghiaccio ed il biota è dormiente: questo influisce sulla diminuzione del contenuto di carboidrati nel suolo. In primavera/estate, invece, quando avviene lo scioglimento delle nevi e dei ghiacci, il suolo ritorna ad essere esposto e ricominciano le attività agricole che risospendono le polveri terrestri (Simoneit et al., 2004).

Studi sul particolato continentale mostrano che i carboidrati costituiscono dal 13% al 26% della massa totale (Simoneit et al., 2004). Concentrazioni variabili di zuccheri sono state rilevate nell'aerosol rurale ed urbano (Yttri et al., 2007b), ma anche in quello marino (Fu et al., 2013; Simoneit et al., 2004) e in ambienti forestali (Graham et al., 2003), sottolineando la loro presenza in atmosfera a livello globale. In una zona rurale dell'isola di Creta è stata riportata una concentrazione media di zuccheri nell'aerosol pari a 57.7 ng m⁻³ (Theodosi et al., 2018), mentre in ambienti urbani sono state rilevate concentrazioni medie tra a 71-77 ng m⁻³ (Graham et al., 2004; Reche et al., 2012; Theodosi et al., 2018). Barbaro et al., (2015a) riporta una concentrazione media di 0.14 ng m⁻³ e 0.44 ng m⁻³ in Antartide (rispettivamente nella base costiera Mario Zucchelli e a Dome

C, sul plateau antartico).

Nel presente lavoro di tesi è stata ricercata e studiata per la prima volta la presenza di saccaridi, anidro-zuccheri ed alcol-zuccheri nell'aerosol artico.

2.3 Acido metansolfonico (MSA)

L'acido metansolfonico è un prodotto dell'ossidazione di dimetilsolfuro (DMS) in atmosfera: esso deriva più precisamente dalla reazione tra DMS e radicale OH (Saltzman et al., 1983). Poiché il dimetilsolfuro ha origine fitoplanctonica, l'acido metansolfonico può essere considerato un *marker* di origine algale e quindi di produzione primaria marina (Becagli et al., 2016; Quinn et al., 2007).

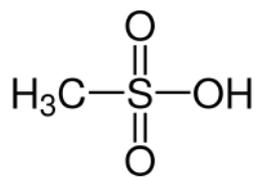


Figura 2.4 Struttura chimica dell'acido metansolfonico

Questo composto è stato trovato nell'aerosol marino dell'Oceano Pacifico settentrionale ad una concentrazione media compresa tra 40 e 380 ng m⁻³ (Choi et al., 2017) e alla media di 122 ± 76 ng m⁻³ a livello continentale a Parigi (Crippa et al., 2013). Infine, Feltracco et al. (2019) durante la campagna artica del 2015 rileva concentrazioni medie di MSA nell'aerosol di 18 ± 10 ng m⁻³.

Capitolo 3

Area di studio e campionamento

3.1 Isole Svalbard

I campioni di aerosol atmosferico investigati in questa tesi sono stati raccolti dall'osservatorio di Gruvebadet, localizzato vicino al villaggio di Ny Ålesund situata sulla costa nord-occidentale dell'isola di Spitsbergen. Questa fa parte dell'arcipelago delle Isole Svalbard (Norvegia), che è circondato dal Mar Glaciale Artico e si trova a circa 1000 km dal Polo Nord.



Figura 3.1 Localizzazione delle Isole Svalbard

Ny-Ålesund si trova sulla penisola Brøgger e si affaccia sul Kongsfjorden. La costa è bagnata dalla corrente occidentale di Spitsbergen (*West Spitsbergen*

Current - WSC) che si muove verso nord e dalla corrente artica (*Arctic Water – ArW*), che bagna il perimetro costiero di tutto l’arcipelago dirigendosi anch’essa verso nord. Una terza massa d’acqua che bagna la zona è rappresentata dalla corrente nord-atlantica (*Atlantic Water*), che apporta acqua relativamente calda e salina (Svendsen et al., 2002). La piattaforma occidentale è quindi un punto di incontro di acque artiche e glaciali ed acque atlantiche e questo comporta dei cambiamenti stagionali, passando da una dominanza artica (acque più fredde e dolci) ad una dominanza atlantica (acque più calde e saline) (Cottier et al., 2005).

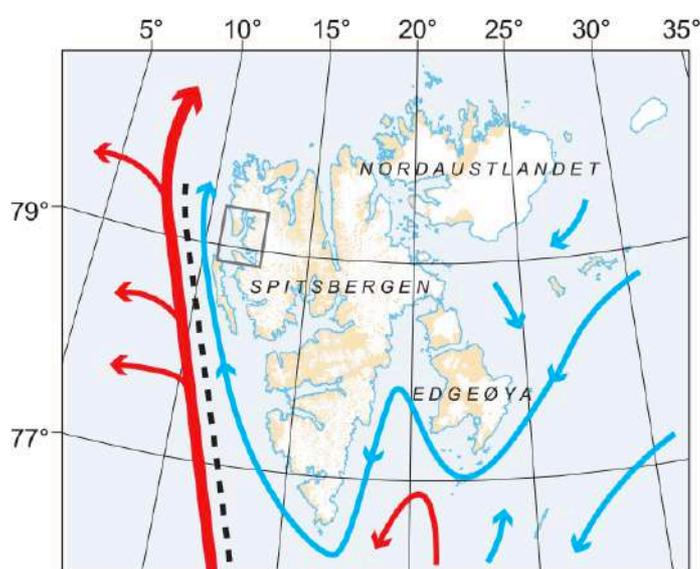


Figura 3.2 Mappa dell'arcipelago che mostra la WSC (rosso) e la ArW (blu) (Svendsen et al., 2002)

Il clima dipende da diversi fattori: la circolazione delle correnti atmosferiche, l’estensione dei ghiacci marini, le correnti oceaniche e le variazioni di intensità luminosa durante l’anno.

A Ny-Ålesund prevalgono venti che derivano da sud-est e da nord-est, tranne durante il periodo estivo. Oltre a questi, bisogna considerare anche l’orografia e i flussi atmosferici locali; questi ultimi provengono principalmente dall’entroterra e portano aria densa e fredda dai ghiacciai interni verso il fiordo. Sono stati rilevati anche dei venti più deboli provenienti da nord, che riescono ad oltrepassare la catena montuosa sopra Kongsfjorden e raggiungere Ny-Ålesund.

Per quanto riguarda la condizione di luminosità annuale, la zona è caratterizzata da periodi in cui il sole non sorge mai (notte artica) e, al contrario, da periodi in cui il sole rimane sempre al di sopra dell'orizzonte (Svendsen et al., 2002). Durante l'estate la radiazione solare è variabile in seguito a determinati fattori come la presenza di nubi e nebbia, aerosol atmosferico ed ozono stratosferico che influenzano l'intensità dei raggi UV-B (Argentini et al., 2003). Il clima è di tipo continentale nel periodo invernale mentre di tipo oceanico in estate. Il fiordo non ghiaccia nel periodo invernale dal 2011, a causa dei cambiamenti climatici e del fenomeno di amplificazione artica. La formazione di ghiaccio avviene solamente per poche ore/giorni all'anno nel caso le temperature restino al di sotto dei -20°C per decine di giorni (Bartsch et al., 2016).

Il suolo dell'arcipelago è caratterizzato dal permafrost (quindi interamente ghiacciato per tutto l'anno) ed è ricco di ghiacciai, i quali durante la stagione estiva cominciano a sciogliersi e rappresentano un'importante fonte di acqua dolce, insieme allo scioglimento delle nevi (Svendsen et al., 2002).

L'aerosol artico è ricco di composti organici ed inorganici provenienti dalle acque marine biologicamente attive e dalle fratture di ghiaccio marino che caratterizza il Mar Glaciale Artico (Matrai et al., 2008), ma anche dal continente (Eurasia settentrionale ed America settentrionale). Sono stati ritrovati frammenti di origine batterica e fitoplanctonica (Leck and Bigg, 2005), spore fungine (Fu et al., 2013), grani di polline e frammenti vegetali (Bourgeois et al., 2001) oltre ad elementi, come le terre rare (Turetta et al., 2016). L'aerosol artico è ricco anche di sali marini, che passano in atmosfera grazie alla rottura delle bolle della superficie marina e di solfati, tra cui *non-sea salt sulphates* provenienti dall'ossidazione di dimetilsolfuro (Giardi et al., 2016). In seguito al trasporto a lungo raggio, sono stati rilevati anche composti di natura antropica come *black carbon* (Wang et al., 2011).

Per quanto riguarda la flora e la fauna, il Kongsfjorden è caratterizzato da una grande biodiversità di tipo artico e boreale. Si possono trovare molte specie fitoplanctoniche e zooplanctoniche, macro e microalghe fino ad arrivare a mammiferi ed uccelli. Il mare ospita circa 148 taxa di fitoplancton, la cui produzione mostra un andamento stagionale: durante la lunga notte polare vi è un'interruzione della produzione autotrofa. Probabilmente solo alcuni

flagellati eterotrofi perdurano durante l'inverno. In primavera la maggior parte dei fitoplancton riconosciuti sono diatomee, microalghe unicellulari non flagellate, e la loro comparsa indica l'inizio di *bloom* fitoplanctonici. Questo fenomeno avviene grazie all'elevato grado di trasparenza delle acque, che permette alla radiazione solare di raggiungere la zona eufotica che può arrivare anche fino a trenta metri di profondità (Hop et al., 2002). La produzione primaria artica è quindi dovuta alla presenza di queste comunità fitoplanctoniche. L'inizio della crescita algale comincia a marzo nella Baia del Re con il massimo picco nel mese di maggio, ma già a giugno la trasparenza delle acque diminuisce, principalmente nella parte interna del fiordo, a causa dello scioglimento dei ghiacciai. La zona eufotica si assottiglia e diminuisce di conseguenza la crescita di alghe. Nel Mare di Groenlandia i *bloom* fitoplanctonici iniziano verso fine aprile culminando ad inizio giugno (Hop et al., 2006). Inoltre, a fine estate, ad incidere ulteriormente sulla diminuzione di produzione fitoplanctonica vi è il fenomeno di *grazing*: ciliati (organismi protisti unicellulari), nauplii (primo stadio larvale di crostacei) e copepodi (gruppo di crostacei) si nutrono di fitoplancton provocando la loro diminuzione. Sono state ritrovate anche alcune specie di alghe e fauna associate ai ghiacci, che formano la cosiddetta comunità simpagica e comunità zooplanctoniche molto variabili, ma la specie più abbondante risulta essere Copepoda.

Le comunità bentoniche si distinguono in microbenthos e macrobenthos. La prima è rappresentata da microalghe che ricoprono lo strato di sedimenti delle coste del fiordo, ma anche da microrganismi eterotrofi come batteri e protisti, che sono una fonte di cibo per specie superiori nella catena trofica. Le comunità microbiche presenti si sono ben adattate ai climi freddi e sono in grado di degradare in modo efficiente la materia organica presente. Il macrobenthos presenta diverse specie di macroalghe ed una fauna la cui varietà e abbondanza cambia in base alla profondità (Hop et al., 2002).

L'ambiente terrestre delle isole Svalbard è caratterizzato da licheni, briofite e piante vascolari (ad esclusione di alberi). Si contano circa 742 specie di licheni, organismi mutualisti che derivano dall'associazione di un organismo autotrofo (come cianobatteri o alghe) e un fungo. Si tratta di un gruppo vegetativo molto diffuso nell'ambiente artico poiché riesce a sopportare il forte stress abiotico

che caratterizza la regione: basse temperature, lunghi periodi di buio e luce e alti livelli di radiazione UV (Zhang et al., 2015). Licheni, briofite, microalghe, microfunghi e batteri contribuiscono, insieme alle particelle di suolo, alla formazione di un micro-ecosistema definito *biological soil crust* (BSC), fondamentale nelle regioni polari dove la produzione primaria delle piante superiori è limitata. Lo sviluppo di un BSC avviene quando i ghiacci e le nevi si ritirano: in questi primi millimetri di suolo avviene la fissazione di azoto, grazie ai cianobatteri, e accumulo di sostanza organica, che favorisce lo sviluppo di un habitat adatto alla crescita vegetale e crittogamica (Williams et al., 2017).

Tra gli organismi superiori, si possono trovare mammiferi come foche, trichechi e orsi polari (Hop et al., 2002).

3.2 Campionamento

I campioni studiati in questo lavoro di tesi sono stati raccolti presso il laboratorio di Gruvebadet (78°54'59.99" N 11°55'59.99" E) gestito dal Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), a circa 1 km a sud-ovest rispetto al villaggio di Ny-Ålesund. Il sito è stato appositamente individuato per evitare la contaminazione locale proveniente dal villaggio, poiché la direzione dei venti rende la stazione sopravento. La campagna di campionamento si è svolta dal 2 aprile al 29 giugno 2014 e il campionatore utilizzato è un impattore multistadio Model TE-235 (Tisch Environmental Inc., Village of Cleves, OH).

L'impattore è costituito da una testa PM10 TE-6070 che permette il passaggio delle particelle con un diametro inferiore ai 10 μm . La pompa aspira l'aria ad un flusso di 68 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$. Successivamente viene posto l'impattore che presenta cinque diversi stadi in alluminio (Figura 3.4), ognuno dei quali è formato da scanalature parallele tra loro e, in aggiunta, un sesto stadio finale non scanalato. I sei stadi permettono di selezionare il particolato atmosferico PM10 secondo sei differenti frazioni dimensionali con diametri aerodinamici negli intervalli 10-7.2 μm (S1), 7.2-3.0 μm (S2), 3.0-1.5 μm (S3), 1.5-0.95 μm (S4), 0.95-

0.49 μm (S5) e $<0.49 \mu\text{m}$ (BACK).



Figura 3.3 Impattore posto sul tetto del laboratorio di Gruvebadet e, sullo sfondo, il villaggio di Ny Ålesund



Figura 3.4 Stadi impattore (Tisch Environmental Inc., 2019)

Per raccogliere il particolato, sono stati utilizzati supporti in fibra di quarzo (FILTER LAB, Barcelona, Spain). Per i primi cinque stadi (S1, S2, S3, S4, S5), denominati in questo lavoro *scan*, sono stati utilizzati supporti con dieci scanalature parallele, sfasati leggermente tra uno stadio e l'altro in modo da obbligare le particelle a seguire un determinato percorso. In questa maniera, una volta che l'aria viene aspirata ed entra nell'impattore, le particelle con diametro compreso nel range di un determinato stadio si depositano sul supporto e vengono raccolte, mentre le particelle più piccole procedono nel

loro percorso, andando negli stadi successivi aventi range dimensionali inferiori. Questa tecnica permette di realizzare una separazione dimensionale delle particelle. Dopo il quinto stadio, le particelle che non si sono depositate precedentemente, quindi con diametro inferiore a $0.49 \mu\text{m}$, vengono trattenute da un filtro *back-up*.

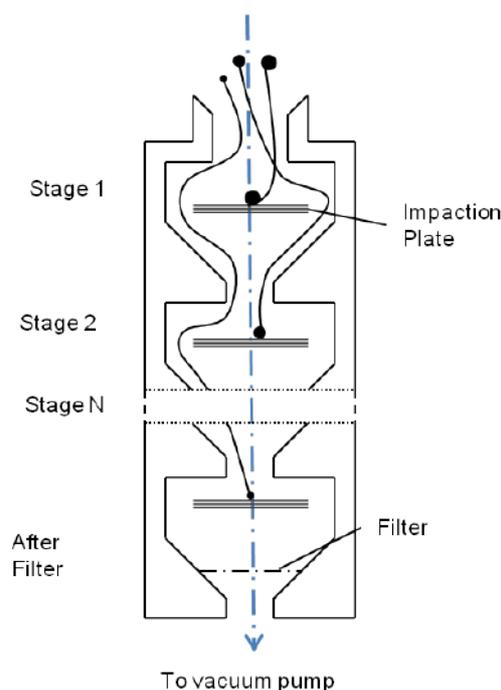


Figura 3.5 Schema del percorso delle particelle

Sono stati raccolti sedici campioni, ognuno costituito da sei supporti corrispondenti alle sei frazioni dimensionali campionate. La durata dei campionamenti in media è stata di sei giorni, seguendo i protocolli sviluppati in Artico in precedenti studi (Feltracco et al., 2019; Scalabrin et al., 2012; Turetta et al., 2016). In Tabella 3.1 sono riportati il nome identificativo del campione e il periodo di campionamento. Per il campione C4 l'intervallo di campionamento è stato ridotto a tre giorni in seguito alla presenza di fuochi controllati a Ny Ålesund, mentre la durata del campione C5 è pari ad un solo giorno per verificare i livelli nel post-combustione.

Tabella 3.1 Nome dei campioni e periodo di campionamento

Nome campione	Periodo di campionamento
C1	2 - 4 aprile
C2	8 - 14 aprile
C3	14 - 20 aprile
C4	20 - 23 aprile
C5	23 - 24 aprile
C6	24 - 30 aprile
C7	30 aprile - 6 maggio
C8	6 - 12 maggio
C9	12 - 18 maggio
C10	18 - 24 maggio
C11	24 - 30 maggio
C12	30 maggio - 5 giugno
C13	5 - 11 giugno
C14	11 - 17 giugno
C15	17 - 23 giugno
C16	23 - 29 giugno

Capitolo 4

Strumentazione

L'analisi degli amminoacidi è stata effettuata tramite cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC Agilent 1100 Series HPLC System, Agilent, Waldbronn, Germania) accoppiata allo spettrometro di massa triplo quadrupolo Applied Biosystem API 4000 (Biosystem/MDS SCIEX Concord, Ontario, Canada).

Gli zuccheri e l'MSA sono stati determinati tramite cromatografo ionico ad alta prestazione (HPAEC) Dionex ICS-5000 (Thermo Scientific, Waltham, US) interfacciato a spettrometro di massa singolo quadrupolo MSQ Plus (Thermo Scientific, Brema, Germania).

4.1 *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC)

La cromatografia liquida ad alte prestazioni (*High Performance Liquid Chromatography*) consente di separare i singoli composti presenti in una miscela in base alla loro affinità con una fase stazionaria ed una fase mobile liquida. Questa tecnica ha la capacità di separare composti organici che non possono essere volatilizzati e termolabili come amminoacidi, proteine, carboidrati, fitofarmaci, anabolizzanti e tossine.

I diversi composti possono essere separati mediante eluizione su colonna. La fase stazionaria, presente nella colonna, è costituita da un solido inerte finemente suddiviso, le cui particelle impaccate hanno una granulometria molto fine, tra 1.8 e 10 μm . La colonna è un tubo di acciaio con diametro di qualche millimetro e con una lunghezza che può variare da 10 a 30 cm, adatta

a sostenere le elevate pressione alle quali opera l'HPLC (300 bar nei sistemi convenzionali fino a 1000 bar negli UPLC).

I composti vengono introdotti al tempo t_0 con la fase mobile in testa alla colonna; essi si distribuiscono tra le due fasi in base alla loro affinità con esse. La velocità media alla quale l'analita migra dipende dalla frazione di tempo che esso trascorre nella fase mobile. Più è alta l'affinità con la fase stazionaria, più gli analiti sono trattenuti da essa ed impiegheranno così più tempo ad essere eluiti. Facendo scorrere in colonna una quantità sufficiente di fase mobile, tutti gli analiti vengono eluiti a tempi diversi.

L'efficienza di una colonna cromatografica dipende:

- a. dalle velocità relative a cui le specie vengono eluite;
- b. dall'entità dell'allargamento del picco che si ottiene dopo l'eluizione;
- c. dall'altezza del piatto teorico⁴ (H) e numero di piatti teorici (N).

I fattori H e N vengono utilizzati per misurare l'efficienza della colonna grazie al rapporto:

$$N = \frac{L}{H}$$

dove L è la lunghezza della colonna. L'efficienza aumenta all'aumentare di N o al diminuire di H.

Esistono varie classi di cromatografia liquida ad alte prestazioni:

- a. cromatografia liquida di ripartizione: la fase stazionaria è un liquido immiscibile con la fase mobile e riveste il solido inerte, di solito gel di silice o una struttura polimerica;
- b. cromatografia liquida di adsorbimento: la fase stazionaria è una superficie solida finemente suddivisa, come silice o allumina, sulla quale il soluto viene adsorbito tramite siti attivi;
- c. cromatografia liquida a scambio ionico: utilizza per la fase stazionaria resine a scambio ionico in modo che gli ioni presenti su un solido poroso

⁴ Il piatto teorico è definito come lo strato contiguo sottile in cui si assume che le specie sono in equilibrio tra la fase mobile e la fase stazionaria (Skoog et al., 2009).

possano essere scambiati con quelli presenti in una soluzione a contatto con il solido stesso.

4.2 HPLC di ripartizione

La fase stazionaria presente nella colonna è un liquido immiscibile con la fase mobile ed in base alla loro polarità si possono distinguere due tipi di cromatografia di ripartizione:

- a. a fase diretta, in cui la fase stazionaria è polare e quella mobile apolare;
- b. a fase inversa, con fase stazionaria apolare e fase mobile polare;

La cromatografia liquida ad alte prestazioni per ripartizione a fase inversa è stata utilizzata per la separazione dei composti amminoacidici. Questa tecnica permette di utilizzare l'acqua come fase mobile (con diverse percentuali di solventi organici, tra cui metanolo) e la fase stazionaria di carattere non polare consente trasferimenti di massa più rapidi.

Il cromatografo liquido ad alte prestazioni Agilent 1100 utilizzato in questo lavoro di tesi è costituito da:

- serbatoio per i solventi, una fase mobile acquosa ed una organica;
- degaser, per eliminare eventuali tracce di aria dai solventi;
- pompa binaria;
- autocampionatore termostato;
- pannello di controllo;
- vano colonna a temperatura costante, dove è collocata la colonna analitica e la colonna di guardia;
- rivelatore UV-visibile, a fluorescenza o a indice di rifrazione se non si utilizza la tecnica ibrida HPLC-MS.

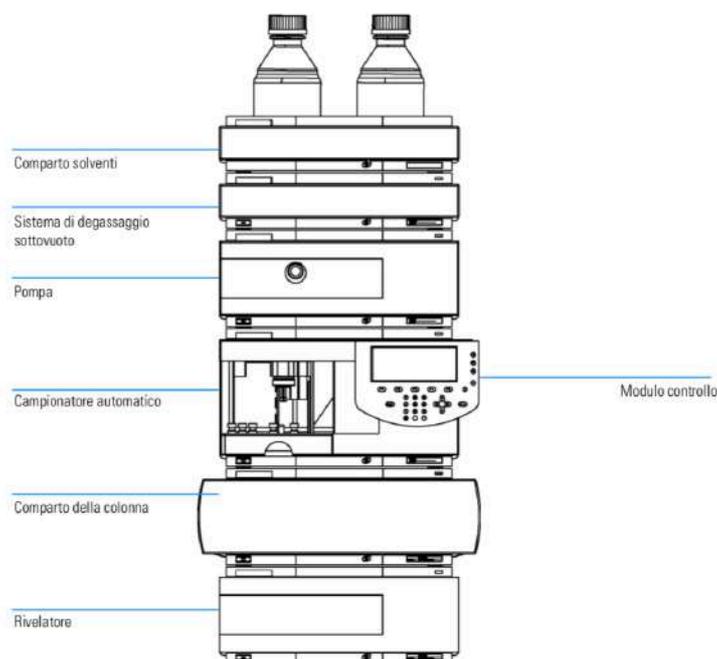


Figura 4.1 HPLC Agilent 1100 (Agilent, 2000)

4.2.1 Separazione cromatografica enantioselettiva

Gli amminoacidi sono presenti in natura come enantiomeri. Essi hanno proprietà chimico-fisiche uguali ma vengono distinti nel mondo biologico nella loro configurazione L e D: solo gli L-amminoacidi vengono utilizzati nella sintesi delle proteine, mentre i D-amminoacidi sono presenti nelle cellule batteriche.

Per poter separare le due coppie di enantiomeri si possono utilizzare due modalità distinte:

1. la derivatizzazione degli amminoacidi sfruttando un reagente chirale, in modo da generare due diastereoisomeri con proprietà chimico-fisiche diverse che possono essere separati utilizzando la cromatografia liquida a fase inversa (Buck and Krummen, 1987);
2. separazione cromatografica usando una colonna con fase stazionaria chirale, che genera diastereoisomeri transienti in colonna (Barbaro et al., 2014; Petritis et al., 2001).

La scelta di questa seconda tecnica consente di ridurre il pretrattamento della

matrice e le eventuali contaminazioni associate. Inoltre, non essendoci derivatizzazione, non comporta l'insorgere di instabilità dei composti derivatizzati e lunghi tempi di preparazione (Barbaro et al., 2014).

La separazione cromatografica enantioselettiva sfrutta la presenza di selettori chirali legati alla fase stazionaria per creare addotti diastereoisomerici non covalenti con l'analita e l'enantiomero associato. I diastereoisomeri hanno proprietà chimico-fisiche diverse e vengono dunque eluiti con due tempi di ritenzioni distinti. Essendo transienti, una volta separati, i due amminoacidi ritornano ad essere enantiomeri.

In questo studio è stata utilizzata la colonna CHIROBIOTIC TAG (Astec, Sigma Aldrich[®]), caratterizzata da una catena glicopeptidica macrociclica (teicoplanina aglicone) legata tramite legami covalenti al substrato di gel di silice.

4.3 High Performance Anion Exchange Chromatography (HPAEC)

La cromatografia ionica ad alta prestazione è una tecnica della cromatografia liquida che permette di separare composti ionici presenti in una soluzione acquosa grazie alla loro interazione con una fase stazionaria ed una fase mobile.

La fase stazionaria è costituita da resine a scambio ionico, cioè un supporto organico al quale sono legati gruppi ionici. Ad esempio, per l'analisi di composti anionici la fase stazionaria presenterà cariche positive, quindi ioni di carica opposta che possono essere scambiati con gli ioni presenti nell'eluente. Grazie alla diversa affinità, più o meno forte con i contro-ioni presenti sulla resina della fase stazionaria, gli ioni vengono separati.

Il cromatografo ionico utilizzato in questo studio (Thermo Scientific[™] Dionex[™] ICS-5000, Waltham, US) è costituito da due parti: il modulo analitico viene utilizzato per la separazione degli anioni, il modulo capillare per la separazione dei cationi.

La struttura dello strumento è mostrata in Figura 4.2, mentre il diagramma di composizione in Figura 4.3.



Figura 4.2 Cromatografo ionico ad alta prestazione Dionex™ ICS-5000 (Thermo Fischer)

IC-MS Flow Diagram

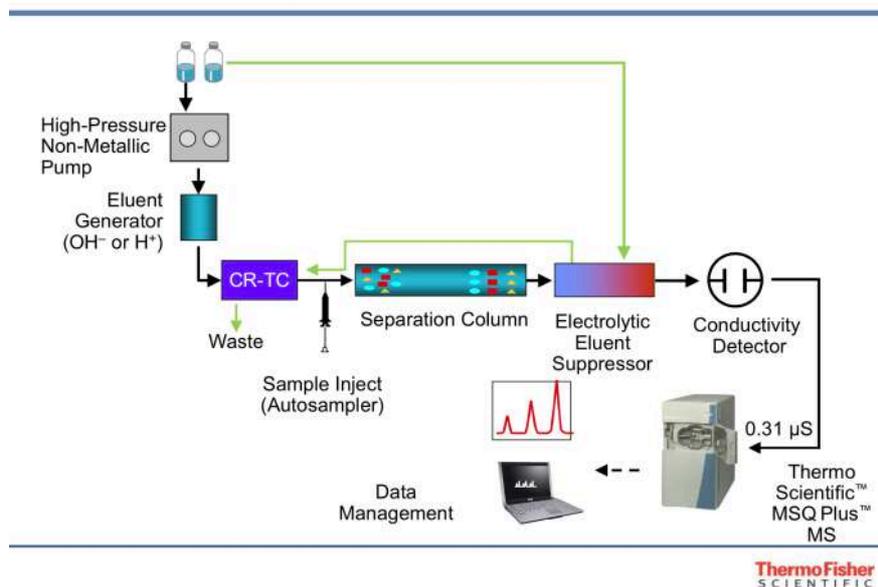


Figura 4.3 Diagramma della composizione del cromatografo ionico

Lo strumento presenta un comparto dove alloggiavano le pompe (modulo 1) e uno dove viene generato l'eluyente (modulo 2). La parte capillare lavora con eluizione isocratica, vale a dire che viene eluito un solo solvente a

composizione costante. La parte analitica, invece, lavora in gradiente, cioè invia una miscela di solventi la cui composizione viene fatta variare nel tempo. La miscela viene creata nel comparto "generazione eluente". Questo permette la formazione di una fase mobile acida o basica partendo da acqua deionizzata e una soluzione concentrata di elettrolita presente nella *Eluent Generator Cartridge* (ECG). Nel modulo 3 alloggiato la valvola a sei vie, la colonna di guardia, la colonna di separazione e il soppressore. L'autocampionatore permette di iniettare un determinato volume di campione nella colonna di separazione. Prima di entrare in colonna, però, il campione passa per la valvola a sei vie. Questa lavora in due posizioni: a) caricamento, di tutto il volume prelevato solo una certa aliquota viene caricata nel *loop* e il resto viene inviato in *waste*; b) iniezione, terminato il caricamento la valvola gira e il volume prescelto viene iniettato in pre-colonna e poi in colonna. La colonna di guardia, o pre-colonna, permette di bloccare quei composti che possono interferire con l'analisi. Il soppressore è un elemento fondamentale in cromatografia ionica: esso permette di abbattere la conducibilità dell'eluente e di abbassare il limite di rivelabilità degli analiti. Si tratta di una membrana rigenerata elettroliticamente che è costituita da diversi strati che permettono la soppressione e rigenerazione contemporanea. La soppressione avviene grazie alla cessione da parte delle membrane scambiatrici di ioni H^+ o OH^- a seconda che si tratti di soppressore anionico e cationico rispettivamente. La rigenerazione avviene grazie al flusso di acqua ultrapura in controcorrente. A questo punto, per la rivelazione si possono scegliere due strade: la rivelazione tramite conduttimetro e quella attraverso spettrometria di massa. In questo lavoro la quantificazione, a causa dei bassi livelli di concentrazione degli analiti in esame, è stata effettuata tramite spettrometria di massa, in particolare il singolo quadrupolo con sorgente ESI.

4.4 Spettrometria di massa

La spettrometria di massa è una tecnica analitica utilizzata per l'identificazione e la quantificazione delle molecole che costituiscono la miscela da analizzare.

Uno spettrometro di massa è formato da tre parti:

1. la sorgente, dove avviene la frammentazione delle molecole di analita e la ionizzazione e volatilizzazione dei frammenti generati;
2. l'analizzatore, che separa i frammenti in base al loro rapporto m/z ;
3. il detector, che misura l'intensità di segnale che riceve dall'analizzatore.

4.4.1 La sorgente

Esistono diverse tipologie di sorgente e meccanismi di ionizzazione. Per interfacciare un cromatografo liquido ad uno spettrometro è necessario un particolare tipo di sorgente chiamato *Atmospheric Pressure Ionization* (API). È necessaria una sorgente API perché il cromatografo lavora con fasi liquide mentre la massa richiede che il campione sia in fase gassosa; inoltre, l'HPLC lavora ad alte pressioni e lo spettrometro richiede condizioni di alto vuoto. La sorgente API è in grado di diminuire la pressione ad un valore intermedio e permette la desolvatazione del campione. La sorgente utilizzata in questo lavoro di tesi, per interfacciare entrambi i tipi di cromatografo, è la *Electrospray Ionization* (ESI). Essa viene scelta quando gli analiti sono già in forma ionica o sono facilmente ionizzabili.

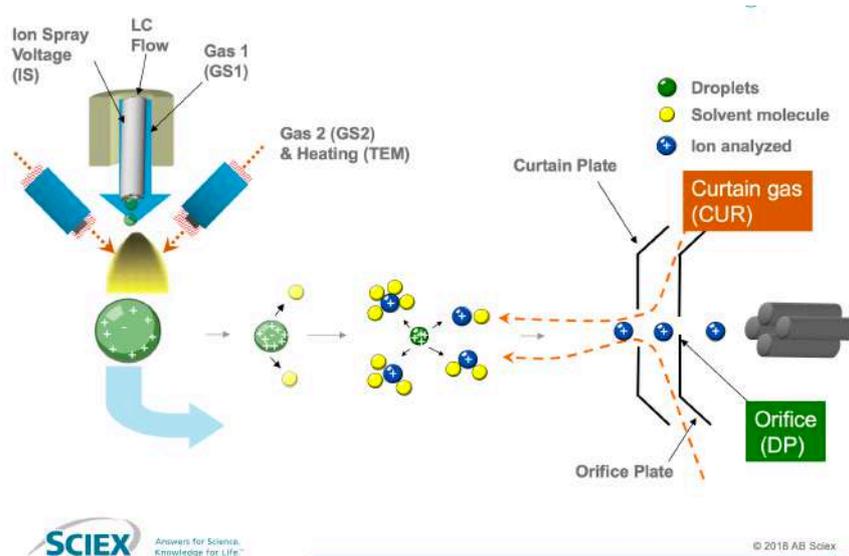


Figura 4.4 Schema della ionizzazione *electrospray* (AB SCIEX, 2018)

La soluzione di solvente e campione in uscita dalla colonna cromatografica

arriva al *probe* della sorgente. Qui interagisce con due elettrodi che generano un potenziale elettrico che permette la ionizzazione delle molecole. La miscela di azoto e ossigeno in uscita dal *probe* e dai turboriscaldatori permette la nebulizzazione della soluzione e la riduzione della dimensione delle gocce: in questo modo le cariche presenti sulla superficie della goccia di solvente si avvicinano tra loro, la densità di carica aumenta finché la goccia non è più stabile subendo l'esplosione di Coulomb. Si ottengono così i singoli ioni desolvati e gassosi che vengono diretti verso l'analizzatore grazie alla presenza di un potenziale DP (*Declustering Potential*) applicato sul *curtain plate*. Le successive due piastre (*orifice plate* e *skimmer cone*) hanno lo scopo di focalizzare gli ioni verso l'analizzatore e di mantenere la condizione di alto vuoto. Tra il *curtain plate* e l'*orifice plate* vi è un flusso continuo di azoto CUR (*Curtain Gas*) che impedisce a molecole neutre di entrare nell'analizzatore (abbassando il rumore di fondo).

4.4.2 L'analizzatore

Grazie all'analizzatore, gli ioni generati dalla sorgente vengono separati in base al loro rapporto m/z . Mentre per l'analisi di zuccheri e MSA l'HPAEC è accoppiata ad un singolo quadrupolo, per l'analisi di amminoacidi l'HPLC è accoppiato ad un triplo quadrupolo, formato da quattro quadrupoli in linea. Un quadrupolo è un filtro di massa costituito da quattro barre cilindriche in metallo parallele tra loro: una coppia opposta orizzontale e una coppia opposta verticale (Figura 4.5).

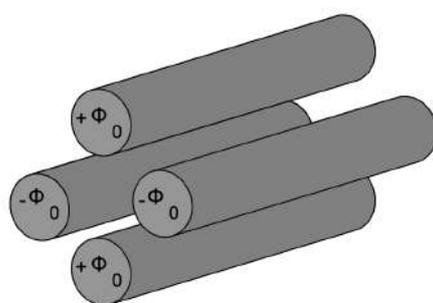


Figura 4.5 Quadrupolo

Su queste barre viene applicato un potenziale elettrico continuo di segno positivo per una coppia e negativo per l'altra ed un potenziale elettrico a radiofrequenza, in modo tale da invertire la polarità delle barre durante l'analisi. Grazie alla presenza di lenti focalizzatrici poste prima del quadrupolo, gli ioni vengono accelerati verso le barre e solo quelli con un determinato rapporto m/z , funzione del potenziale applicato alle barre, riescono ad essere rivelati. Un quadrupolo può lavorare in modalità SIM (*Single Ion Monitoring*), quando viene rivelato un singolo ione alla volta o in modalità SCAN, quando viene eseguita una scansione di tutti gli ioni.

In Figura 4.6 è mostrata la struttura del triplo quadrupolo. Il primo quadrupolo (Q0) lavora a trasmissione totale e ha unicamente la funzione di focalizzatore degli ioni. Successivamente vi sono i quadrupoli Q1 e Q3, intervallati dalla cella di collisione Q2.

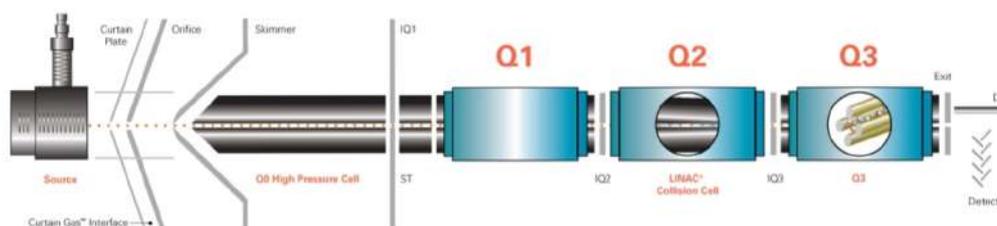


Figura 4.6 Triplo quadrupolo (AB SCIEX, 2018)

La cella di collisione permette la frammentazione degli ioni in arrivo da Q1 per collisione con molecole gassose di azoto.

Gli analizzatori Q1 e Q3 possono lavorare in modalità SIM o SCAN, mentre Q2 può frammentare gli ioni in arrivo (ON) o lavorare a trasmissione totale (OFF). Il triplo quadrupolo è un esempio di spettrometria massa/massa (MS/MS), cioè una tecnica di riframmentazione effettuata su ioni già frammentati in sorgente.

Esistono diverse modalità di lavoro di un triplo quadrupolo:

1. *full scan*: Q1 esegue una scansione completa mentre Q2 e Q3 sono spenti;
2. *single ion recording* (SIR): Q1 è posto in modalità SIM e gli altri due quadrupoli sono spenti;

3. *multiple reaction monitoring* (MRM): in Q1 viene selezionato uno ione, la cella di collisione lo frammenta e Q3 lavora in SIM isolando uno dei frammenti generati. Si tratta della modalità di analisi più selettiva e più potente dal punto di vista di quantificazione;

4.4.3 Il detector

Il rivelatore, o detector, è un moltiplicatore elettronico a dinodo continuo CEM (*Channel Electron Multiplier*). Esso è costituito da una serie di elettrodi a cascata. Lo ione in uscita da Q3 viene indirizzato, grazie ad una serie di lenti focalizzatrici, verso il detector. Qui lo ione colpisce il primo elettrodo ed emette un fascio di elettroni, che andranno a collidere con i dinodi successivi generando una cascata di elettroni. In questo modo il segnale elettrico viene amplificando e successivamente digitalizzato ed elaborato dal calcolatore.

Capitolo 5

Materiali e metodi

5.1 Standard e solventi

Nel presente lavoro di tesi, le soluzioni standard di amminoacidi nativi sono state preparate sciogliendo una determinata aliquota di sostanza ad elevato grado di purezza (>90%) in una soluzione di acqua ultrapura acidificata con HCl 0.1 M, in modo tale da impedire la loro deprotonazione. Per gli analiti t-4-idrossi-prolina e asparagina è stata utilizzata una soluzione di acqua ultrapura per evitare la loro degradazione, essendo composti instabili in ambiente acido. Le soluzioni standard degli zuccheri sono state preparate con la stessa procedura, pesando una determinata quantità di standard ad elevato grado di purezza e sciogliendolo in acqua ultrapura.

Dalle singole soluzioni standard aventi concentrazione media di 1000 mg L⁻¹ è stata preparata una soluzione mix contenente tutti i nativi a concentrazione media di 5 mg L⁻¹, utilizzata per preparare il fattore di risposta alla concentrazione di 0.5 mg L⁻¹.

Gli standard marcati sono stati preparati sciogliendo una determinata quantità di analita marcato isotopicamente in acqua ultrapura acidificata con HCl 0.1 M per gli amminoacidi ed acqua ultrapura per gli zuccheri. È stata successivamente preparata una soluzione mix a 5 mg L⁻¹ contenete gli analiti marcati, utilizzata come standard interno per la quantificazione. Gli standard marcati per la quantificazione di L- e D-amminoacidi e di zuccheri sono i seguenti: L-alanina ¹³C₃, L-arginina ¹³C₃, L-acido aspartico ¹³C₄, L-acido glutammico ¹³C₅, L-leucina ¹³C, L-fenilalanina ¹³C₃, L-prolina ¹³C, L-valina ¹³C, Levoglucosan ¹³C₆, Glucosio ¹³C₆.

Tutte le soluzioni preparate sono state conservate in apposite vials in cella frigo alla temperatura di -20°C.

I solventi utilizzati per il presente lavoro di tesi sono:

- acido cloridrico (HCl) al 37% (Carlo Erba)
- acido formico (CH₂O₂) (98%) (Fluka)
- acqua ultrapura (18.2 MΩ, 1ppb TOC) (PURELAB® Chorus 2+®, ELGA LabWater, UK)
- metanolo ultragradiente (CH₃OH) (Romil LTD, Cambridge, UK)

5.2 Procedura analitica

La quantificazione di L- e D-amminoacidi e di zuccheri è stata eseguita con il metodo dello standard interno, che prevede l'aggiunta in ogni campione di un preciso volume di soluzione standard marcato isotopicamente a una concentrazione nota. Dal rapporto tra l'area dell'analita e l'area dello standard interno è possibile ricavare la concentrazione dell'analita in esame. È necessario, tuttavia, utilizzare un fattore di risposta che permette di correggere le diverse risposte del sistema di rilevamento prodotte dai vari gruppi di analiti e fluttuazioni strumentali. Il fattore di risposta contiene tutti gli standard nativi e gli standard marcati isotopicamente.

I metodi per l'analisi di amminoacidi, zuccheri e MSA sono stati precedentemente validati da Barbaro et al. (2014, 2015a, 2017). La validazione del metodo è stata eseguita mediante la stima dell'errore, del bianco procedurale, delle rese di procedura e dei limiti di rilevabilità (MDL) e di quantificazione (MQL).

5.3 Trattamento dei campioni

I supporti in fibra di quarzo, utilizzati per il campionamento dell'aerosol, sono stati precedentemente decontaminati, ponendoli in muffola (a 400°C) per 4 ore. Al termine del campionamento, i supporti sono stati avvolti in un doppio strato di alluminio per evitare contaminazione esterna e sono stati conservati in cella frigo alla temperatura di -20°C fino al momento del trattamento. La procedura di estrazione dei campioni è stata eseguita in *clean room* (ISO 5, classe 100) sotto cappa a flusso laminare. Tutta l'attrezzatura è stata decontaminata con metanolo prima dell'inizio delle operazioni.

Per l'estrazione di amminoacidi e zuccheri è stato utilizzato metà supporto: questo è stato spezzettato in piccoli frammenti in una beuta di vetro da 50 mL, precedentemente decontaminata con metanolo e quindi riempita con acqua ultrapura e posta in bagno ultrasuoni per 15 minuti per due volte. In seguito, sono stati aggiunti rispettivamente agli *scan* e ai *back* 100 µL e 300 µL della soluzione contenente gli standard interni (5 mg L⁻¹).

Sono stati successivamente aggiunti 9 mL di acqua ultrapura nelle beute con *scan* e 25 mL nelle beute con *back*. L'estrazione è avvenuta tramite bagno ultrasuoni per 15 minuti. Durante la sonicazione, per evitare la degradazione degli analiti a causa dell'aumento della temperatura dovuto agli ultrasuoni, è stato utilizzato del ghiaccio per il raffreddamento dei campioni, mantenendo la temperatura del surnatante a circa 10 °C. L'estratto è stato trasferito in un'altra beuta da 50 mL (beuta di estrazione), mentre il supporto ancora presente nella beuta sonicata è stato posto in bagno ultrasuoni una seconda volta dopo aver aggiunto 1 mL di acqua ultrapura (per campione *scan*) e 5 mL di acqua ultrapura (per campione *back*). L'estrazione, quindi, è avvenuta tramite due bagni ad ultrasuoni, ognuno di 15 minuti. Il liquido contenente gli analiti estratti è stato trasferito nella beuta di estrazione e il supporto è stato strizzato tramite apposite spatole decontaminate in modo tale da poter ottenere la massima quantità possibile di estratto. L'estratto finale è stato trasferito in siringhe in vetro da 10 mL e filtrato con filtri PTFE da 0.45 µm, precedentemente attivati con metanolo e risciacquati con acqua ultrapura. Il

filtrato ottenuto è stato posto in una vial di vetro per l'analisi degli amminoacidi e in una vial di plastica per l'analisi degli zuccheri. Il surnatante in eccesso è stato conservato in una provetta per analisi future.

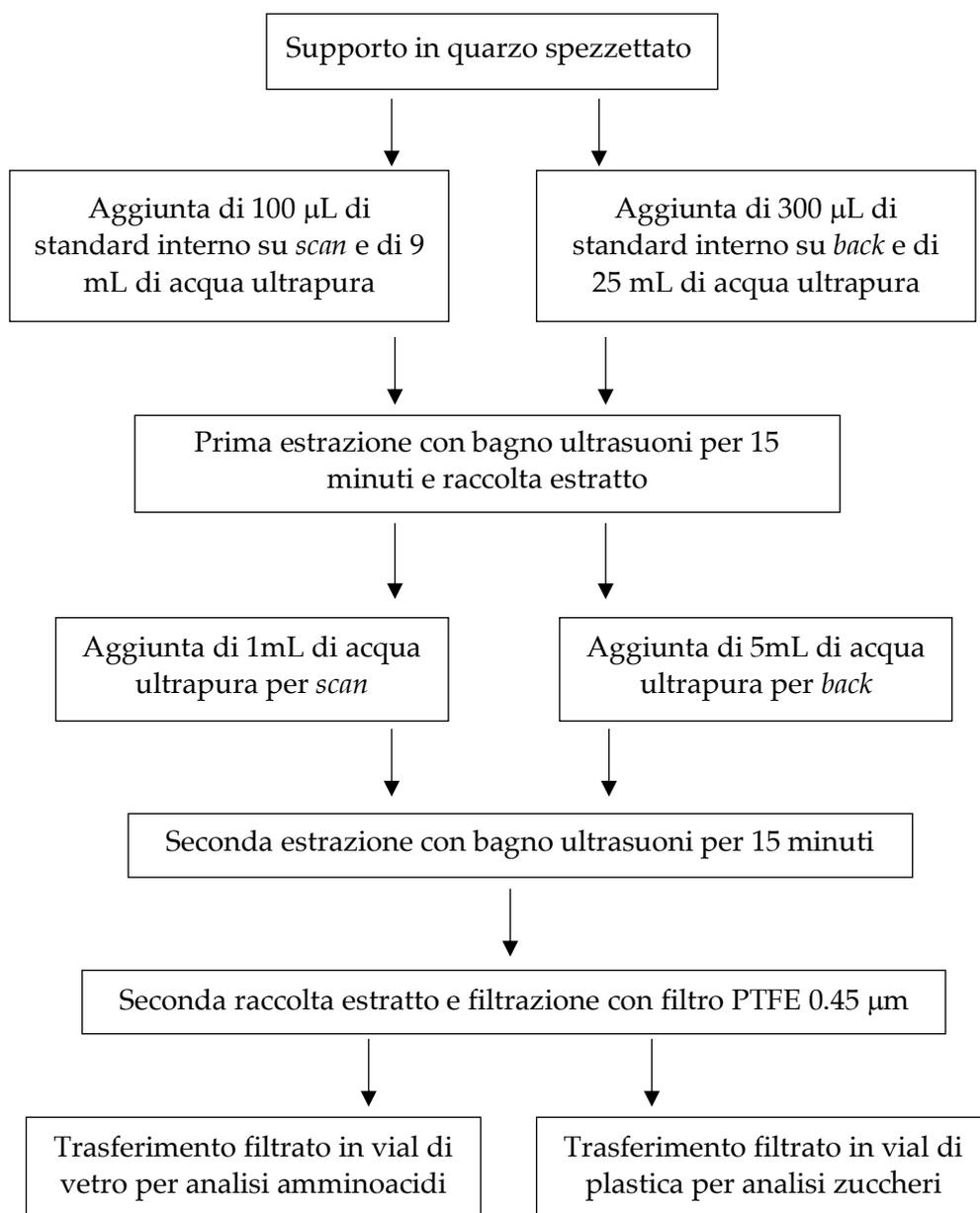


Figura 5.1 Schema a blocchi del trattamento dei campioni

5.4 Metodo analitico HPLC-ESI-MS/MS

L'analisi degli amminoacidi è stata eseguita tramite cromatografo liquido ad alta prestazione Agilent 1100 (Agilent, Waldbronn, Germany) accoppiato a spettrometro di massa triplo quadrupolo API 4000 (Applied Biosystem/MDS SCIEX, Concord, Ontario, Canada). Per la separazione degli amminoacidi è stata utilizzata la colonna con fase chirale CHIROBIOTIC TAG 2.1 x 250 mm (Advanced Separation Technologies Inc., USA). Come fasi mobili sono state preparate una fase A costituita da acqua ultrapura ed acido formico allo 0.1% e una fase B di metanolo ultra purity e acido formico (0.1%). Il gradiente lineare, ad un flusso pari a 0.15 mL min^{-1} , è il seguente: 0-10 min 30% B, 10-12 min da 30% a 100% B, 12-17 min 100% B, 17-30 min 30% B (fase di equilibratura⁵). Il volume di iniezione è di 100 μL .

La sorgente di ionizzazione *electrospray* TurboV™ lavora con polarità positiva, con un potenziale applicato all'ago della sorgente di 5500 V e una temperatura di 500°C. Le pressioni del gas di nebulizzazione (Gas 1) e desolvatazione sono rispettivamente 20 psi e 65 psi, pressione del *curtain gas* di 30 psi e del gas di collisione di 4 psi.

Il metodo di acquisizione è *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) con *dwell time* di 50 ms. I parametri sono riportati in Barbaro et al. (2014).

I dati ottenuti sono stati elaborati con il software Analyst® 1.5.2 (Applied Biosystems MDS SCIEX Instruments).

⁵ La fase di equilibratura a fine corsa cromatografica serve per ripristinare le condizioni cromatografiche iniziali per la corsa successiva.

5.5 Metodo analitico HPAEC-ESI-MS

La determinazione e quantificazione degli zuccheri è stata eseguita con cromatografo ionico ad alte prestazioni (Thermo Scientific Dionex ICS-5000, Waltham, US) accoppiato a spettrometro di massa singolo quadrupolo (MSQ Plus, Thermo Scientific, Brema, Germania). Per la separazione sono stati utilizzati due metodi (Barbaro et al., 2015a):

- a. la colonna cromatografica CarboPac PA10™ 2 x 250 mm (Thermo Scientific), preceduta da colonna di guardia AminoTrap 2 x 50 mm, è stata usata per separare i monosaccaridi arabinosio, fruttosio, galattosio, glucosio, mannosio, ribosio e xilosio, i due alcol-zuccheri iso-eritritolo e maltitolo e il disaccaride saccarosio. Il gradiente di eluizione di idrossido di sodio è il seguente: 0-3 min 1 mM, 3-20 min da 10 mM a 20 mM, 20-45 min 20 mM, 45-55 min lavaggio colonna con 100 mM, 55-60 min equilibratura a 1 mM.
- b. la colonna cromatografica CarboPac MA1™ 2 x 250 mm (Thermo Scientific), preceduta da colonna di guardia AminoTrap 2 x 50 mm, separa invece gli alcol-zuccheri mannitolo, ribitolo, sorbitolo, xilitolo, galactitolo e gli anidro-zuccheri levoglucosan, mannosan e galactosan. Il gradiente di eluizione di idrossido di sodio è il seguente: 0-23 min 20 mM, 23-43 min lavaggio colonna a 100 mM, 43-53 min equilibratura a 20 mM.

Il flusso di fase mobile è 0.25 mL min^{-1} e il volume di iniezione è pari a $50 \mu\text{L}$ per entrambi i metodi.

È presente un soppressore ASRS 500, 2 mm (Thermo Scientific) per rimuovere la soluzione di idrossido di sodio prima dell'ingresso in massa. La ionizzazione avviene grazie ad una sorgente *electrospray* che lavora in modalità negativa, con un potenziale applicato all'ago della sorgente di -2500 V e una temperatura di 400°C . Per migliorare la ionizzazione degli zuccheri, post colonna viene aggiunta una soluzione di metanolo e ammoniaca al 7% ad un flusso di $0.025 \text{ mL min}^{-1}$. La modalità di lavoro scelta per la rivelazione è *Selected Ion Monitoring* (SIM). I parametri sono riportati in Barbaro et al. (2015a).

Per l'elaborazione dei dati è stato utilizzato il software Chromeleon 6.8

(Thermo Scientific).

Anche l'acido metansolfonico è stato determinato e quantificato tramite HPAEC-ESI-MS. I dettagli del metodo analitico utilizzato sono riportati in Barbaro et al. (2017)

Capitolo 6

Risultati e discussione

6.1 Andamento di L- e D-amminoacidi

Uno degli scopi di questo lavoro di tesi è quello di studiare la composizione e l'andamento degli L- e D-amminoacidi nell'aerosol atmosferico artico, valutando la distribuzione dimensionale al fine di comprendere le sorgenti e i principali processi di trasporto.

Quattordici amminoacidi (L- e D-Ala, Gly, L-Arg, LD-Ser, LD-Hys, L-Phe, LD-Orn, L- e D-Asp, L-Glu, L-Pro, L- e D-Val) sono stati identificati e determinati nell'aerosol artico campionato tra aprile e giugno 2014. I composti D-Arg, L- e D-Thr, L- e D-Tyr, D-Phe, L- e D-Trp, D-Glu, L- e D-Leu/Ile, L- e D-Hyp, L- e D-Asn, L- e D-Met presentavano, invece, concentrazioni inferiori al limite di quantificazione.

Il range di concentrazioni totali di amminoacidi nel PM₁₀ per ogni campionamento va da un valore minimo di 0.17 ng m⁻³ ad un massimo di 2.1 ng m⁻³, con una media di 0.7 ± 0.5 ng m⁻³.

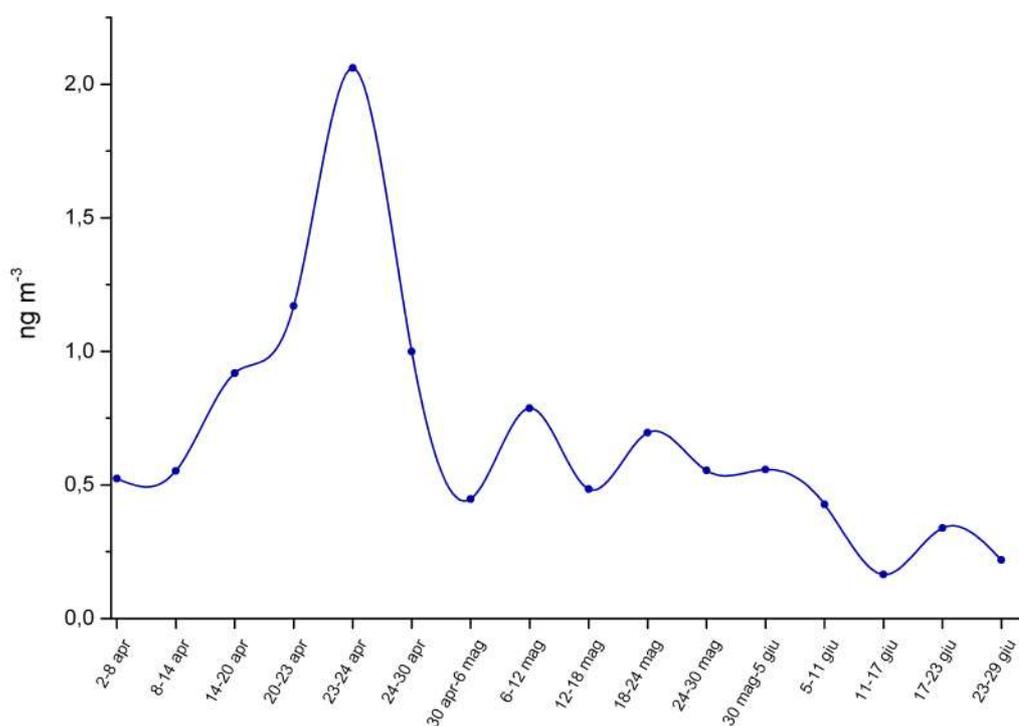


Figura 6.1 Andamento della concentrazione totale di amminoacidi per campionamento

Per valutare l'andamento del PM10 durante il periodo di studio, in Figura 6.1 è riportata la somma della concentrazione degli amminoacidi presenti nelle varie frazioni per ogni campione. Dall'inizio del campionamento (2 aprile) si ha un aumento costante della concentrazione di amminoacidi fino ad arrivare ad un picco massimo in corrispondenza del campione 23-24 aprile, dove è stata registrata una concentrazione totale di 2.1 ng m⁻³. Successivamente, la concentrazione di composti decresce.

Il grafico in Figura 6.2 mostra l'abbondanza relativa media degli amminoacidi calcolata sulla totalità dei composti studiati.

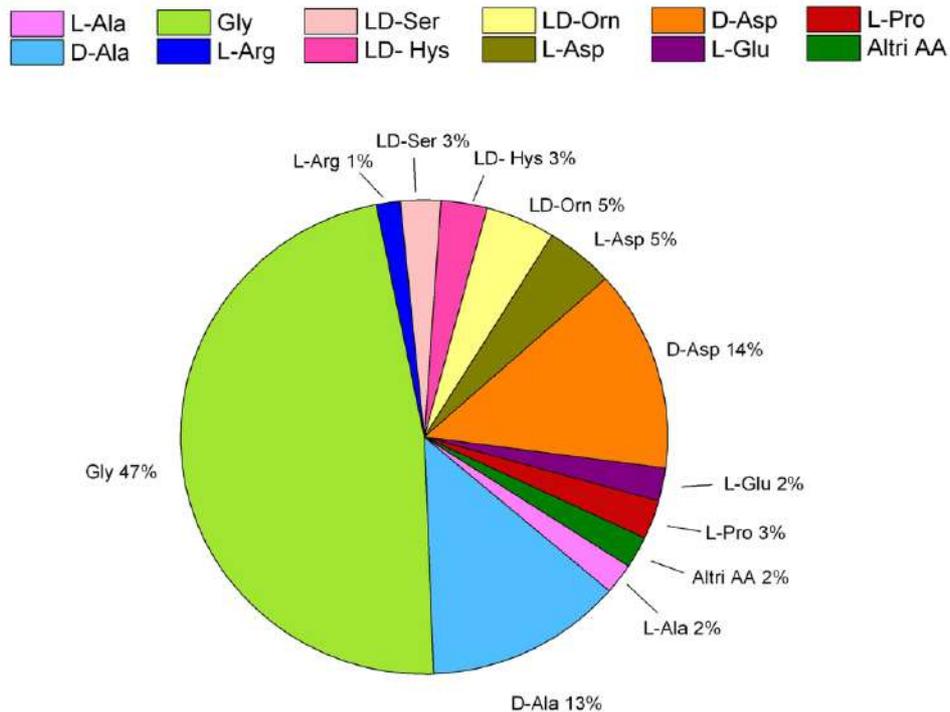


Figura 6.2 Abbondanza relativa di L- e D-amminoacidi. "Altri AA" include D-Val, L-Val, L-Phe

Come si può notare, l'amminoacido più abbondante è la glicina, seguita da acido D-aspartico e D-alanina. La glicina è presente in tutti i campioni ed è in tutti l'amminoacido più abbondante, con percentuali che variano tra 18% (nel campione del 23-29 giugno, dove è presente alla sua concentrazione più bassa rilevata) e 58% del totale. La concentrazione media di glicina è pari a 0.3 ± 0.2 ng m⁻³. Anche l'acido D-aspartico (14%) e la D-alanina (13%) sono stati rilevati in tutti i campionamenti e presentano entrambi una concentrazione media di 0.09 ± 0.07 ng m⁻³.

In Figura 6.3 è riportata la distribuzione degli amminoacidi tra frazione grossolana (10-0.95 µm) e frazione fine (<0.95 µm). In Figura A.1 (appendice A) viene riportata la distribuzione degli amminoacidi in funzione delle classi dimensionali studiate per ogni campione.

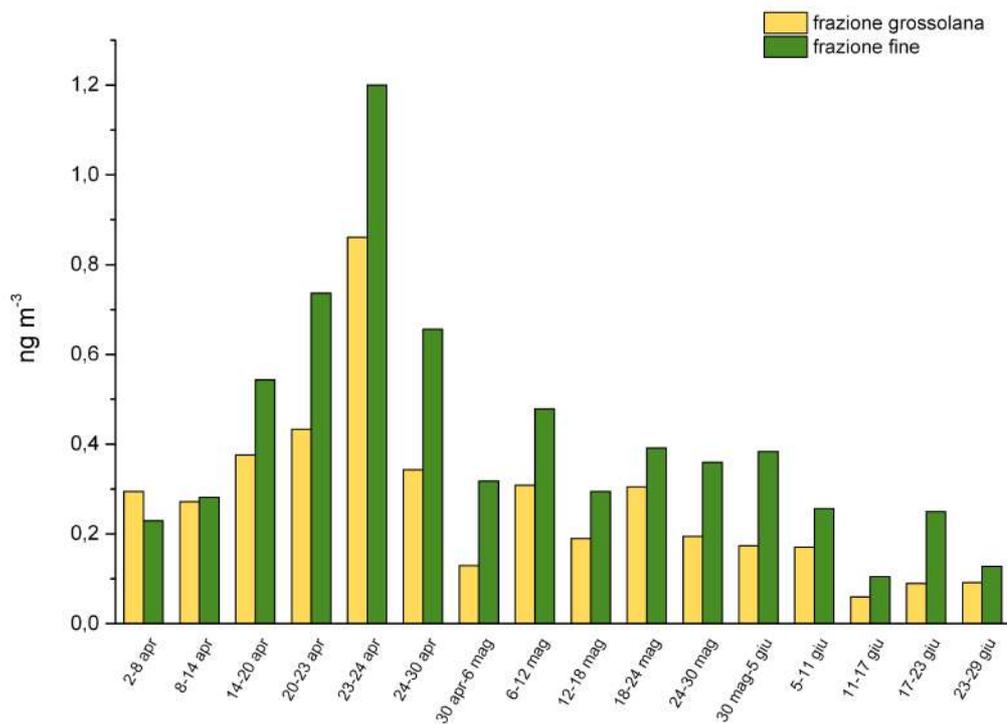


Figura 6.3 Distribuzione totale degli amminoacidi tra frazione grossolana e fine per ogni campionamento

In generale, la frazione fine è quella predominante nella maggior parte dei campioni, tranne per il campione 2-8 aprile, dove la frazione grossolana è superiore e quello dell'8-14 aprile, dove le due frazioni si equivalgono. Glicina, acido D-aspartico e D-alanina confermano questo andamento: uno studio della loro distribuzione dimensionale mostra infatti una più elevata concentrazione nella frazione fine rispetto a quella grossolana nella quasi totalità dei campioni. La distinzione delle abbondanze tra le due frazioni è un fattore essenziale per comprendere l'origine delle sorgenti.

Nello studio di Matsumoto e Uematsu (2005) condotto nell'Oceano Pacifico nord-occidentale, si spiega che vi è una maggiore presenza di amminoacidi liberi e combinati nelle frazioni di particelle più piccole con $D < 2.5 \mu\text{m}$.

Tra gli L-amminoacidi, il più abbondante è l'acido L-aspartico con una concentrazione media di $0.03 \pm 0.02 \text{ ng m}^{-3}$ e si distribuisce nella maggior parte dei campioni nella frazione fine. Gli analiti L-alanina, acido L-glutammico e L-prolina mostrano un andamento nel tempo simile, con una concentrazione media pari a $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ per alanina, $0.02 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ per acido L-

glutammico e $0.02 \pm 0.03 \text{ ng m}^{-3}$ per L-prolina. LD-ornitina è presente a livelli leggermente superiori con una media di $0.03 \pm 0.05 \text{ ng m}^{-3}$. Il suo andamento temporale mostra una concentrazione maggiore nella prima metà del periodo di campionamento per poi diminuire nella seconda parte e scomparire nel periodo 24-30 maggio e 5-11 giugno. A differenza di LD-ornitina, gli altri tre amminoacidi rimangono costanti attorno al valore medio per tutto il periodo (tranne per il campione 23-24 aprile, dove i valori rilevati sono superiori come per tutti i composti studiati). L-valina, LD-istidina, L-arginina e LD-serina sono presenti a concentrazioni inferiori rispetto agli altri analiti (insieme rappresentano circa il 7% della totalità) e sono distribuiti prevalentemente nella frazione grossolana. L-arginina e LD-istidina sono state rilevate in tutti i campioni con concentrazione media pari a $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ e $0.02 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ rispettivamente. L-valina e, in particolare, LD-serina vengono determinati in maniera sporadica durante il periodo di campionamento, ma nonostante ciò LD-serina presenta una concentrazione media pari a $0.02 \pm 0.03 \text{ ng m}^{-3}$ con una concentrazione massima pari a 0.13 ng m^{-3} . Questo valore di concentrazione è stato rilevato nel periodo che va dal 23 al 24 aprile e le successive registrazioni di LD-serina corrispondono alla seconda metà di campionamento, dal 18 maggio in poi.

Per quanto riguarda i D-amminoacidi, l'acido D-aspartico e la D-alanina forniscono il maggiore contributo tra quelli analizzati. Infatti, D-valina è presente a concentrazioni molto basse e costituisce circa l'1-2% della totalità. Simili concentrazioni sono state riscontrate anche nello studio su aerosol artico nella campagna artica del 2015 (Feltracco et al., 2019).

Nel periodo 23-24 aprile è stata registrata la concentrazione più elevata di amminoacidi. Tutti gli amminoacidi studiati presentano un aumento di concentrazione, con una distribuzione variabile tra frazione fine e grossolana. La glicina si distribuisce in entrambe le classi dimensionali, ma la sua abbondanza relativa è superiore nella frazione fine, così come per acido D-aspartico e D-alanina. LD-ornitina, L-prolina e L-alanina sono state rilevate in entrambe le classi dimensionali, ma mostrano percentuali maggiori nella frazione *coarse* rispetto a quella *fine*. L'amminoacido LD-serina è presente unicamente nella frazione grossolana ($D > 0.95 \mu\text{m}$). Anche LD-istidina, L-

valina e L-fenilalanina sono presenti solo nella frazione grossolana, ma a percentuali inferiori rispetto a LD-serina.

Per comprendere se esiste una relazione tra il fenomeno di combustione locale avvenuto a Ny-Ålesund e l'aumento della concentrazione di amminoacidi è necessario analizzare i dati relativi alle concentrazioni di zuccheri traccianti di combustione (levoglucosano e i suoi isomeri) e controllare le direzioni dei venti nel periodo in questione, sfruttando i dati delle rose dei venti.

6.2 Andamento degli zuccheri

La concentrazione totale degli zuccheri per ogni campionamento è compresa tra 0.025 ng m^{-3} e 1.5 ng m^{-3} , con una media pari a $0.6 \pm 0.5 \text{ ng m}^{-3}$. L'andamento del PM10 relativo alla somma degli zuccheri in ogni campione è mostrato in Figura 6.4.

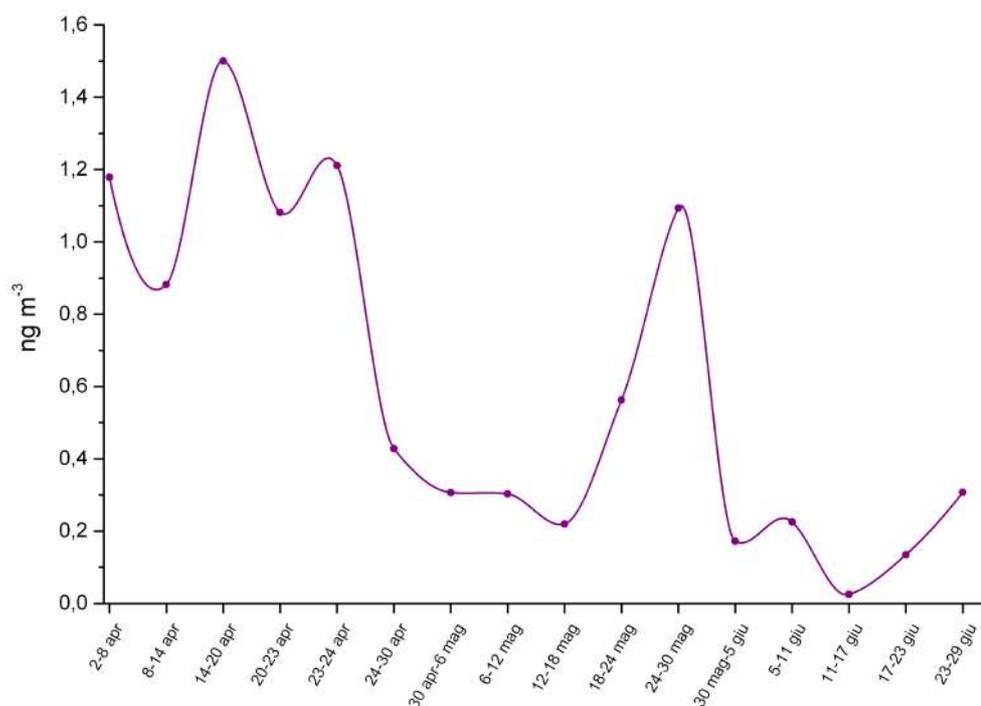


Figura 6.4 Andamento della concentrazione totale degli zuccheri per campionamento

Le concentrazioni più alte sono state rilevate nei primi campionamenti: il

periodo di aprile è caratterizzato da un massimo di concentrazione pari a 1.5 ng m⁻³. I valori diminuiscono all'inizio del mese di maggio attorno al valore medio 0.28 ± 0.05 ng m⁻³. Alla fine di maggio (24-30 maggio) è presente un altro massimo uguale a 1.1 ng m⁻³. Successivamente i valori decrescono nuovamente a giugno (media di 0.2 ± 0.1 ng m⁻³). L'11 giugno è stata registrata la concentrazione totale più bassa, pari a 0.03 ng m⁻³: gli unici zuccheri presenti sono sorbitolo-galactitolo e mannitolo (entrambi rilevati a 0.01 ng m⁻³), saccarosio (0.005 ng m⁻³), iso-eritritolo (0.003 ng m⁻³) e arabitolo (0.001 ng m⁻³).

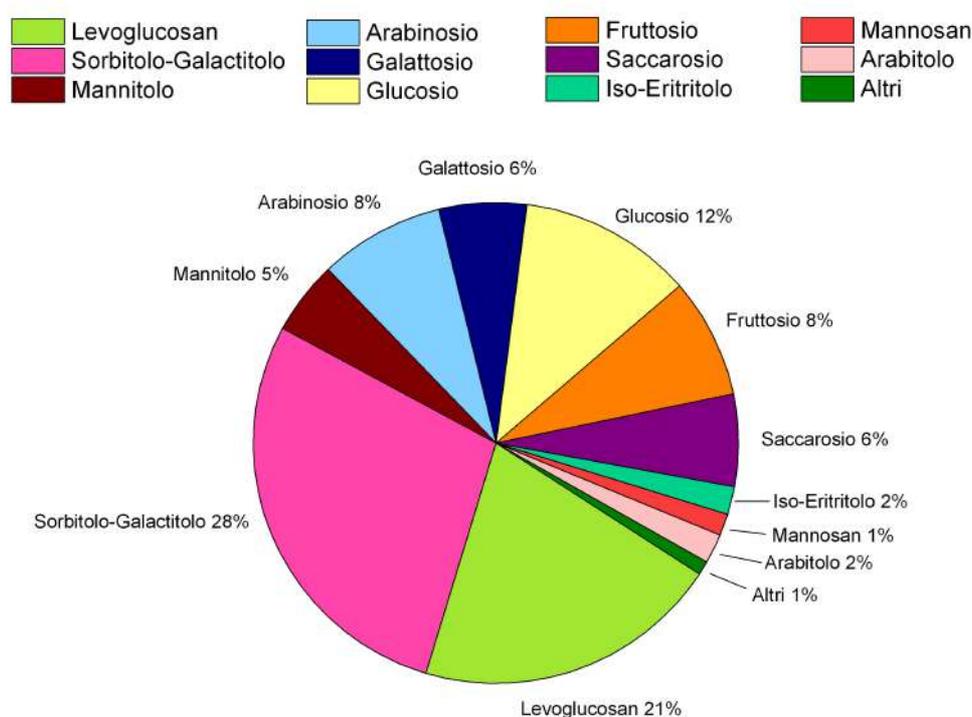


Figura 6.5 Abbondanza relativa media degli zuccheri. "Altri" include galactosan e mannosio

Per quanto riguarda le abbondanze relative medie (Figura 6.5), gli zuccheri più abbondanti sono sorbitolo-galactitolo (28% del totale) con una media 0.2 ± 0.2 ng m⁻³ e levoglucosan (21%) con una media 0.1 ± 0.1 ng m⁻³. Il glucosio è presente ad una percentuale pari al 12% con una concentrazione media di 0.07 ± 0.08 ng m⁻³, leggermente superiore agli altri saccaridi: fruttosio (8%, 0.05 ± 0.15 ng m⁻³), arabinosio (8%, 0.05 ± 0.05 ng m⁻³), galattosio (6%, 0.04 ± 0.08 ng m⁻³) e saccarosio (6%, 0.04 ± 0.04 ng m⁻³). L'alcol-zucchero mannitolo (5%) è

presente alla concentrazione media di $0.03 \pm 0.02 \text{ ng m}^{-3}$, mentre gli altri due zuccheri appartenenti alla stessa classe, iso-eritritolo (2%) e arabitolo (2%), sono stati rilevati alla concentrazione media di $0.01 \pm 0.02 \text{ ng m}^{-3}$ per iso-eritritolo e $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ per arabitolo. Galactosan e mannosan (1%), isomeri del levoglucosan, mostrano una concentrazione media inferiore a quella del levoglucosan: $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ per mannosan e $0.002 \pm 0.005 \text{ ng m}^{-3}$ per galactosan. Il mannosio rappresenta (insieme a galactosan) l'1% degli zuccheri totali e la sua concentrazione media è pari a $0.003 \pm 0.005 \text{ ng m}^{-3}$.

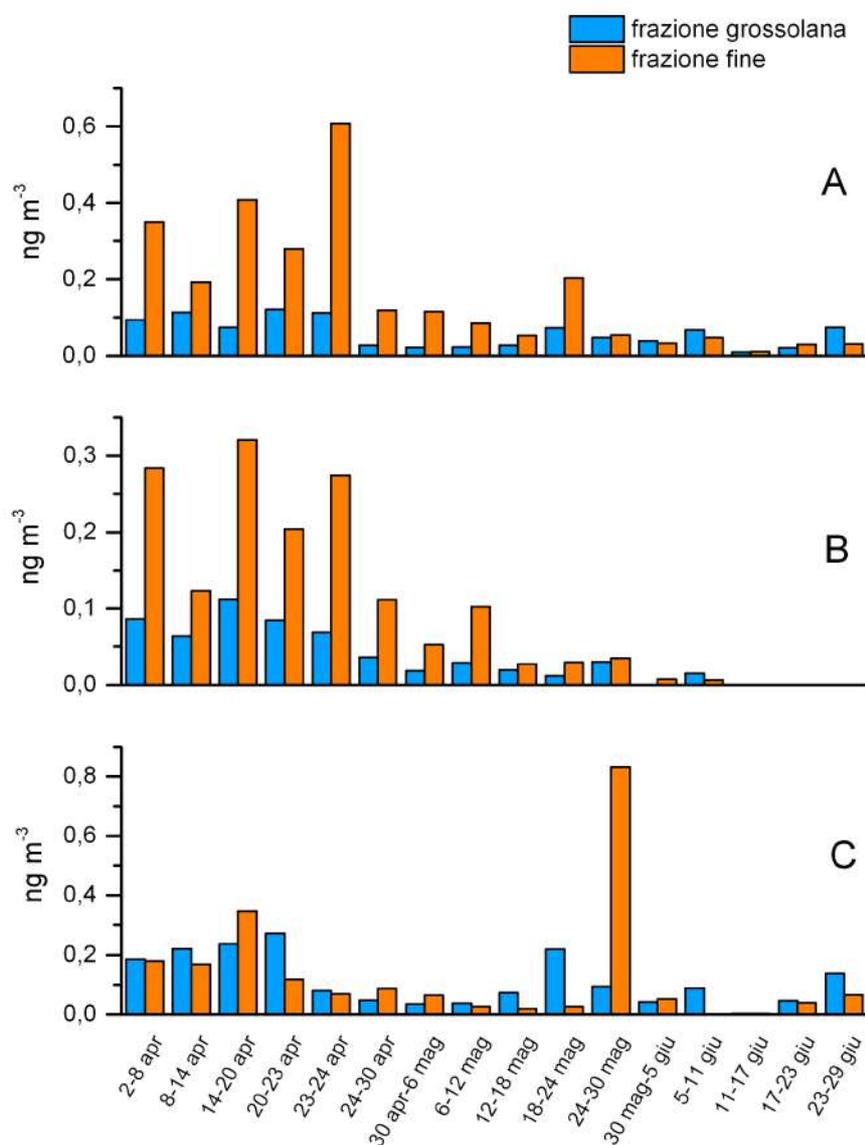


Figura 6.6 Distribuzione totale degli zuccheri tra frazione grossolana e fine per alcol-zuccheri (A), anidro-zuccheri (B) e saccaridi (C).

I grafici in Figura 6.6 mostrano la distribuzione tra frazione grossolana e frazione fine delle tre classi di zuccheri analizzati. In Figura A.2 (appendice A) è riportata la distribuzione degli zuccheri totali in funzione delle classi dimensionali studiate per ogni campione.

Gli alcol-zuccheri (Figura 6.6 A) si distribuiscono prevalentemente nella frazione fine. Infatti, sorbitolo-galactitolo è distribuito principalmente nella frazione fine ed è stato rilevato in tutti i campionamenti, mostrando una concentrazione maggiore nei campioni del mese di aprile ed inizio maggio. Invece, mannitolo e arabitolo arricchiscono la frazione grossolana e sono assenti nel campione 23-24 aprile. Iso-eritritolo è distribuito in entrambe le frazioni ed è assente dal 23 aprile al 18 maggio e alla fine di giugno.

Gli anidro-zuccheri (Figura 6.6 B) levoglucosan, mannosan e galactosan si distribuiscono prevalentemente nella frazione fine: mannosan e galactosan sono, tuttavia, presenti con una frequenza più bassa rispetto a levoglucosan e tutti e tre gli anidro-zuccheri sono assenti negli ultimi tre campionamenti, dall'11 giugno in poi.

I saccaridi, ovvero monosaccaridi e saccarosio, (Figura 6.6 C) mostrano invece una distribuzione variabile tra frazione grossolana e fine. Il saccarosio è l'unico zucchero che è stato trovato in tutti i campionamenti, con una concentrazione maggiore ad aprile ed inizio maggio e una prevalenza nella frazione grossolana. L'arabinosio arricchisce principalmente la frazione fine e non è stato rilevato solo negli ultimi tre campioni (dall'11 al 29 giugno). Al contrario, il galattosio è distribuito maggiormente nella frazione grossolana ed è stato rilevato sporadicamente (a metà aprile ed inizio maggio). Il picco di concentrazione corrispondente al 24 maggio è dovuto ad un aumento di glucosio e fruttosio nell'aerosol: il primo è stato rilevato ad una concentrazione pari 0.25 ng m^{-3} , il secondo ad una concentrazione uguale a 0.59 ng m^{-3} . Il glucosio è distribuito maggiormente nella frazione grossolana ed è assente dal 20 aprile al 12 maggio e nel campione dell'11 giugno. Nel campione del 24 maggio è presente invece principalmente nella frazione fine, così come il fruttosio, anch'esso distribuito nella frazione grossolana tranne per il campione in esame. La frequenza del fruttosio nei campioni è più bassa rispetto a quella del glucosio, poiché esso è stato rilevato solo dal 2 al 20 aprile, dal 18 al 30 maggio e dal 17 al 29 giugno.

6.3 Sorgenti e trasporto

6.3.1 Sorgenti e trasporto degli amminoacidi

Gli amminoacidi hanno essenzialmente una sorgente di tipo biogenica primaria: essi derivano dalla vegetazione, da batteri, da spore fungine e sono stati rilevati anche nel suolo e polveri terrestri (Barbaro et al., 2015b; Mace et al., 2003; Milne and Zika, 1993; Zhang and Anastasio, 2003).

Gli amminoacidi fanno parte della frazione di carbonio organico idrosolubile (WSOC) e di azoto organico idrosolubile (WSON). Diversi composti organici idrosolubili, come n-alcani, idrocarburi policiclici aromatici, zuccheri, acidi carbossilici, vengono emessi in atmosfera durante fenomeni di *biomass burning*. Oltre a questi composti vi sono anche gli amminoacidi (Mace et al., 2003).

Al fine di verificare se la combustione di biomassa fosse una sorgente di amminoacidi, l'andamento degli amminoacidi è stato confrontato con quello del levoglucosan, noto *marker* di *biomass burning*. Inoltre, per valutare se l'aumento repentino delle concentrazioni di amminoacidi fosse riconducibile alla combustione avvenuta a Ny Ålesund e post-combustione nel mese di aprile, sono state studiate le retrotraiettorie, rose dei venti e distribuzione dimensionale di levoglucosan nel periodo in questione.

Considerando l'andamento temporale dell'anidro-zucchero levoglucosan, si può notare che esso sia confrontabile con quello degli amminoacidi, con concentrazioni superiori per entrambi nella prima metà del campionamento (Figura 6.7).

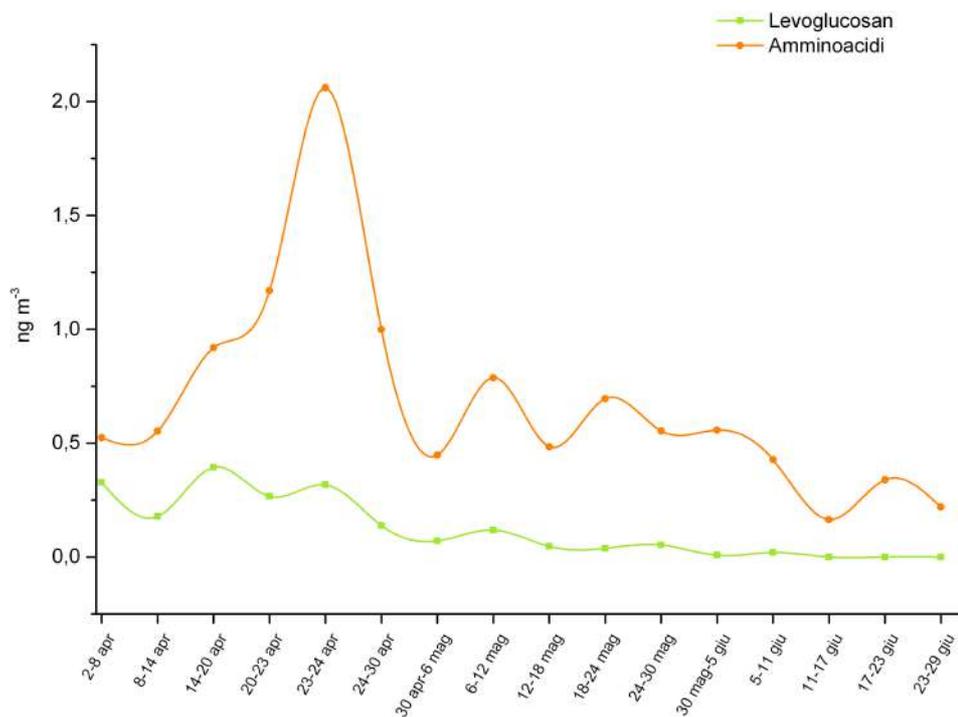


Figura 6.7 Andamento della concentrazione totale di levoglucosan e amminoacidi per campionamento

Il *biomass burning* di tipo continentale potrebbe essere una sorgente significativa per gli amminoacidi del mese di aprile: le retrotraiettorie *long-range*, con un tempo di calcolo di sette giorni, mostrano un'origine delle masse d'aria dal nord della Russia in aprile, caratterizzato da fuochi in tutta la zona settentrionale dell'Eurasia (Figura 6.14). Nella campagna di ricerca del 2015 (Feltracco et al., 2019), l'aumento delle concentrazioni di amminoacidi avvenuto a metà aprile è stato attribuito allo sviluppo di fuochi nella Russia settentrionale.

Per quanto riguarda, invece, l'evento di combustione locale del 20-23 aprile, lo studio delle rose dei venti⁶ e delle retrotraiettorie (Figura 6.8, Figura 6.9) non supporterebbe l'ipotesi della combustione locale come sorgente principale di amminoacidi per i campioni 20-23 aprile e 23-34 aprile. Le retrotraiettorie sono state calcolate tramite software NOAA HYSPLIT trajectory model (April 2018

⁶ I dati sono stati forniti dalla Amundsen-Nobile Climate Change Tower della stazione artica del CNR.

release). Per ogni campione sono state considerate le 24 ore precedenti (con un intervallo di 1 ora) e ad un'altezza di 100 m s.l.m. per valutare il contributo di trasporto locale.

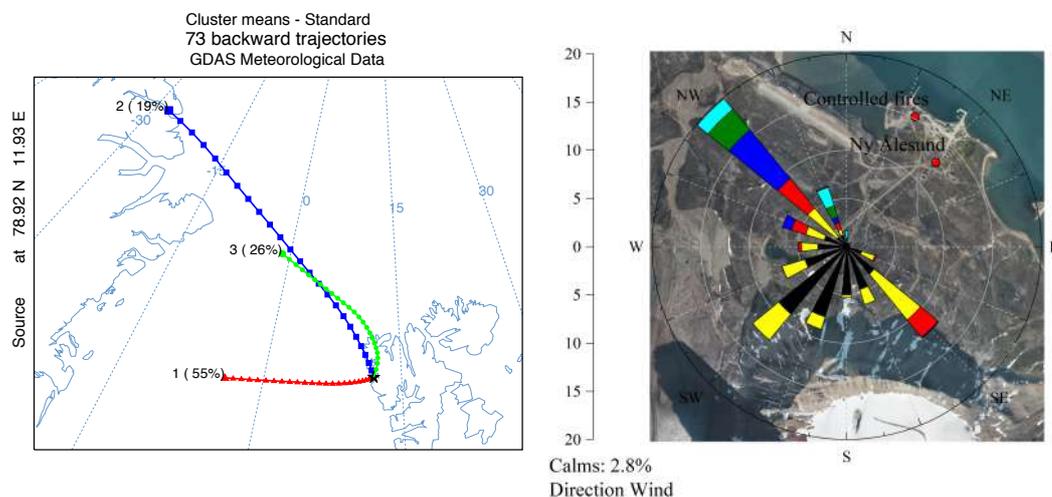


Figura 6.8 Retrotraiettorie di 24 ore e rosa dei venti dal 20 al 23 aprile

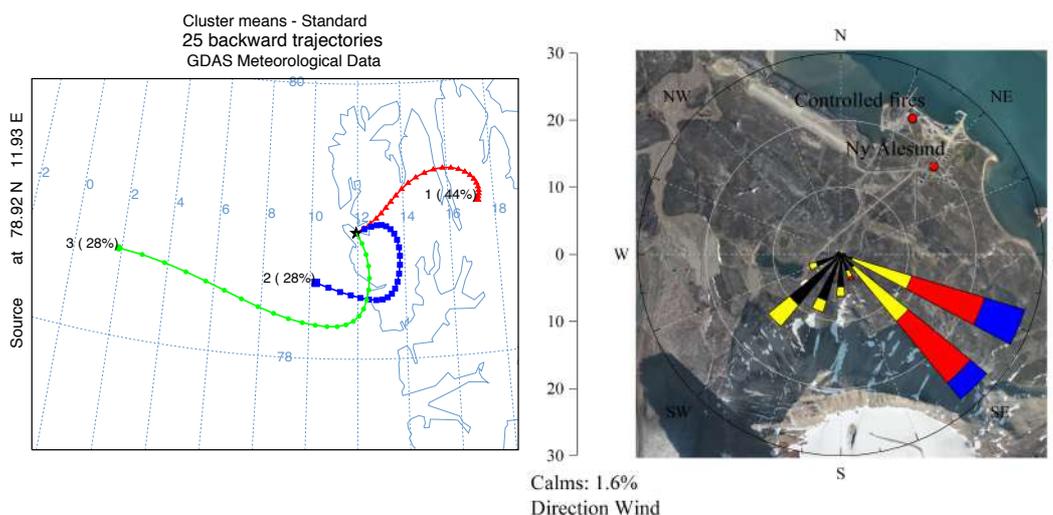


Figura 6.9 Retrotraiettorie di 24 ore e rosa dei venti dal 23 al 24 aprile

Se si considera il periodo di fuochi controllati (20-23 aprile), i venti soffiano prevalentemente da nord-ovest, ma il punto in cui è avvenuta la combustione si trova a nord rispetto alla stazione di campionamento. Osservando le concentrazioni di levoglucosan, questo zucchero è presente ad un valore inferiore rispetto al campionamento precedente: 0.27 ng m^{-3} rispetto a 0.39 ng m^{-3} ; inoltre, la frazione grossolana, che è indice di trasporto *short-range*, diminuisce (Figura 6.10).

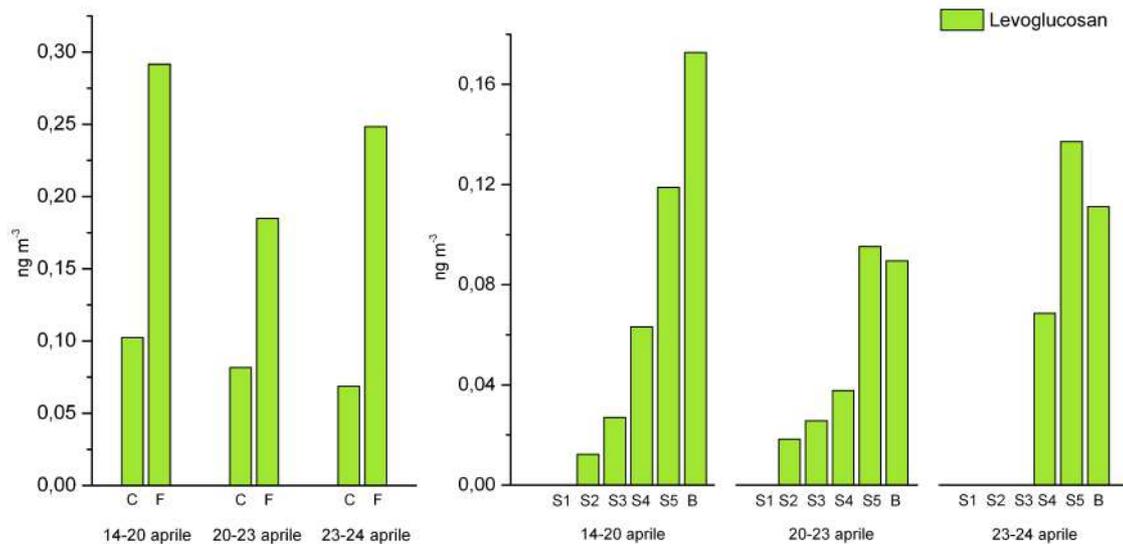


Figura 6.10 Distinzione tra particelle *fine* e *coarse* (sinistra) e distribuzione nelle sei classi del levoglucosan dal 14 al 24 aprile

Questo fa presupporre un evento di combustione di altri materiali che non rilasciano quantità significative di levoglucosan. Nel campionamento effettuato per verifica post-combustione (23-24 aprile), la concentrazione di levoglucosan aumenta leggermente ($0,32 \text{ ng m}^{-3}$), ma rimane comunque inferiore al campionamento precedente all'evento e la componente grossolana con $D > 1,5 \mu\text{m}$ sparisce. Inoltre, la direzione dei venti mostra un'origine da sud, che quindi non interessa il luogo di fuochi controllati. L'apporto di combustione locale potrebbe essere considerato minimo per il campionamento del periodo che va dal 20 al 23 aprile ed è da escludere per il periodo di controllo post-combustione.

Durante il periodo di campionamento in esame, la glicina è l'amminoacido più concentrato: in studi pregressi condotti a Ny Ålesund (Feltracco et al., 2019; Scalabrin et al., 2012) la glicina risulta essere sempre il composto prevalente. Si tratta di un amminoacido molto stabile, con un tempo di semi-vita elevato superiore a 19 giorni e la sua presenza è indice quindi di trasporto *long-range* (McGregor and Anastasio, 2001). Per questo motivo è difficile ipotizzare una precisa sorgente poiché si tratta di un amminoacido ubiquitario, presente nei suoli come fonte di azoto per la vegetazione (Streeter et al., 2000), nelle acque marine come il Mare di Groenlandia (Hubberten et al., 1994) e anche in alcune

specie di batteri e funghi, che la utilizzano nel percorso di biosintesi di acido cianidrico (Castric, 1977). Inoltre, durante la degradazione di materia organica, si registra un accumulo di composti costituenti la parete cellulare batterica tra cui la glicina (Dittmar et al., 2001).

Gli altri due composti più abbondanti, D-alanina e acido D-aspartico, sono stati ritrovati in suoli organici terrestri caratterizzati da sostanza umica (Kimber et al., 1990), ma anche in sedimenti marini, sedimenti lacustri e in acque marine (Lee and Bada, 1977; Pollock and Kvenvolden, 1978). In diversi studi (Dittmar et al., 2001; Lee and Bada, 1977; Pollock and Kvenvolden, 1978) si ritiene che l'origine dei D-amminoacidi possa essere di tipo batterico, essendo composti presenti nella parete cellulare e nella capsula microbica e abbastanza resistenti a degradazione.

L'origine di acido D-aspartico e D-alanina nell'aerosol artico potrebbe essere principalmente marina, considerando la collocazione del sito di campionamento, con una componente terrestre trascurabile, dato che il manto nevoso persiste fino a inizio giugno. Nel Mar Artico è stata registrata un'elevata attività batterica legata a produzione fitoplanctonica: questi organismi autotrofi, presenti nella zona eufotica, produrrebbero amminoacidi liberi (enantiomeri L) che verrebbero rapidamente incorporati nella biomassa batterica, la quale li metabolizzerebbe e trasformerebbe nella forma D (Dittmar et al., 2001).

Un'altra possibile causa dell'elevata presenza degli enantiomeri D, potrebbe essere la racemizzazione, cioè la trasformazione di L-amminoacidi in D-amminoacidi fino al raggiungimento di un equilibrio in cui la quantità di enantiomeri L e D è uguale (miscela racemica). Tuttavia, concentrazioni rilevanti di D-amminoacidi sono state identificate in sedimenti giovani che non hanno subito un processo di *ageing* (Pollock and Kvenvolden, 1978) e la racemizzazione sembrerebbe un processo trascurabile in acque marine (Lee and Bada, 1977).

Il passaggio di amminoacidi disciolti in acqua alla soluzione gassosa nell'aerosol avviene tramite il processo di *bubble bursting*, ovvero la rottura di particelle di acqua marina in seguito all'azione del vento sulla superficie dei mari. Il sottile strato d'acqua (1 mm) che delimita l'idrosfera marina con l'atmosfera viene denominato *microlayer* marino ed è ricco di composti

organici. Tutti gli scambi tra i due comparti ambientali avvengono attraverso questo strato. Le bolle possono essere generate non solo dall'azione del vento, ma anche dalle onde del mare, dal rilascio di gas di fotosintesi o di degradazione di sostanza organica e possono essere anche rilasciate dallo scioglimento del ghiaccio marino che intrappola bolle d'aria. Il fenomeno di generazione di spray marino produce principalmente particolato di dimensione grossolana, andando a giustificare anche la presenza di questa frazione nell'aerosol atmosferico, ma esistono fenomeni di frammentazione di particelle grossolane in frammenti fini (Matos et al., 2016), che possono essere trasportati dal vento per lunghe distanze (Kuznetsova et al., 2005). Nell'aerosol nel Mar Glaciale Artico sono state ritrovate particelle di origine biologica contenenti resti batterici e residui di diatomee (Leck and Bigg, 2005). I meccanismi che contribuiscono all'arricchimento di azoto organico del *microlayer* marino non sono ancora ben noti, ma si ritiene siano produzione primaria e degradazione biologica (Wedyan and Preston, 2008).

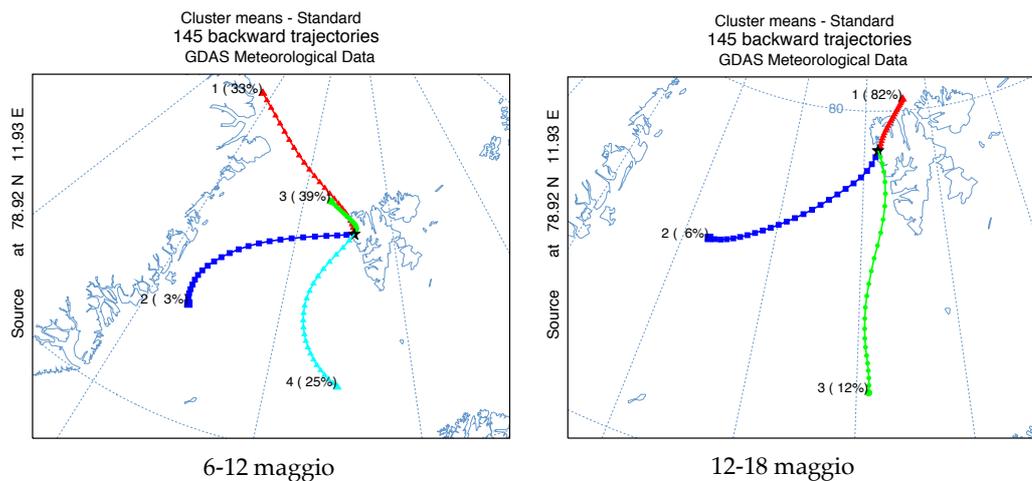
Studi recenti (Barbaro et al., 2019; Zangrando et al., 2016) hanno riportato aumenti delle concentrazioni di alcuni amminoacidi, in particolare di D-alanina, in occasione di eventi di combustione di biomassa. Una spiegazione può essere che in seguito alle elevate temperature si verifichi la lisi delle cellule batteriche, che comporta un rilascio di D-amminoacidi che costituiscono la parete cellulare. La risospensione, poi, di suolo contenente batteri degradati aumenterebbe le concentrazioni di amminoacidi nell'aerosol. Quindi l'origine di acido D-aspartico e D-alanina potrebbe essere distinta da quella degli L-amminoacidi.

L'arricchimento del particolato atmosferico di L-amminoacidi può essere legato alla produzione biologica primaria marina, che costituisce un'importante sorgente locale. Nel periodo primaverile, tra aprile e maggio, inizia la crescita di diverse specie fitoplanctoniche nelle acque marine artiche. Un esempio è dato dallo sviluppo di alghe come *Prymnesiophytae* e diatomee, specie autotrofe che sintetizzano gli amminoacidi, partendo dal metabolismo del carbonio (Bromke, 2013) e li rilasciano nel *microlayer*. L'azione del vento permette di generare *spray* marino arricchito di amminoacidi (Kuznetsova et al., 2005).

Nello studio condotto da Park et al. (2018) è stata fatta una stima della

concentrazione di DMSP (dimetilsolfoniopropionato) nelle acque marine che circondano le isole Svalbard. Il DMSP è il precursore del DMS (dimetilsolfuro), una forma biogenica di zolfo prodotta principalmente da comunità fitoplanctoniche nelle acque marine ed utilizzato come *marker* per *bloom* algali. È stato calcolato il rapporto DMSP/clorofilla in modo da poter stimare il contributo della biomassa fitoplanctonica che effettivamente produce DMS rispetto alla biomassa totale presente nelle acque artiche. Per l'anno 2014 è stata riscontrata una maggiore capacità di produzione di DMS da parte della biomassa che costituisce il Mare di Groenlandia rispetto a quella presente nel Mare di Barents.

Per verificare l'ipotesi di sorgente locale marina sono state calcolate le retrotraiettorie (Figura 6.11). Queste sono state create per ogni campione considerando le 24 ore precedenti (con un intervallo di 1 ora) e ad un'altezza di 100 m s.l.m. per valutare il contributo di trasporto locale.



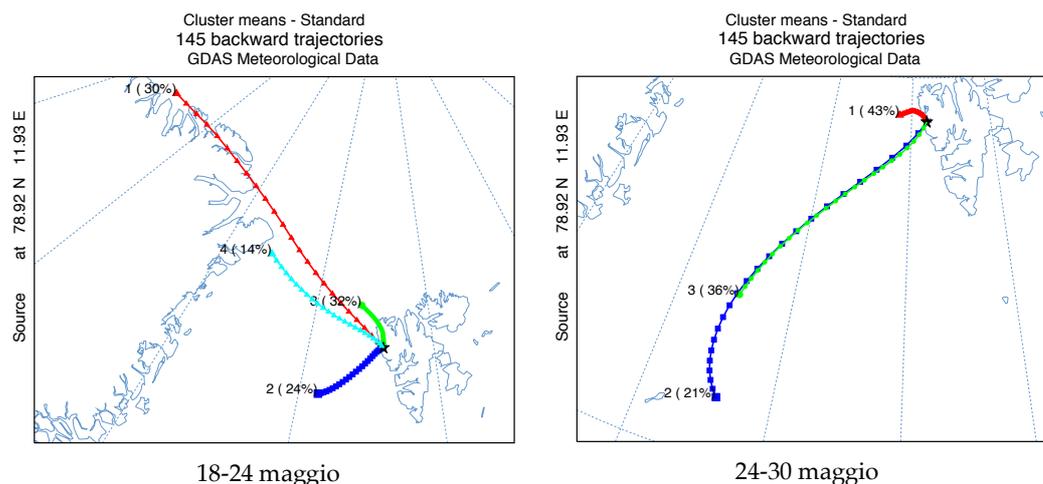


Figura 6.11 Retrotraiettorie di 24 ore

Relativamente al periodo di maggio, di massimo *bloom* algale, le retrotraiettorie originano dal Mare Artico del Nord e dal Mare di Groenlandia, dove è stata riscontrata una prevalenza di alghe che producono elevate quantità di DMSP e relativi enzimi specifici. Questo risultato può indicare perciò un arricchimento dell'aerosol marino di questi composti, grazie alla presenza di *bloom* fitoplanctonici e la produzione di amminoacidi, che ha in seguito raggiunto il sito di campionamento di Gruvebadet.

L'arricchimento dell'aerosol in L-amminoacidi potrebbe derivare non solo da produzione primaria marina, ma anche da cammini biosintetici vegetali: infatti la produzione di L-amminoacidi in specie algali e vegetali terrestri è simile (Bromke, 2013).

Il composto acido L-aspartico è stato trovato con una concentrazione media di $0.03 \pm 0.02 \text{ ng m}^{-3}$, mentre non è stata rilevata L-asparagina. Secondo studi relativi al metabolismo vegetale (Catak et al., 2009; Sieciechowicz et al., 1988), l'asparagina presente nelle foglie e nelle radici delle piante può essere idrolizzata ad acido aspartico. Non sono note ricerche che affermano l'avvenimento di questi processi a livello atmosferico in ambiente remoto, ma in ambiente urbano è stato riscontrato un processo di trasformazione di asparagina in acido aspartico per reazione con radicale ossidrilico (Samy et al. 2013).

Per quanto riguarda l'amminoacido LD-serina (concentrazione media $0.02 \pm$

0.03 ng m⁻³), anche in Feltracco et al. (2019) questo composto era stato trovato in pochi campionamenti, con una media di 0.02 ± 0.03 ng m⁻³, a differenza di Scalabrin et al. (2012) dove rappresentava il 27% della totalità degli amminoacidi. È stato ipotizzato che LD-serina derivi dall'ossidazione di amminoacidi combinati e altri amminoacidi liberi precursori.

6.3.2 Sorgenti e trasporto degli zuccheri

Gli zuccheri sono una delle maggiori frazioni di carbonio organico idrosolubile (WSOC) e presentano come fonti di generazione principali sorgenti biogeniche (produzione vegetale e fungina), resti biogenici naturali presenti nel suolo e combustione di biomassa (Elbert et al., 2007; Fu et al., 2013; Medeiros et al., 2006; Simoneit et al., 2004; Tominaga et al., 2011).

Non solo grazie allo studio degli amminoacidi, ma anche grazie a quello degli zuccheri è possibile comprendere il contributo delle sorgenti biogeniche all'aerosol artico e in particolare concentrarsi sul *bioaerosol*⁷.

Studi sugli zuccheri in atmosfera sono stati condotti principalmente in ambiente rurale e urbano e vi sono pochi dati relativi ad ambienti remoti come le zone polari (Barbaro et al., 2015a; Fu et al., 2013; Theodosi et al., 2018; Yttri et al., 2007a, 2007b).

Tra gli alcol-zuccheri, in ordine di concentrazioni decrescenti vi sono sorbitolo-galattitolo, mannitolo, iso-eritritolo e arabitolo. Simoneit et al. (2004) propone gli alcol-zuccheri (o zuccheri ridotti) come indicatori di polveri terrestri, poiché sembrerebbero derivare principalmente da materiale organico presente nei suoli. L'immissione nell'atmosfera di composti organici presenti nel suolo avverrebbe tramite erosione naturale da parte dell'azione del vento ed attività antropiche come agricoltura e allevamento. Gli zuccheri mannitolo e arabitolo sono traccianti di spore fungine e per questo sono presenti nella frazione

⁷ Aerosol che contiene resti di batteri, spore fungine, virus, pollini e altri composti derivanti da sorgenti biogeniche.

grossolana (Bauer et al., 2008). In questo studio, il mannitolo è più abbondante dell'arabitololo, con una concentrazione media pari a $0.03 \pm 0.02 \text{ ng m}^{-3}$ mentre il secondo mostra concentrazioni inferiori con una media di $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$. Theodosi et al. (2018) ha evidenziato che le concentrazioni di questi zuccheri variano con la stagione di crescita vegetale, indicando un possibile collegamento di questi composti con sorgenti biogeniche primarie: non solo spore fungine ma anche alghe e piante vascolari. I due alcol-zuccheri hanno una correlazione pari a $R^2 = 0.92$ ($p\text{-value} < 0.05$) e questo indica che possono derivare dalla medesima fonte. Considerando che mannitolo e arabitololo sono presenti quasi esclusivamente nella frazione grossolana, la sorgente principale potrebbe essere locale. Una potenziale fonte potrebbe essere la crescita algale che interessa il Mar Glaciale Artico: le specie fitoplanctoniche potrebbero rilasciare questi zuccheri nel *microlayer* marino permettendo lo scambio con l'atmosfera tramite *bubble bursting*. Inoltre, con l'inizio dello scioglimento dei ghiacci, anche le specie vegetali presenti nell'arcipelago e i funghi associati possono contribuire all'arricchimento di mannitolo e arabitololo nell'aerosol (Botnen et al., 2014).

Un possibile apporto, anche se minore data la bassa frequenza di questi composti nella frazione fine, potrebbe essere quello derivante dal trasporto *long-range* di tipo continentale. Per i periodi mostrati in Figura 6.12, sono state studiate le retrotraiettorie con un tempo di calcolo di cinque giorni (per studiare il trasporto a lungo raggio): esse mostrano un'origine delle masse d'aria dal continente, in particolare dalla Siberia, dal Regno Unito e dall'Islanda. I periodi in esame (18 maggio-11 giugno) sono stati presi in considerazione per studiare l'aumento di concentrazione di arabitololo e mannitolo rispetto al periodo precedente (23 aprile-17 maggio).

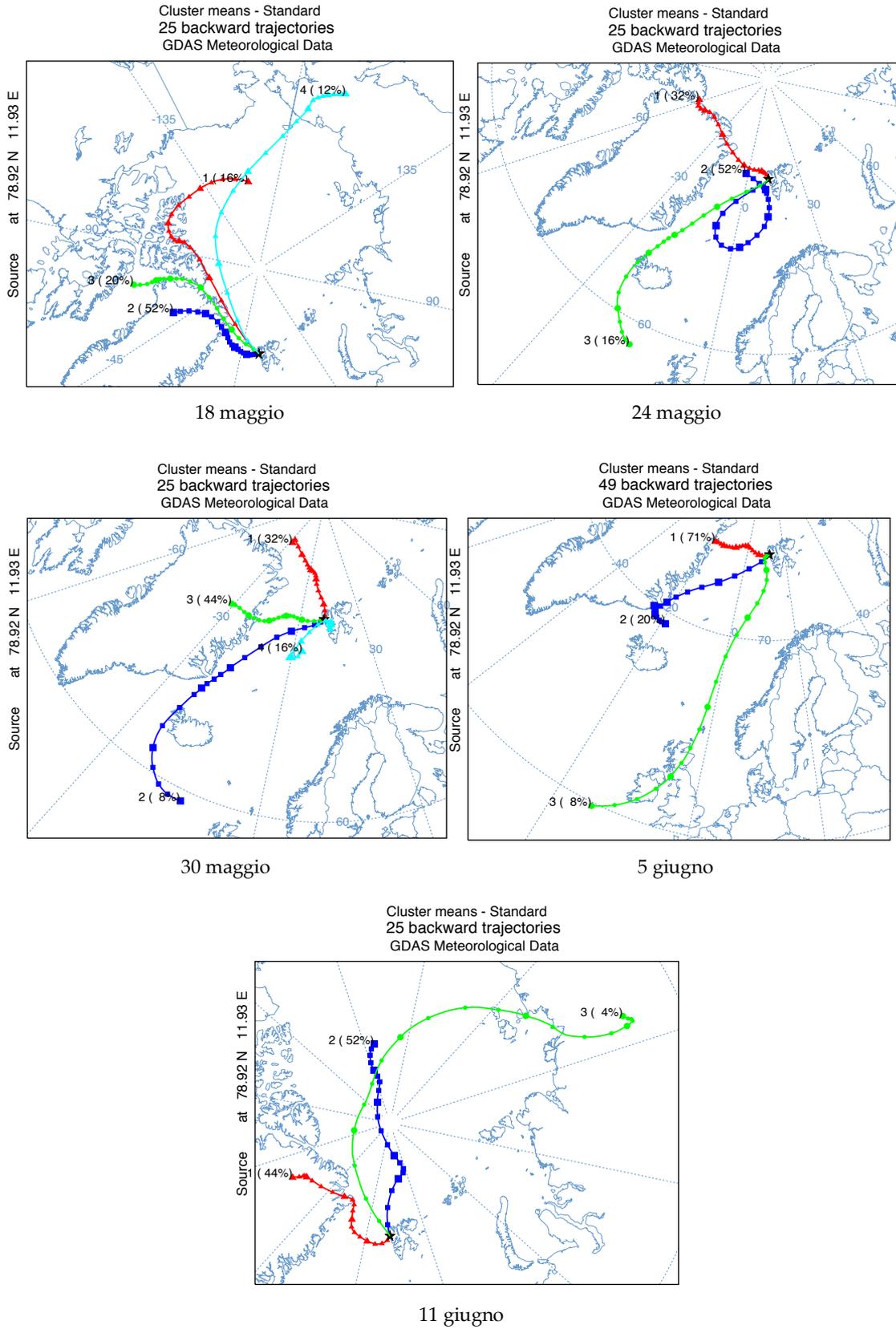


Figura 6.12 Retrotraiettorie di 120 ore

Con il progredire della primavera e l'avvicinarsi dell'estate i ghiacci della tundra artica iniziano lentamente a sciogliersi e in parte anche alle isole Svalbard. Il suolo caratterizzato da specie erbacee, muschi e licheni ritorna ad essere esposto (McKane et al., 2002; Russel, 1990). Nei licheni, gli zuccheri ridotti sono gli zuccheri solubili più abbondanti (Medeiros et al., 2006). È possibile quindi che la presenza di mannitolo a fine maggio-giugno sia legata al parziale disgelo dei suoli siberiani e in parte anche alla vegetazione dei terreni del Regno Unito ed Islanda, sebbene la frazione fine rilevata sia minima. Anche il parziale disgelo alle isole Svalbard può contribuire alla liberazione di mannitolo, in questo caso andando ad arricchire la frazione grossolana. Invece, le concentrazioni superiori di mannitolo nel mese di aprile potrebbero essere legate più alla produzione primaria algale piuttosto che a fonti di tipo terrestre. Generalmente mannitolo e arabitolo rappresentano la componente maggiore degli alcol-zuccheri. Essi, però, vengono rilevati con concentrazioni abbondanti nel periodo estivo, in corrispondenza della massima crescita vegetale e con l'avvicinarsi dell'autunno, quando aumentano le spore fungine (Medeiros et al., 2006; Yttri et al., 2007b). In estate anche le zone polari presentano terreno esposto, in seguito allo scioglimento dei ghiacci, e le comunità di funghi che si sono adattate alle condizioni estreme ricominciano la loro attività di produzione di spore (Fu et al., 2013). Rispetto alla campagna artica in corso di studio del 2013⁸, avvenuta da aprile a settembre, le concentrazioni di mannitolo e arabitolo sono confrontabili nello stesso periodo (aprile-giugno): la concentrazione media di mannitolo è di $0.01 \pm 0.01 \text{ ng m}^{-3}$ e di arabitolo pari a $0.02 \pm 0.05 \text{ ng m}^{-3}$. Invece nel periodo estivo del 2013 le concentrazioni sono molto elevate e mannitolo e arabitolo sono presenti alla concentrazione media di $0.7 \pm 0.6 \text{ ng m}^{-3}$ e $0.8 \pm 0.6 \text{ ng m}^{-3}$ rispettivamente. L'alditolo più abbondante è sorbitolo-galactitolo. A differenza degli altri due zuccheri dello stesso gruppo, sorbitolo-galactitolo mostra una distribuzione maggiore nella frazione fine. Confrontando la variazione temporale della sua concentrazione nel PM10 con quella del levoglucosan si può notare un

⁸ Dati non ancora pubblicati

andamento simile (Figura 6.13).

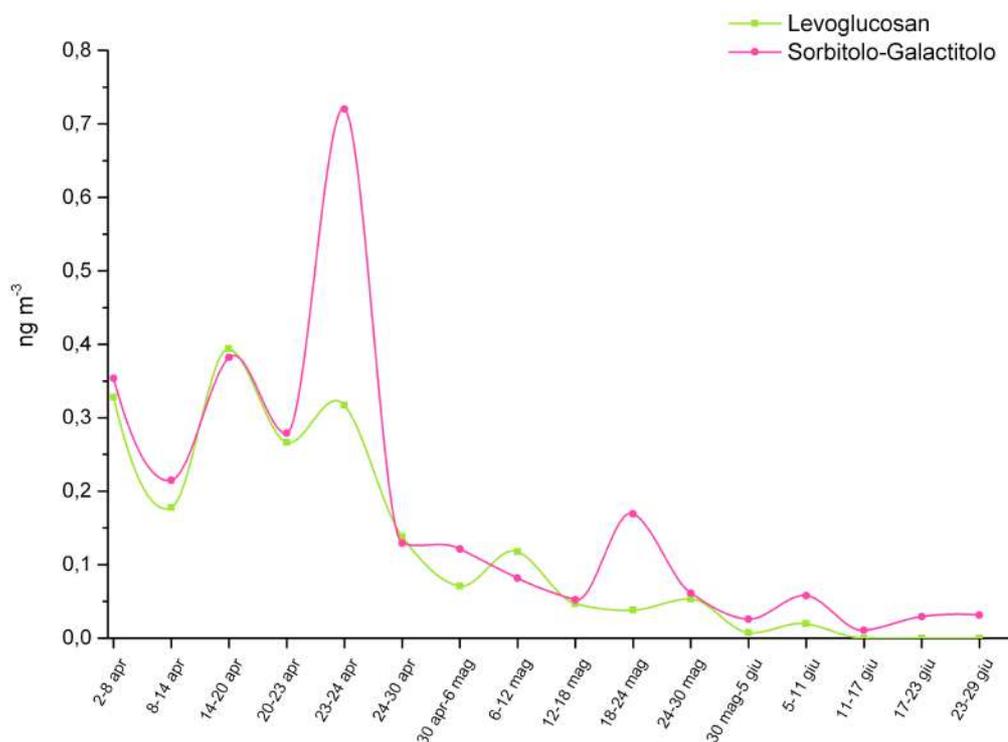


Figura 6.13 Andamento delle concentrazioni di levoglucosan e sorbitolo-galactitolo per campionamento

Tra i due zuccheri risulta una correlazione positiva ($R^2= 0.74$, $p\text{-value}<0.05$). Essendo il levoglucosan un tracciante di *biomass burning*, questo potrebbe indicare che una possibile sorgente di sorbitolo-galactitolo sia proprio il fenomeno di combustione di biomassa.

Un'altra fonte, simile a quella degli altri alcol-zuccheri, potrebbe essere di tipo algale. Organismi vegetali unicellulari che vivono in ambiente acquatico (dolce e marino), per regolare la propria omeostasi durante i cambiamenti di salinità, utilizzano la strategia di sintesi e degradazione/espulsione di metaboliti a basso peso molecolare, denominati soluti compatibili (Wegmann, 1986). Questa via risulta meno dispendiosa dal punto di vista energetico: i metaboliti vengono sintetizzati quando le condizioni esterne di salinità sono elevate e quindi gli organismi vegetali devono mantenere un'adeguata concentrazione chimica interna di soluti e fluidi. Questo tipo di meccanismo è comune in molte specie algali e piante alofite. I metaboliti scelti sono zuccheri, principalmente alditoli e alcuni amminoacidi, come la prolina. Il sorbitolo viene sintetizzato ad esempio dalle alghe verdi, poiché è un composto osmoticamente attivo che non

provoca danni a livello enzimatico e funzionale (Brown and Hellebust, 1977; Wegmann, 1986). Anche alcuni batteri producono alditoli come il sorbitolo per combattere lo stress osmotico (Loos et al., 1994).

Per quanto riguarda gli anidro-zuccheri, il levoglucosan si distribuisce prevalentemente nella frazione fine e le concentrazioni maggiori di questo zucchero si hanno nella prima metà di campionamento, con un picco di 0.39 ng m⁻³ in corrispondenza del 14-20 aprile. Le retrotraiettorie con un tempo di calcolo di sette giorni del mese di aprile mostrano una provenienza consistente delle masse d'aria dal nord della Russia (Figura 6.14).

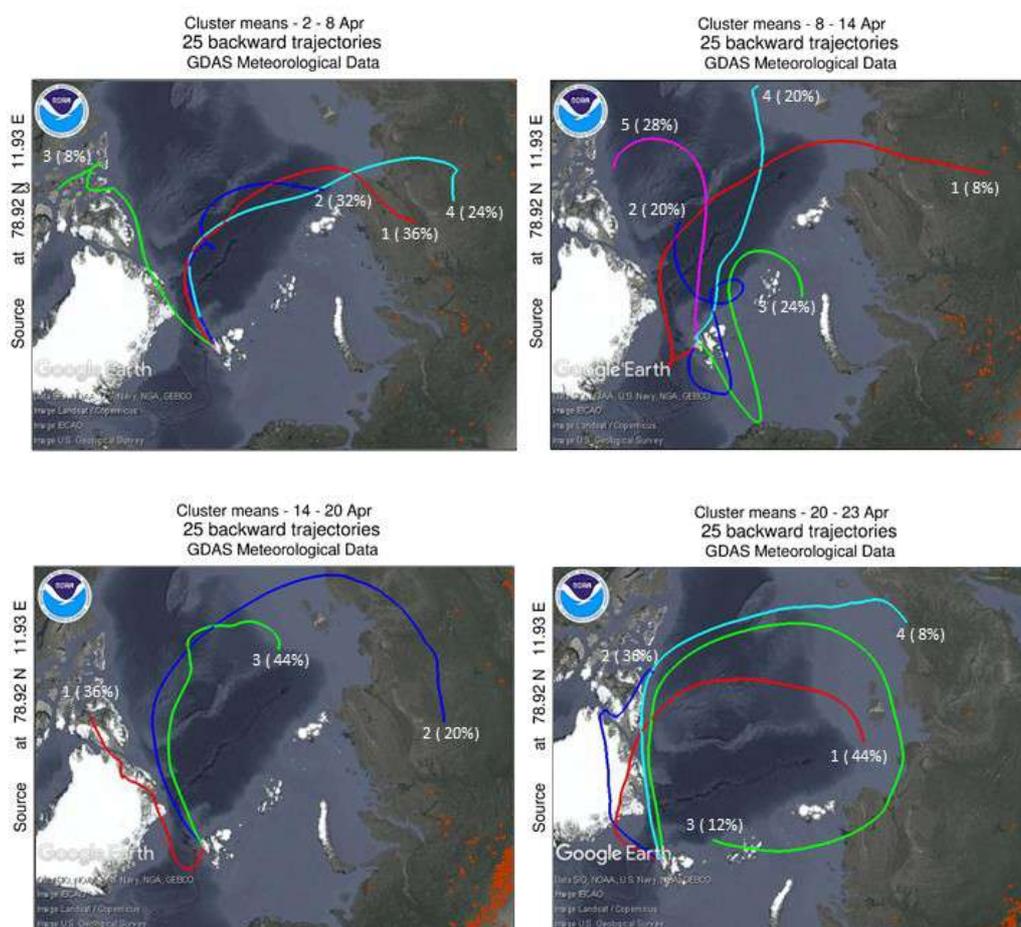


Figura 6.14 Retrotraiettorie di 168 ore e mappa dei fuochi

È possibile verificare la presenza di fuochi nel continente grazie ai dati offerti dalla NASA con il sistema FIRMS (*Fire Information for Resource Management System*), che permette di creare una mappa degli eventi di combustione avvenuti in un determinato intervallo di tempo. Il mese di aprile è interessato

da fuochi in tutto il nord della Russia, così come la prima settimana di maggio. È infatti nei primi otto campionamenti, dal 2 aprile al 12 maggio, che si registrano le concentrazioni maggiori di levoglucosan.

Galactosan e mannosan sono i due isomeri del levoglucosan: il primo deriva dal galattosio e il secondo dal mannosio. Anche questi sono presenti principalmente nella frazione fine. Infatti, i fumi di combustione consistono in particelle che si distribuiscono nella frazione submicron (Graham et al., 2003). Come per il levoglucosan, gli zuccheri mannosan e galactosan sono assenti negli ultimi tre campionamenti (dall'11 giugno).

I saccaridi comprendono i monosaccaridi glucosio, fruttosio, arabinosio, galattosio e mannosio e il disaccaride saccarosio. Il glucosio è il più abbondante ed è presente principalmente nella frazione grossolana. I monosaccaridi costituiscono una componente essenziale del materiale vegetale e si ritrovano anche nei pollini, nei frutti e in generali nei frammenti di piante (Fu et al., 2013), andando ad arricchire la frazione grossolana dell'aerosol. Perciò il glucosio rilevato potrebbe essere di origine vegetale. Anche il fruttosio è presente nella frazione grossolana, ma a concentrazioni inferiori e in un numero di campioni più basso. Entrambi mostrano concentrazioni maggiori in corrispondenza del 24 maggio: il fruttosio ha una concentrazione pari a 0.59 ng m^{-3} , il glucosio pari a 0.25 ng m^{-3} . Questo picco va ad arricchire la frazione fine per entrambi gli zuccheri. Aumenti di glucosio sono stati trovati in campioni colpiti da combustione di biomassa nel Maine, USA (Medeiros et al., 2006), ma in questo campionamento non vi è un aumento di levoglucosan ed è quindi non probabile la combustione come sorgente. Osservando le retrotraiettorie e le rose dei venti (Figura 6.15), questi soffiano da sud-ovest, quindi dal mare di Groenlandia.

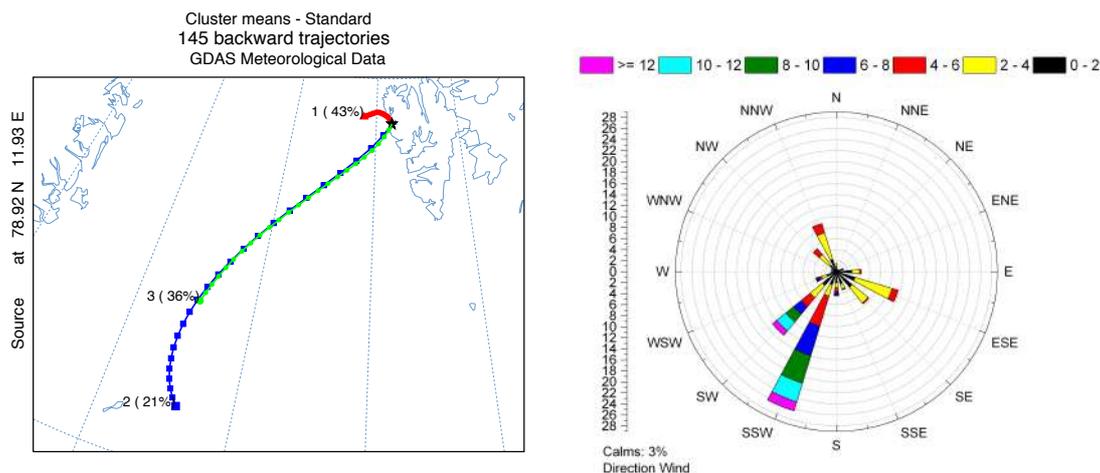


Figura 6.15 Retrotraiettorie di 24 ore e rosa dei venti del 24-30 maggio

Una spiegazione della presenza abbondante di glucosio e fruttosio nella frazione fine, rispetto agli altri campionamenti, potrebbe essere che essi derivano dalla decomposizione biologica operata da microrganismi marini oppure dal WSOC dell'aerosol marino, che si distribuisce principalmente nella frazione fine (Barbaro et al., 2015a).

L'arabinosio è distribuito principalmente nella frazione fine, a differenza degli altri monosaccaridi che sono presenti nella frazione grossolana. L'arabinosio è presente nei tessuti vegetali non legnosi, come foglie e aghi, rispetto al glucosio che invece è predominante nell'emicellulosa di piante vascolari. L'arabinosio è stato ritrovato a concentrazioni significative in campioni di aerosol colpiti da combustione di biomassa. È stata ipotizzata come sua possibile sorgente quindi anche la combustione (Medeiros et al., 2006). Nel presente studio, questo zucchero mostra una maggiore concentrazione nella prima metà di campionamento, per poi scomparire negli ultimi tre campioni.

Il saccarosio si ritrova nel floema delle piante (Medeiros et al., 2006). Le più elevate concentrazioni di saccarosio sono generalmente rilevate in primavera, mentre diminuiscono con l'avanzare del periodo estivo (Theodosi et al., 2018). Esso è principalmente legato alla crescita vegetale, allo sviluppo delle foglie e dei fiori. Insieme a glucosio e fruttosio, è uno dei prodotti della conversione dell'amido accumulato nel polline: quando le antere dei fiori si aprono, il polline viene convertito parzialmente o totalmente in questi tre zuccheri (Pacini et al., 2006). I grani di polline maturo vengono poi dispersi nell'aria insieme

agli zuccheri, andando ad arricchire la frazione grossolana dell'aerosol atmosferico. La rottura dei grani di polline contribuisce anche alla generazione di particelle fini (Graham et al., 2003). Oltre a ciò, Simoneit et al. (2004) ipotizza come fonte di saccarosio anche il suolo ed il biota associato, poiché sono state trovate concentrazioni significative di questo disaccaride e di altri zuccheri primari (come glucosio) in diversi tipi di terreno, dopo il periodo invernale quando il biota non è più dormiente.

6.4 Analisi statistica degli analiti in esame

Come supporto all'interpretazione dei dati acquisiti è stata eseguita un'analisi statistica multivariata, in modo tale da poter esplorare la struttura di dati e ricercare eventuali possibili relazioni tra i composti studiati. In particolare, si è applicata la *cluster analysis* sui dati di amminoacidi e di zuccheri precedentemente autoscalati.

6.4.1 Cenni teorici della *cluster analysis*

L'analisi dei *cluster* è un metodo di *pattern recognition*⁹ della chemiometria che viene utilizzato per ricercare l'esistenza di gruppi all'interno di una struttura multivariata di dati. Questo metodo si basa su un criterio di analogia inteso come metrica, cioè come misurazione della distanza tra due punti. Questo criterio di analogia permette di definire la somiglianza tra due oggetti: minore è la distanza, maggiore è la similarità tra gli oggetti. Attraverso un algoritmo di *clustering*, gli oggetti più vicini tra loro, e quindi più simili, vengono raggruppati in modo tale da formare dei *cluster*. I risultati sono espressi

⁹ L'obiettivo di *pattern recognition* è riconoscere ed esplorare la struttura di un sistema complesso di dati attraverso l'estrazione delle informazioni utili presenti all'interno di una matrice di dati

attraverso un grafico chiamato dendrogramma, grazie al quale è possibile interpretare la successione gerarchica dei gruppi sulla base delle conoscenze scientifiche acquisite.

6.4.2 Risultati della *cluster analysis*

Per ricercare l'esistenza di gruppi, l'analisi dei cluster è stata eseguita sulla matrice di dati di amminoacidi, zuccheri ed acido metansolfonico, precedentemente standardizzata (mediante *autoscaling*¹⁰).

Per eseguire l'analisi è stato utilizzato il software Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2007). Il criterio di analogia scelto è la metrica euclidea e come algoritmo di *clustering* è stato utilizzato il metodo di Ward.

In Figura 6.16 è riportato il dendrogramma ottenuto.

¹⁰ L'*autoscaling* consente la trasformazione dei dati attraverso la loro centratura e normalizzazione a varianza unitaria.

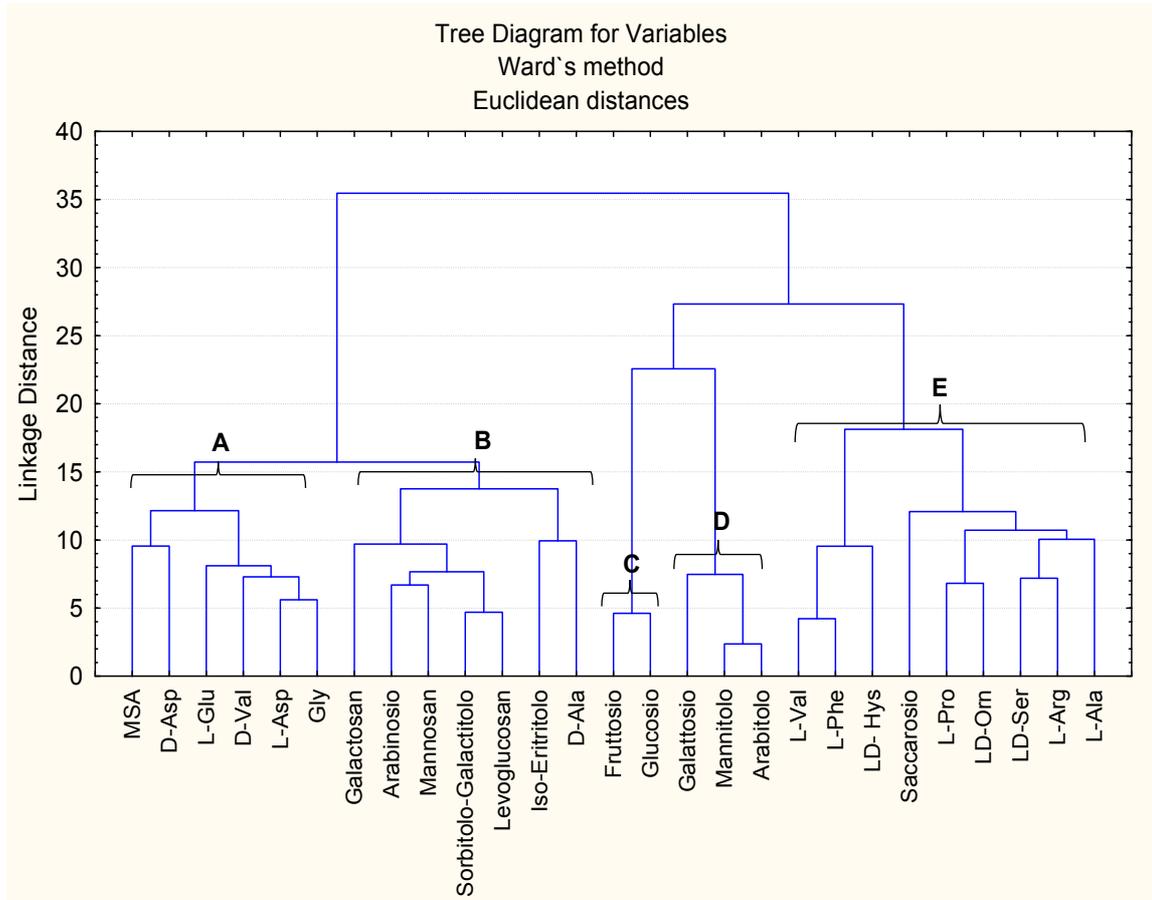


Figura 6.16 Dendrogramma della *cluster analysis* sulla matrice di dati autoscalata

Il grafico ad albero ottenuto rappresenta l'esistenza di cinque gruppi.

Il primo *cluster* (*cluster A*) mostra la presenza di acido metansolfonico, indicatore di produzione biologica primaria marina, e degli amminoacidi glicina, acido L-aspartico, acido D-aspartico, acido L-glutammico e D-valina. Essi presentano un andamento temporale simile, così come la distribuzione dimensionale, che mostra un arricchimento della frazione fine dell'aerosol. La similarità di questi analiti con MSA potrebbe indicare quindi che la sorgente principale sia la produzione biologica primaria marina associata ad attività batterica: gli L-amminoacidi liberi prodotti da fitoplancton verrebbero metabolizzati dalle comunità batteriche e convertiti nella forma D (Dittmar et al., 2001).

Il secondo gruppo (*cluster B*) è costituito dagli anidro-zuccheri e da arabinosio, sorbitolo-galactitolo, iso-eritritolo e D-alanina. La ridotta distanza euclidea tra levoglucosan, indicatore di *biomass burning*, e sorbitolo-galactitolo

confermerebbe l'ipotesi di origine da combustione dell'alcol-zucchero precedentemente ipotizzata. Anche gli altri analiti presenti nel *cluster B* potrebbero derivare dalla stessa sorgente. Sono, infatti, anch'essi distribuiti principalmente nella frazione fine dell'aerosol e presentano concentrazioni maggiori in aprile, mese caratterizzato da masse d'aria provenienti dal nord della Russia dove sono stati registrati eventi di combustione. La relativa piccola distanza euclidea tra *cluster A* e *B* potrebbe comunque indicare che la combustione di biomassa *long-range* contribuisca in parte anche alla liberazione in atmosfera di altri D-amminoacidi (D-Asp e D-Val) e glicina, considerando la simile distribuzione dimensionale e un andamento temporale comparabile. Studi più approfonditi potrebbero permettere di comprendere se vi è una duplice origine (produzione primaria marina e combustione) di glicina e di D-amminoacidi del *cluster A*.

Per quanto riguarda il gruppo *C*, esso è costituito da glucosio e fruttosio, la cui distanza euclidea è molto bassa, indicando quindi una forte similarità. Entrambi sono distribuiti prevalentemente nella frazione grossolana e la loro forte somiglianza indica una sorgente comune, probabilmente un'origine biogenica di tipo vegetale.

Il gruppo *D* presenta arabitolo e mannitolo, che si raggruppano ad una distanza molto bassa, andando a confermare la provenienza dalla stessa fonte, e da galattosio, che si raggruppa ad una distanza maggiore. I due alcol-zuccheri derivano principalmente da spore fungine, ma sono state ipotizzate anche sorgenti biogeniche primarie come le alghe e la vegetazione terrestre. La maggiore presenza di questi composti all'inizio del periodo di campionamento, quando il suolo è ancora ricoperto da neve e ghiaccio, fa supporre un'origine più marina che terrestre, ma un apporto da parte di spore fungine e dalla vegetazione locale non è da escludere.

L'ultimo gruppo (*cluster E*) è caratterizzato da L-amminoacidi e da saccarosio. L'identificazione di una sorgente comune è più complessa in questo caso, poiché non vi è una similarità con levoglucosan o MSA. Gli L-amminoacidi sono prodotti da piante e anche da alghe attraverso cammini biosintetici simili (Bromke, 2013) ed essendo presenti principalmente nella frazione grossolana la loro sorgente è presumibilmente di tipo locale. Il saccarosio, che si unisce ad una distanza maggiore con L-prolina, LD-ornitina, LD-serina, L-arginina ed L-

alanina, è principalmente legato alla crescita vegetale, specialmente allo sviluppo dei fiori e ai grani di polline. Si potrebbe, quindi, ipotizzare un'origine biogenica sia terrestre che marina per gli analiti dei *cluster E*, ma sono necessari più studi approfonditi per verificare questa ipotesi.

Conclusioni

Nel presente lavoro di Tesi sono stati studiati gli andamenti dimensionali, temporali e le possibili sorgenti di amminoacidi e di zuccheri nell'aerosol atmosferico artico.

Sono stati analizzati sedici campioni, raccolti tra aprile e giugno 2014, provenienti dal laboratorio di Gruvebadet (Isole Svalbard) per comprendere a che tipo di trasporti *short* e *long-range* è soggetto l'ambiente artico. La cromatografia liquida ad alte prestazioni accoppiata a spettrometria di massa è stata utilizzata per l'analisi degli amminoacidi, mentre gli zuccheri sono stati determinati e quantificati tramite la tecnica ipenata cromatografia ionica ad alte prestazioni e spettrometria di massa. Lo studio della distribuzione dimensionale, delle retro-traiettorie e delle rose dei venti, unito all'analisi dei *cluster*, ha aiutato nella distinzione delle diverse sorgenti.

Gli amminoacidi sono stati rilevati ad una concentrazione media di 0.7 ± 0.5 ng m⁻³. Gli amminoacidi più abbondanti sono glicina, acido D-aspartico e D-alanina, distribuiti prevalentemente nella frazione fine. Tra le sorgenti ipotizzate per questi composti, la produzione biologica primaria marina è la principale: infatti gli analiti più abbondanti (glicina ed acido D-aspartico) e alcuni L-amminoacidi (acido L-glutammico ed acido L-aspartico) sono raggruppati nel *cluster* che include acido metansolfonico, utilizzato come tracciante di *bloom* algali. Una seconda sorgente è la combustione di biomassa, specialmente nel mese di aprile, quando le concentrazioni di levoglucosan sono maggiori. Infatti, la *cluster analysis* mostra la similarità di D-alanina con gli anidro-zuccheri. Il *biomass burning* potrebbe contribuire a rilasciare non solo D-alanina ma anche altri amminoacidi ritrovati nella frazione fine. Gli altri L-amminoacidi analizzati sono più difficili da associare ad una sorgente precisa. Sono distribuiti principalmente nella frazione grossolana e questo indica una provenienza locale. La loro origine è probabilmente di tipo biogenico, e potrebbe essere legata sia alla crescita vegetale che alla crescita algale. Studi più approfonditi sono necessari per avere una comprensione più completa.

La concentrazione media di zuccheri è pari a 0.6 ± 0.5 ng m⁻³. Gli alcol-zuccheri

si distribuiscono maggiormente nella frazione fine, così come gli anidro-zuccheri, mentre i saccaridi presentano una distribuzione variabile tra frazione grossolana e fine. Grazie alla *cluster analysis* è stato possibile individuare diverse origini degli zuccheri. Sorbitolo-galactitolo, iso-eritritolo e arabinosio mostrano una similarità con gli anidro-zuccheri: sono infatti distribuiti prevalentemente nella frazione fine e presentano anche un andamento temporale paragonabile. Il *biomass burning* è, quindi, la sorgente più accreditata per questi analiti. Inoltre, lo studio delle retrotraiettorie a lungo raggio evidenzia una provenienza delle masse d'aria dal nord della Russia nel periodo in questione. Nel presente studio, mannitolo ed arabitolo sono stati rilevati in concentrazioni maggiori all'inizio del campionamento, quando il suolo è ancora ricoperto da neve e ghiaccio e questo potrebbe indicare un'origine di tipo marino piuttosto che terrestre. La vegetazione locale e le comunità crittogamiche potrebbero contribuire all'arricchimento dell'aerosol di questi analiti verso la fine del periodo di campionamento e specialmente durante l'estate. Il galattosio presenta una ridotta distanza euclidea con mannitolo e arabitolo e potrebbe perciò derivare da sorgenti simili a quelle appena elencate. Glucosio e fruttosio sono stati rilevati in maggior misura nella frazione grossolana e, come per gli altri monosaccaridi, la sorgente più probabile è di tipo biogenico. Infine, il saccarosio è stato rilevato prevalentemente nei mesi di aprile e maggio, con concentrazioni inferiori negli ultimi tre campionamenti di giugno. Diversi studi confermano le concentrazioni superiori di saccarosio in primavera piuttosto che in estate, poiché si tratta di uno zucchero legato alla crescita vegetale, in particolare ai grani di polline. La sorgente più probabile è quindi di tipo biogenico terrestre.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare:

Matteo, per avermi insegnato e aiutato in questo lungo percorso. Grazie per avermi dato consigli preziosi che porterò sempre con me;

il Prof. Andrea Gambaro per avermi dato la possibilità di svolgere questo progetto che mi ha appassionata;

i ricercatori e tesisti dell'edificio Delta, con i quali ho trascorso uno dei più importanti momenti della mia vita che porterò sempre nel cuore. Grazie per l'aiuto e tutti i consigli che mi avete offerto. In particolare, Beatrice e Veronica per aver condiviso con me l'esperienza di tirocinio e il supporto reciproco che ci siamo scambiate;

tutti i miei coinquilini, che hanno reso indimenticabili gli anni di permanenza a Venezia. Specialmente Laura, Eva e Vanessa con le quali ho vissuto i momenti migliori e gli attuali coinquilini e, cosa più importante, amici Mattia, Elena e Marilisa che mi hanno supportato e sopportato;

Giulia, la mia primissima amica veneziana. Grazie per avermi fatto sentire sempre a casa;

gli amici di Verona, gli amici di tutta la vita, che mi sono stati vicini nonostante la lontananza e il poco tempo trascorso insieme. So che ci sarete sempre e comunque;

gli amici di università che hanno condiviso con me esami e momenti d'ansia infiniti ma anche tante risate e felicità;

il gruppo Enopiave e i colleghi di lavoro, per l'opportunità offerta;

infine, la mia famiglia, la componente più importante, che mi è stata vicina e ha creduto in me sempre, dandomi la forza di affrontare i momenti più difficili.

Appendice A

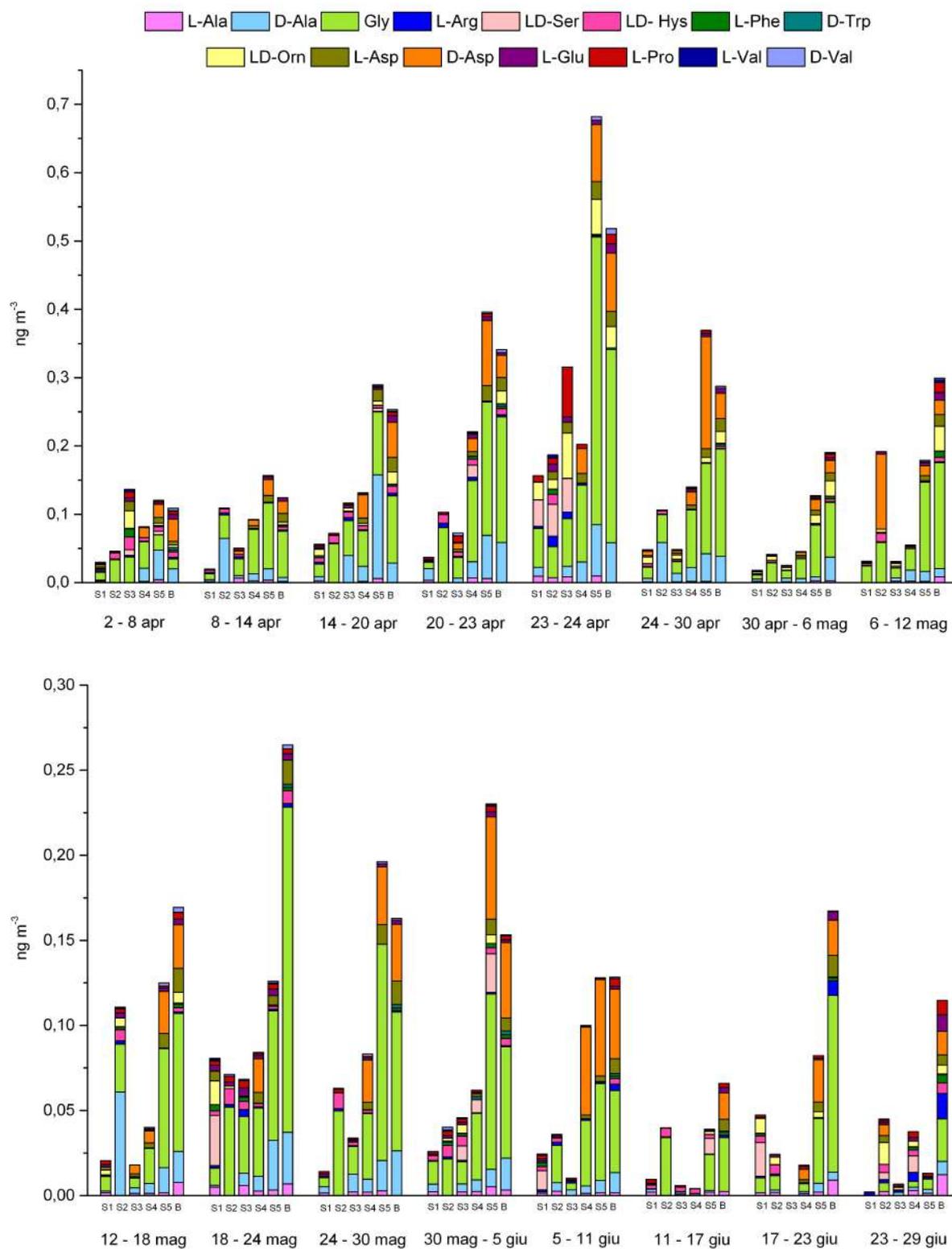


Figura A.1 Distribuzione dimensionale degli amminoacidi per ogni periodo di campionamento

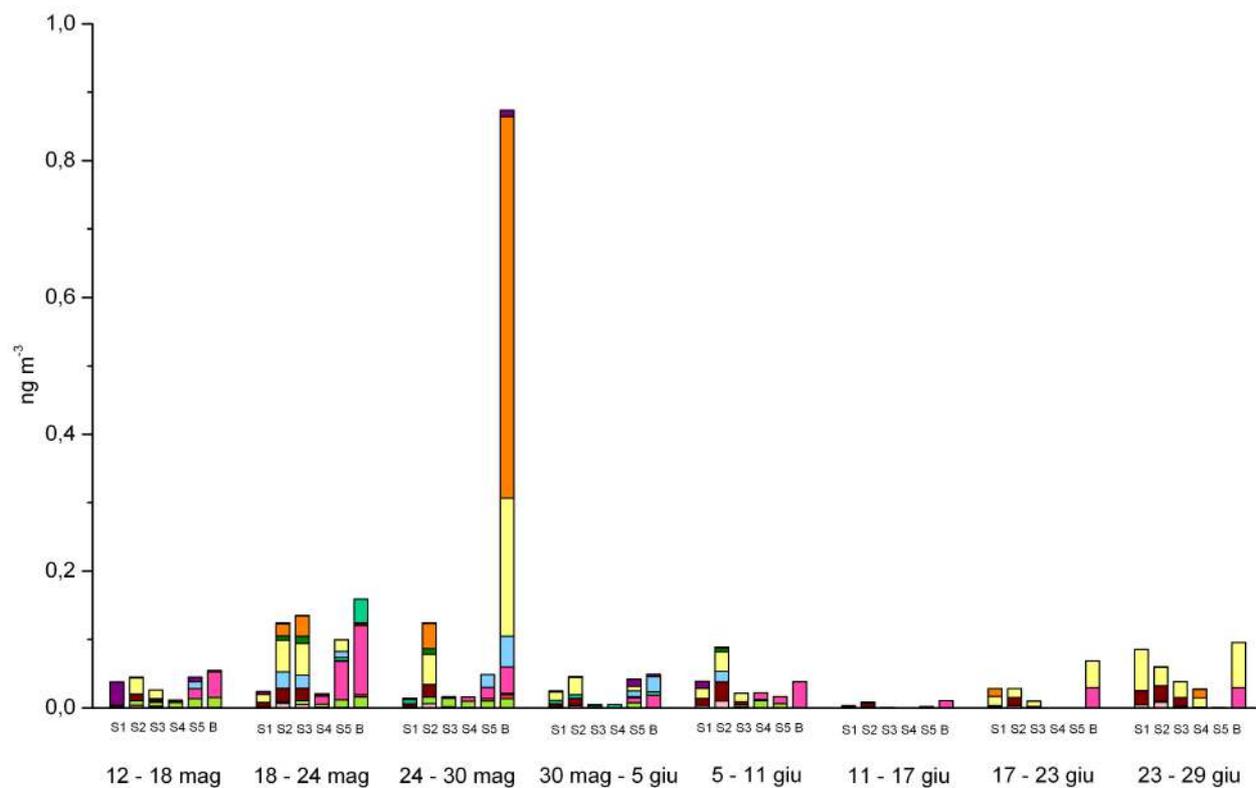
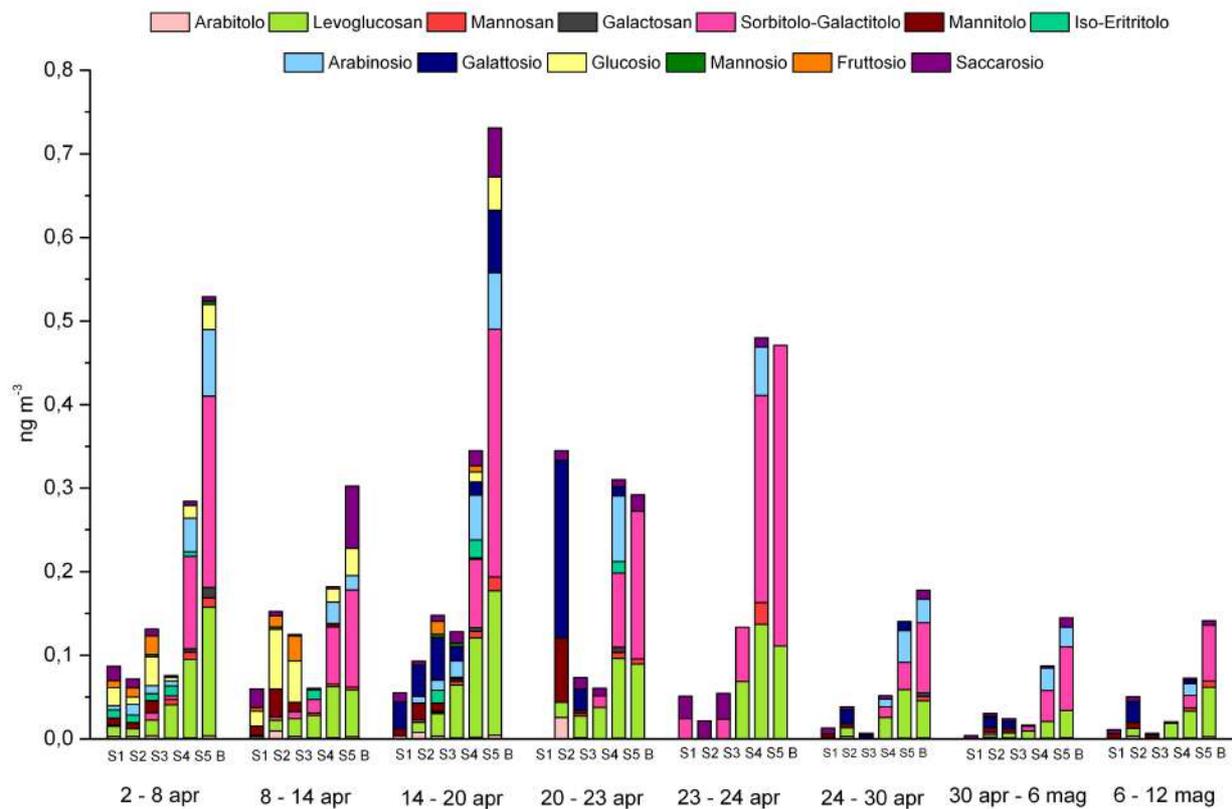


Figura A.2 Distribuzione dimensionale degli zuccheri per ogni periodo di campionamento

Bibliografia

- Argentini, S., Viola, A.P., Mastrantonio, G., Maurizi, A., Georgiadis, T., Nardino, M., 2003. Characteristics of the boundary layer at Ny-Alesund in the Arctic during the ARTIST field experiment. *Ann. Geophys.* 46, 185–196.
- Barbaro, E., Feltracco, M., Cesari, D., Padoan, S., Zangrando, R., Contini, D., Barbante, C., Gambaro, A., 2019. Characterization of the water soluble fraction in ultrafine, fine, and coarse atmospheric aerosol. *Sci. Total Environ.* 658, 1423–1439. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.298>
- Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Barbante, C., Gambaro, A., 2015a. Sugars in Antarctic aerosol. *Atmos. Environ.* 118, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.07.047>
- Barbaro, E., Padoan, S., Kirchgeorg, T., Zangrando, R., Toscano, G., Barbante, C., Gambaro, A., 2017. Particle size distribution of inorganic and organic ions in coastal and inland Antarctic aerosol. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 2724–2733. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8042-x>
- Barbaro, E., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Cairns, W.R.L., Capodaglio, G., Barbante, C., Gambaro, A., 2015b. Free amino acids in Antarctic aerosol: Potential markers for the evolution and fate of marine aerosol. *Atmos. Chem. Phys.* 15, 5457–5469. <https://doi.org/10.5194/acp-15-5457-2015>
- Barbaro, E., Zangrando, R., Vecchiato, M., Turetta, C., Barbante, C., Gambaro, A., 2014. D- and L-amino acids in Antarctic lakes: Assessment of a very sensitive HPLC-MS method. *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 5259–5270. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7961-y>
- Bartsch, I., Paar, M., Fredriksen, S., Schwanitz, M., Daniel, C., Hop, H., Wiencke, C., 2016. Changes in kelp forest biomass and depth distribution in Kongsfjorden, Svalbard, between 1996–1998 and 2012–2014 reflect Arctic warming. *Polar Biol.* 39. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1870-1>
- Bauer, H., Claeys, M., Vermeylen, R., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., Puxbaum, H., 2008. Arabitol and mannitol as tracers for the quantification of airborne fungal spores. *Atmos. Environ.* 42, 588–593. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2007.10.013>

- Becagli, S., Lazzara, L., Marchese, C., Dayan, U., Ascanius, S.E., Cacciani, M., Caiazza, L., Di Biagio, C., Di Iorio, T., di Sarra, A., Eriksen, P., Fani, F., Giardi, F., Meloni, D., Muscari, G., Pace, G., Severi, M., Traversi, R., Udisti, R., 2016. Relationships linking primary production, sea ice melting, and biogenic aerosol in the Arctic. *Atmos. Environ.* 136, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.04.002>
- Botnen, S., Vik, U., Carlsen, T., Eidesen, P.B., Davey, M.L., Kauserud, H., 2014. Low host specificity of root-associated fungi at an Arctic site. *Mol. Ecol.* 23, 975–985. <https://doi.org/10.1111/mec.12646>
- Bourgeois, J.C., Gajewski, K., Koerner, R.M., 2001. Spatial patterns of pollen deposition in arctic snow, *Journal of Geophysical Research.* <https://doi.org/10.1029/2000JD900708>
- Bromke, M.A., 2013. Amino acid biosynthesis pathways in diatoms. *Metabolites* 3, 294–311. <https://doi.org/10.3390/metabo3020294>
- Brown, L.M., Hellebust, J.A., 1977. Sorbitol and proline as intracellular osmotic solutes in the green alga *Stichococcus bacillaris*. *Can. J. Bot.* 56, 676–679. <https://doi.org/10.1139/b78-074>
- Brown, W., Poon, T., 2014. *Introduzione alla chimica organica.*
- Buck, R.H., Krummen, K., 1987. High-performance liquid chromatographic determination of enantiomeric amino acids and amino alcohols after derivatization with o-phthaldialdehyde and various chiral mercaptans: Application to peptide hydrolysates. *J. Chromatogr. A* 387, 255–265. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94529-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94529-7)
- Calvo, A.I., Alves, C., Castro, A., Pont, V., Vicente, A.M., Fraile, R., 2013. Research on aerosol sources and chemical composition: Past, current and emerging issues. *Atmos. Res.* 120–121, 1–28. <https://doi.org/10.1016/J.ATMOSRES.2012.09.021>
- Castric, P.A., 1977. Glycine metabolism by *Pseudomonas aeruginosa*: hydrogen cyanide biosynthesis. *J. Bacteriol.* 130, 826–31.
- Catak, S., Monard, G.G., Aviyente, V., Ruiz-López, M.F., Ruiz-López, M.F., 2009. Deamidation of asparagine residues: direct hydrolysis versus succinimide-mediated deamidation mechanisms. *J. Phys. Chem. A* 113, 1111–1120. <https://doi.org/10.1021/jp808597v>
- Choi, Y., Rhee, T.S., Collett, J.L., Park, T., Park, S.-M., Seo, B.-K., Park, G., Park, K., Lee, T., 2017. Aerosol concentrations and composition in the North Pacific marine boundary layer. *Atmos. Environ.* 171, 165–172.

- <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.09.047>
- Cottier, F., Tverberg, V., Inall, M., Svendsen, H., Nilsen, F., Griffiths, C., 2005. Water mass modification in an Arctic fjord through cross-shelf exchange: The seasonal hydrography of Kongsfjorden, Svalbard. *J. Geophys. Res. Ocean.* 110, 1–18. <https://doi.org/10.1029/2004JC002757>
- Cox, M.M., Lehninger, A.L., Nelson, D.L., 2006. *I principi di biochimica di Lehninger*.
- Crippa, M., Haddad, I. El, Slowik, J.G., Decarlo, P.F., Mohr, C., Heringa, M.F., Chirico, R., Marchand, N., Sciare, J., Baltensperger, U., Prévôt, A.S.H., 2013. Identification of marine and continental aerosol sources in Paris using high resolution aerosol mass spectrometry. *J. Geophys. Res. Atmos* 118, 1950–1963. <https://doi.org/10.1002/jgrd.50151>
- Davidson, C.I., Wu, Y.-L., 1990. Dry deposition of particles and vapors, in: Lindberg, S.E., Page, A.L., Norton, S.A. (Eds.), *Acidic Precipitation: Sources, Deposition, and Canopy Interactions*. Springer New York, New York, NY, pp. 103–216. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4454-7_5
- Di Filippo, P., Pomata, D., Riccardi, C., Buiarelli, F., Gallo, V., Quaranta, A., 2014. Free and combined amino acids in size-segregated atmospheric aerosol samples. *Atmos. Environ.* 98, 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.08.069>
- Dittmar, T., Fitznar, H.P., Kattner, G., 2001. Origin and biogeochemical cycling of organic nitrogen in the eastern Arctic Ocean as evident from D- and L-amino acids. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 4103–4114. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00688-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00688-3)
- Elbert, W., Taylor, P.E., Andreae, M.O., Pöschl, U., 2007. Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions, *Atmos. Chem. Phys.*
- Feltracco, M., Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Spolaor, A., Turetta, C., Zangrando, R., Barbante, C., Gambaro, A., 2019. Free and combined L- and D-amino acids in Arctic aerosol. *Chemosphere* 220, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.147>
- Flanner, M.G., Zender, C.S., Hess, P.G., Mahowald, N.M., Painter, T.H., Ramanathan, V., Rasch, P.J., 2009. Springtime warming and reduced snow cover from carbonaceous particles, *Atmos. Chem. Phys.*
- Flanner, M.G., Zender, C.S., Randerson, J.T., Rasch, P.J., 2007. Present-day climate forcing and response from black carbon in snow. *J. Geophys. Res.*

- 112, D11202. <https://doi.org/10.1029/2006JD008003>
- Fu, P Q, Kawamura, K., Chen, J., Charri Ere, B., Sempéré, R., 2013. Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: contributions of primary emission and secondary aerosol formation. *Biogeosciences* 10, 653–667. <https://doi.org/10.5194/bg-10-653-2013>
- Fu, P. Q., Kawamura, K., Chen, J., Charrière, B., Sempéré, R., 2013. Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: Contributions of primary emission and secondary aerosol formation. *Biogeosciences* 10, 653–667. <https://doi.org/10.5194/bg-10-653-2013>
- Giardi, F., Becagli, S., Traversi, R., Frosini, D., Severi, M., Caiazza, L., Ancillotti, C., Cappelletti, D., Moroni, B., Grotti, M., Bazzano, A., Lupi, A., Mazzola, M., Vitale, V., Abollino, O., Ferrero, L., Bolzacchini, E., Viola, A., Udisti, R., 2016. Size distribution and ion composition of aerosol collected at Ny-Ålesund in the spring–summer field campaign 2013. *Rend. Lincei* 27, 47–58. <https://doi.org/10.1007/s12210-016-0529-3>
- Gilli, G., Traversi, D., Rovere, R., Pignata, C., Schilirò, T., 2007. Chemical characteristics and mutagenic activity of PM10 in Torino, a Northern Italian City. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.006>
- Graham, B., Falkovich, A.H., Rudich, Y., Maenhaut, W., Guyon, P., Andreae, M.O., 2004. Local and regional contributions to the atmospheric aerosol over Tel Aviv, Israel: a case study using elemental, ionic and organic tracers. *Atmos. Environ.* 38, 1593–1604. <https://doi.org/10.1016/J.ATMOSENV.2003.12.015>
- Graham, B., Guyon, P., Taylor, P.E., Artaxo, P., Maenhaut, W., Glovsky, M.M., Flagan, R.C., Andreae, M.O., 2003. Organic compounds present in the natural Amazonian aerosol: Characterization by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Geophys. Res. Atmos.* 108, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2003JD003990>
- Hop, H., Falk-Petersen, S., Svendsen, H., Kwasniewski, S., Pavlova, O., Pavlov, V., Søreide, J.E., 2006. Physical and biological characteristics of the pelagic system across Fram Strait to Kongsfjorden. *Prog. Oceanogr.* 71, 182–231. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2006.09.007>
- Hop, Pearson, T., Hegseth, E.N., Kovacs, K.M., Wiencke, C., Eiane, K., Mehlum, F., Gulliksen, B., Wlodarska-kowalczyk, M., Lydersen, C., Weslawski,

- J.M., Gabrielsen, G., Leakey, R.J.G., Lanne, O.J., Zajaczkowski, M., Falk-petersen, S., Kendall, M., Bisihof, K., Kovaltchouk, N. a, Wiktor, J., Prisco, G., Papucci, C., Gerland, S., 2002. The marine ecosystem of Kongsfjorden, Svalbard. *Polar Res.* 21, 167–208. <https://doi.org/10.1111/j.1751-8369.2002.tb00073.x>
- Hubberten, U., Lara, R.J., Kattner, G., 1994. Amino acid composition of seawater and dissolved humic substances in the Greenland Sea, *Marine Chemistry*.
- Jacobson, M.C., Hansson, H.-C., Noone, K.J., Charlson, R.J., 2000. Organic atmospheric aerosols: Review and state of the science. *Rev. Geophys.* 38, 267–294. <https://doi.org/10.1029/1998RG000045>
- Jaenicke, R., 1981. Atmospheric aerosols and global climate, in: *Climatic Variations and Variability: Facts and Theories*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 577–597. https://doi.org/10.1007/978-94-009-8514-8_33
- Kim, K.-H., Kabir, E., Kabir, S., 2015. A review on the human health impact of airborne particulate matter. *Environ. Int.* 74, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.005>
- Kimber, R.W.L., Nannipieri, P., Ceccanti, B., 1990. The degree of racemization of amino acids released by hydrolysis of humic-protein complexes: Implications for age assessment. *Soil Biol. Biochem.* 22, 181–185. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90084-D](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90084-D)
- Kroll, J.H., Seinfeld, J.H., 2008. Chemistry of secondary organic aerosol: Formation and evolution of low-volatility organics in the atmosphere. *Atmos. Environ.* 42, 3593–3624. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.01.003>
- Kuznetsova, M., Lee, C., Aller, J., 2005. Characterization of the proteinaceous matter in marine aerosols. *Mar. Chem.* 96, 359–377. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2005.03.007>
- Kyte, J., Doolittle, R.F., 1982. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 157, 105–132. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0)
- Lavanchy, V.M.H., Gäggeler, H.W., Nyeki, S., Baltensperger, U., 1999. Elemental carbon (EC) and black carbon (BC) measurements with a thermal method and an aethalometer at the high-alpine research station Jungfraujoch. *Atmos. Environ.* 33, 2759–2769. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(98\)00328-8](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(98)00328-8)

- Leck, C., Bigg, E.K., 2005. Source and evolution of the marine aerosol - A new perspective. *Geophys. Res. Lett.* 32, 1–4. <https://doi.org/10.1029/2005GL023651>
- Lee, C., Bada, J.L., 1977. Dissolved amino acids in the equatorial Pacific, the Sargasso Sea, and Biscayne Bay. *Limnol. Oceanogr.* 22, 502–510. <https://doi.org/10.4319/lo.1977.22.3.0502>
- Legrand, M., Pasteur, E.C., 1998. Methane sulfonic acid to non-sea-salt sulfate ratio in coastal Antarctic aerosol and surface snow, *Journal of Geophysical Research*. <https://doi.org/10.1029/98JD00929>
- Loos, H., Krämer, R., Sahm, H., Sprenger, G.A., 1994. Sorbitol promotes growth of *Zymomonas mobilis* in environments with high concentrations of sugar: evidence for a physiological function of glucose-fructose oxidoreductase in osmoprotection. *J. Bacteriol.* 176, 7688–93. <https://doi.org/10.1128/JB.176.24.7688-7693.1994>
- Mace, K.A., Artaxo, P., Duce, R.A., 2003. Water-soluble organic nitrogen in Amazon Basin aerosols during the dry (biomass burning) and wet seasons. *J. Geophys. Res.* 108, 4512. <https://doi.org/10.1029/2003JD003557>
- Mahowald, N., 2011. Aerosol indirect effect on biogeochemical cycles and climate. *Science* (80-). 334, 794–796. <https://doi.org/10.1126/science.1207374>
- Mahowald, N., Ward, D.S., Kloster, S., Flanner, M.G., Heald, C.L., Heavens, N.G., Hess, P.G., Lamarque, J.-F., Chuang, P.Y., 2011. Aerosol impacts on climate and biogeochemistry. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 36, 45–74. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-042009-094507>
- Marconi, A., 2003. Materiale particellare aerodisperso: definizioni, effetti sanitari, misura e sintesi delle indagini ambientali effettuate a Roma. Roma.
- Matos, J.T. V, Duarte, R.M.B.O., Duarte, A.C., 2016. Challenges in the identification and characterization of free amino acids and proteinaceous compounds in atmospheric aerosols: A critical review. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 75, 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.004>
- Matrai, P.A., Tranvik, L., Leck, C., Knulst, J.C., 2008. Are high Arctic surface microlayers a potential source of aerosol organic precursors? *Mar. Chem.* 108, 109–122. <https://doi.org/10.1016/J.MARCHEM.2007.11.001>
- McGregor, K.G., Anastasio, C., 2001. Chemistry of fog waters in California's Central Valley: 2. Photochemical transformations of amino acids and alkyl

- amines, *Atmospheric Environment*.
- McKane, R.B., Johnson, L.C., Shaver, G.R., Nadelhoffer, K.J., Rastetter, E.B., Fry, B., Giblin, A.E., Kielland, K., Kwiatkowski, B.L., Laundre, J.A., Murray, G., 2002. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. *Nature* 415, 68–71. <https://doi.org/10.1038/415068a>
- Medeiros, Patricia M., Conte, M.H., Weber, J.C., Simoneit, B.R.T., 2006. Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine. *Atmos. Environ.* 40, 1694–1705. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.11.001>
- Medeiros, Patricia M, Conte, M.H., Weber, J.C., Simoneit, B.R.T., Medeiros, P M, 2006. Sugars as source indicators of biogenic organic carbon in aerosols collected above the Howland Experimental Forest, Maine. *Atmos. Environ.* 40, 1694–1705. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.11.001>
- Milne, P.J., Zika, R.G., 1993. Amino acid nitrogen in atmospheric aerosols: occurrence, sources and photochemical modification. *J. Atmos. Chem.* 16, 361–398. <https://doi.org/10.1007/BF01032631>
- Mukhin, L., Bondarev, V.B., Safonova, E., 1978. The role of volcanic processes in the evolution of organic compounds on the primitive Earth. *Mod. Geol.* 119–122.
- Pacini, E., Guarnieri, M., Nepi, M., 2006. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. *Protoplasma* 228, 73–77. <https://doi.org/10.1007/s00709-006-0169-z>
- Pant, P., Harrison, R.M., 2013. Estimation of the contribution of road traffic emissions to particulate matter concentrations from field measurements: A review. *Atmos. Environ.* 77, 78–97. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.04.028>
- Park, K.T., Lee, K., Kim, T.W., Yoon, Y.J., Jang, E.H., Jang, S., Lee, B.Y., Hermansen, O., 2018. Atmospheric DMS in the Arctic Ocean and Its Relation to Phytoplankton Biomass. *Global Biogeochem. Cycles* 32, 351–359. <https://doi.org/10.1002/2017GB005805>
- Petritis, K., Valleix, A., Elfakir, C., Dreux, M., 2001. Simultaneous analysis of underivatized chiral amino acids by liquid chromatography–ionspray tandem mass spectrometry using a teicoplanin chiral stationary phase. *J. Chromatogr. A* 913, 331–340. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)01268-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)01268-1)

- Pollock, G.E., Kvenvolden, K.A., 1978. Stereochemistry of amino acids in surface samples of a marine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42, 1903–1905. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(78\)90246-6](https://doi.org/10.1016/0016-7037(78)90246-6)
- Pommié, C., Levadoux, S., Sabatier, R., Lefranc, G., Lefranc, M.P., 2004. IMGT standardized criteria for statistical analysis of immunoglobulin V-Region amino acid properties. *J. Mol. Recognit.* 17, 17–32. <https://doi.org/10.1002/jmr.647>
- Pöschl, U., 2005. Atmospheric aerosols: Composition, transformation, climate and health effects. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 44, 7520–7540. <https://doi.org/10.1002/anie.200501122>
- Prospero, J.M., Charlson, R.J., Mohnen, V., Jaenicke, R., Delany, A.C., Moyers, J., Zoller, W., Rahn, K., 1983. The atmospheric aerosol system: An overview. *Rev. Geophys.* 21, 1607. <https://doi.org/10.1029/RG021i007p01607>
- Quinn, P.K., Shaw, G., Andrews, E., Dutton, E.G., Ruoho-Airola, T., Gong, S.L., 2007. Arctic haze: current trends and knowledge gaps. *Tellus B Chem. Phys. Meteorol.* 59, 99–114. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0889.2006.00236.x>
- Reche, C., Viana, M., Amato, F., Alastuey, A., Moreno, T., Hillamo, R., Teinilä, K., Saarnio, K., Seco, R., Peñuelas, J., Mohr, C., Prévôt, A.S.H., Querol, X., 2012. Biomass burning contributions to urban aerosols in a coastal Mediterranean City. *Sci. Total Environ.* 427–428, 175–190. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2012.04.012>
- Russel, S., 1990. Bryophyte production and decomposition in tundra ecosystems. *Bot. J. Linn. Soc.* 104, 3–22. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1990.tb02208.x>
- Saltzman, E.S., Savoie, D.L., Zika, R.G., Prospero, J.M., 1983. Methane sulfonic acid in the marine atmosphere. *J. Geophys. Res.* 88, 10897–10902. <https://doi.org/10.1029/jc088ic15p10897>
- Samy, S., Robinson, J., Rumsey, I.C., Walker, J.T., Hays, M.D., 2013. Speciation and trends of organic nitrogen in southeastern U.S. fine particulate matter (PM_{2.5}). *J. Geophys. Res. Atmos.* 118, 1996–2006. <https://doi.org/10.1029/2012JD017868>
- Saxena, P., Hildemann, L.M., 1996. Water-soluble organics in atmospheric particles: A critical review of the literature and application of thermodynamics to identify candidate compounds. *J. Atmos. Chem.* 24,

- 57–109. <https://doi.org/10.1007/BF00053823>
- Scalabrin, E., Zangrando, R., Barbaro, E., Kehrwald, N.M., Gabrieli, J., Barbante, C., Gambaro, A., 2012. Amino acids in Arctic aerosols. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 10453–10463. <https://doi.org/10.5194/acp-12-10453-2012>
- Scheller, E., 2001. Amino acids in dew - Origin and seasonal variation. *Atmos. Environ.* 35, 2179–2192. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(00\)00477-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(00)00477-5)
- Sieciechowicz, K.A., Joy, K.W., Ireland, R.J., 1988. The metabolism of asparagine in plants. *Phytochemistry* 27, 663–671. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)84071-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)84071-8)
- Simoneit, B.R.T., Elias, V.O., Kobayashi, M., Kawamura, K., Rushdi, A.I., Medeiros, P.M., Rogge, W.F., Didyk, B.M., 2004. Sugars - Dominant water-soluble organic compounds in soils and characterization as tracers in atmospheric particulate matter. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5939–5949. <https://doi.org/10.1021/es0403099>
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2009. *Fondamenti di Chimica analitica*.
- Srithawirat, T., Brimblecombe, P., 2015. Seasonal Variation of Saccharides and Furfural in Atmospheric Aerosols at a Semi-Urban Site. *Aerosol Air Qual. Res.* 15, 821–832. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2014.07.0136>
- Streeter, T.C., Bol, R., Bardgett, R.D., 2000. Amino acids as a nitrogen source in temperate upland grasslands: the use of dual labelled (^{13}C , ^{15}N) glycine to test for direct uptake by dominant grasses, *Rapid Communications in Mass Spectrometry Rapid Commun. Mass Spectrom.*
- Svendsen, H., Beszczynska-Møller, A., Hagen, J.O., Lefauconnier, B., Tverberg, V., Gerland, S., Ørbæk, J.B., Bischof, K., Papucci, C., Zajackowski, M., Azzolini, R., Bruland, O., Wiencke, C., Winther, J.-G., Dallmann, W., 2002. The physical environment of Kongsfjorden – Krossfjorden, an Arctic fjord system in Svalbard. *Polar Res.* 21, 133–166. <https://doi.org/10.1111/j.1751-8369.2002.tb00072.x>
- Szyrmer, W., Zawadzki, I., 1997. Biogenic and Anthropogenic Sources of Ice-Forming Nuclei: A Review. *Bull. Am. Meteorol. Soc.* 78, 209–228. [https://doi.org/10.1175/1520-0477\(1997\)078<0209:BAASOI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0477(1997)078<0209:BAASOI>2.0.CO;2)
- Theodosi, C., Panagiotopoulos, C., Nouara, A., Zampas, P., Nicolaou, P., Violaki, K., Kanakidou, M., Sempéré, R., Mihalopoulos, N., 2018. Sugars in atmospheric aerosols over the Eastern Mediterranean. *Prog. Oceanogr.* 163, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.09.001>

- Tominaga, S., Matsumoto, K., Kaneyasu, N., Shigihara, A., Katono, K., Igawa, M., 2011. Measurements of particulate sugars at urban and forested suburban sites. *Atmos. Environ.* 45, 2335–2339. <https://doi.org/10.1016/J.ATMOSENV.2010.09.056>
- Turetta, C., Zangrando, R., Barbaro, E., Gabrieli, J., Scalabrin, E., Zennaro, P., Gambaro, A., Toscano, G., Barbante, C., 2016. Water-soluble trace, rare earth elements and organic compounds in Arctic aerosol. *Rend. Lincei* 27, 95–103. <https://doi.org/10.1007/s12210-016-0518-6>
- Turpin, B.J., Huntzicker, J.J., 1989. Secondary formation of organic aerosol in the Los Angeles Basin: a descriptive analysis of organic and elemental carbon concentrations 25.
- Wang, Q., Jacob, D.J., Fisher, J.A., Mao, J., Leibensperger, E.M., Carouge, C.C., Le Sager, P., Kondo, Y., Jimenez, J.L., Cubison, M.J., Doherty, S.J., 2011. Atmospheric Chemistry and Physics Sources of carbonaceous aerosols and deposited black carbon in the Arctic in winter-spring: implications for radiative forcing. *Atmos. Chem. Phys* 11, 12453–12473. <https://doi.org/10.5194/acp-11-12453-2011>
- Wedyan, M.A., Preston, M.R., 2008. The coupling of surface seawater organic nitrogen and the marine aerosol as inferred from enantiomer-specific amino acid analysis. *Atmos. Environ.* 42, 8698–8705. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.04.038>
- Wegmann, K., 1986. Osmoregulation in eukaryotic algae. *FEMS Microbiol. Lett.* 39, 37–43. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01840.x>
- Williams, L., Borchhardt, N., Colesie, C., Baum, C., Komsic-Buchmann, K., Rippin, M., Becker, B., Karsten, U., Bü Del, B., 2017. Biological soil crusts of Arctic Svalbard and of Livingston Island, Antarctica. *Polar Biol.* 40, 399–411. <https://doi.org/10.1007/s00300-016-1967-1>
- Yttri, K.E., Dye, C., Braathen, O.-A., Simpson, D., Steinnes, E., 2007a. Atmospheric Chemistry and Physics Carbonaceous aerosols in Norwegian urban areas, *Atmos. Chem. Phys.*
- Yttri, K.E., Dye, C., Kiss, G., 2007b. Ambient aerosol concentrations of sugars and sugar-alcohols at four different sites in Norway, *Atmos. Chem. Phys.*
- Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C., Zasoski, R.J., 2002. Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. *Biogeochemistry* 61, 173–198. <https://doi.org/10.1023/A:1020221528515>

- Zangrando, R., Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Vecchiato, M., Scalabrin, E., Radaelli, M., Đorđević, D., Barbante, C., Gambaro, A., 2016. Five primary sources of organic aerosols in the urban atmosphere of Belgrade (Serbia). *Sci. Total Environ.* 571, 1441–1453. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.06.188>
- Zhang, Q., Anastasio, C., 2003. Free and combined amino compounds in atmospheric fine particles (PM 2.5) and fog waters from Northern California 37, 2247–2258. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(03\)00127-4](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(03)00127-4)
- Zhang, Q., Anastasio, C., 2001. Chemistry of fog waters in California's Central Valley—Part 3: concentrations and speciation of organic and inorganic nitrogen. *Atmos. Environ.* 35, 5629–5643. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(01\)00337-5](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(01)00337-5)
- Zhang, T., Wei, X.-L., Zhang, Y.-Q., Liu, H.-Y., Yu, L.-Y., 2015. Diversity and distribution of lichen-associated fungi in the Ny-Ålesund Region (Svalbard, High Arctic) as revealed by 454 pyrosequencing. *Sci. Rep.* 5, 14850. <https://doi.org/10.1038/srep14850>