

ALLEGATO A

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Procedura di selezione per la chiamata a professore di II fascia da ricoprire ai sensi dell'art. 18, commi 1 e 4, della Legge n. 240/2010 per il settore concorsuale 03/A1 - **Chimica Analitica**, (settore scientifico-disciplinare CHIM/01 - **Chimica Analitica**) presso il Dipartimento di Chimica, Codice concorso 4975

[Federico Maria Rubino] **CURRICULUM VITAE**

INFORMAZIONI PERSONALI (NON INSERIRE INDIRIZZO PRIVATO E TELEFONO FISSO O CELLULARE)

COGNOME	RUBINO
NOME	FEDERICO MARIA
DATA DI NASCITA	12 OTTOBRE 1960

TITOLI

TITOLO DI STUDIO (indicare la Laurea conseguita inserendo titolo, Ateneo, data di conseguimento, ecc.)

Laurea in Chimica, Università degli Studi di Milano, 15 Marzo 1985

TITOLO DI DOTTORE DI RICERCA O EQUIVALENTI, OVVERO, PER I SETTORI INTERESSATI, DEL DIPLOMA DI SPECIALIZZAZIONE MEDICA O EQUIVALENTE, CONSEGUITO IN ITALIA O ALL'ESTERO (inserire titolo, ente, data di conseguimento, ecc.)

Specializzazione in Tossicologia, Università degli Studi di Milano, 14 Luglio 2000

ALTRI TITOLI CONSEGUITI (inserire titolo, ente, data di conseguimento, ecc.)

- Abilitazione alla professione di Chimico, Ordine Interprovinciale dei Chimici e dei Fisici della Lombardia, Novembre 1985
- Abilitazione Scientifica Nazionale quale professore associato di Chimica Analitica, Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, Dicembre 2013

ATTIVITÀ DIDATTICA

INSEGNAMENTI E MODULI (inserire anno accademico, corso laurea, numero di ore frontali, eventuale CFU)

Nel sistema universitario nazionale:

- A.A.1987-88: Corso di Laurea in Scienze Biologiche, Università della Calabria, Chimica Organica, 40 ore, professore a contratto
- A.A. 1995-96, 96-97, 97-98: Diploma Universitario per Infermieri (Università degli Studi di Milano - polo Ospedale San Carlo), Fisica per Infermieri, 20 ore, professore a contratto
- AA 2007-08 (2° semestre, 1 turno) e 2008-09 (1° semestre, 2 turni): coautore e tutor didattico del corso elettivo informatizzato "ORAD - Occupational Risk from Anticancer Drugs" (docente: Prof. Antonio Colombi; 15 ore, in lingua inglese).

In qualità di ospite:

- AA 2015-16, Giugno: tutor (docente) del corso di Spettrometria di Massa per Dottorandi di ricerca (Università degli Studi di Milano); (12 ore, lingua italiana).

Presso altre realtà internazionali:

- Anno 2007, Gennaio: Visiting Professor alla Pravara Medical School (Loni, Maharashtra, India), corso "Analytical Chemistry for Environmental and Occupational Toxicology" (90 ore, in lingua inglese).
- Anno 2012, Settembre: tutor (docente) della NATO-ASI School "Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe" (Varna, Bulgaria); lezioni "Obsolete Pesticides: a threat to environmental biodiversity and human health"; "General approaches and procedures for pesticide legislation"; "Principles and application of Integrated Pest Management approach: Biological pesticides" (complessivamente 6 ore, in lingua inglese).

- Anno 2012; 2014, Settembre-Novembre: Visiting Professor alla Kazakh National Medical University (Almaty, Kazakhstan); corso "Occupational and Environmental Health in the globalized world - measurements for chemical risk assessment" (15 ore, in lingua inglese).
- Anno 2014, Luglio: tutor (docente) della Summer School "Central Asian Network for Education, Research and Innovation in Environmental Health" (Issyk-Kul, Kirgizstan). Lezioni: "Analysis of heavy metals and pesticides in EH & OH (I-III)"; "In-field direct measurement of airborne chemical substances: some principles"; "Sampling airborne chemical agents: some principles"; "Field activity with instruments: sampling airborne chemicals and use of direct measurement instruments, I-II"; "Measuring and using meteo-climatic parameters in chemical risk assessment: some principles"; "In-field direct measurement of physical stressors: noise and illumination, with practical training" (18 ore, in lingua inglese).

Nell'ambito dell'attività didattica, ho collaborato alla redazione di capitoli di testi didattici universitari diretti a studenti dei corsi triennali e magistrali dell'area della Prevenzione, a studenti, specializzandi e professionisti di Medicina del Lavoro, di testi specialistici per tecnici e professionisti, di enciclopedie professionali su argomenti di Chimica e Tossicologia.

ATTIVITÀ DI DIDATTICA INTEGRATIVA E DI SERVIZIO AGLI STUDENTI

ATTIVITÀ DI RELATORE DI ELABORATI DI LAUREA, DI TESI DI LAUREA MAGISTRALE, DI TESI DI DOTTORATO E DI TESI DI SPECIALIZZAZIONE *(inserire anno accademico, ateneo, corso laurea, ecc.)*

In qualità di Tecnico laureato universitario, non ho titolo ad essere relatore, ma solamente correlatore o tutor.

ATTIVITÀ DI TUTORATO DEGLI STUDENTI DI CORSI DI LAUREA E DI LAUREA MAGISTRALE E DI TUTORATO DI DOTTORANDI DI RICERCA *(inserire anno accademico, corso laurea, ecc.)*

Dal 2002 al 2012: circa 10 studenti dei corsi di laurea di Tossicologia Ambientale, Medicina e Chirurgia, Tecniche della Prevenzione (triennale e magistrale), 3 di Dottorato di ricerca in Medicina del Lavoro.

SEMINARI *(inserire titolo del seminario, luogo, data, ecc.)*

(elenco non esaustivo)

- Anni 2001, 2002, 2004: lezioni seminariali alla Scuola Nazionale di Bioarchitettura® (sedi di Milano e Lecco) su argomenti di benessere ambientale negli spazi confinati (indoor science), con riferimento alla presenza e alla mitigazione degli effetti dei contaminanti organici aerodispersi.
- AA. 2012-2013 e 2020-21, Università dell'Insubria: seminario di Spettrometria di Massa per Dottorandi di ricerca (Università degli Studi dell'Insubria, Varese); (4 ore, lingua italiana, 2020-21 online).
- 2016; 2022, Febbraio: INTERNATIONAL TRAINING CENTRE OF THE ILO Master in Occupational Safety and Health Turin (Italy): "Pesticides: toxicity, harm, risk assessment, principles of prevention" (6h, English)
- 2022, Aprile: Public Health Master of the Public Health School and International Department of Karaganda Medical University (KZ): "Principles for risk assessment and management at the workplace: measurement, estimates and occupational exposure limits" (2 h, English)
- 2022 (programmato): HARMONEE Summer School I (Bukhara, UZ - June 27 - July 07 2022); modulo per docenti e formatori "Laboratory and measurement in Occupational Toxicology"
- Seminari a invito di colleghi docenti nell'ambito di corsi elettivi e di scuola di specializzazione / dottorato, su temi di Salute e Ambiente, di Tossicologia ambientale e del Lavoro (dal 2005 - tuttora).

ATTIVITÀ DI RICERCA SCIENTIFICA

PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE *(per ciascuna pubblicazione indicare: nomi degli autori, titolo completo, casa editrice, data e luogo di pubblicazione, codice ISBN, ISSN, DOI o altro equivalente)*

v. elenco sotto riportato

ORGANIZZAZIONE, DIREZIONE E COORDINAMENTO DI CENTRI O GRUPPI DI RICERCA NAZIONALI E INTERNAZIONALI O PARTECIPAZIONE AGLI STESSI *(per ciascuna voce inserire anno, ruolo, gruppo di ricerca, ecc.)*

- In qualità di Tecnico laureato universitario, non ho titolo a ricoprire incarichi di organizzazione e direzione.
- Numerose collaborazioni sono state a me richieste nel corso di circa venti anni da docenti nella posizione di responsabili globali o locali di progetti di ricerca a finanziamento nazionale ed internazionale, per la pianificazione e l'esecuzione di studi "in campo" che includono la messa a punto di strategie di campionamento, metodi analitici, modalità di gestione e comunicazione dei risultati, formazione e addestramento del personale esecutivo (studenti e personale tecnico di Enti collaboratori).
- Tra le principali attività svolte nell'ambito della collaborazione con la Cattedra di Medicina del Lavoro (Università degli Studi di Milano) presso il Polo H. San Paolo (ASST Santi Paolo e Carlo), vi sono in particolare campagne di studio dell'esposizione a pesticidi di agricoltori (Progetto Regione Lombardia 2011-13; progetto europeo ACROPOLIS, 2012-14); a farmaci antineoplastici nelle farmacie ospedaliere dedicate (Progetti BRIC-INAIL, 2005-2008 e 2015-2017).
- Dal 2012 collaboro a progetti europei per l'armonizzazione dei programmi didattici di insegnamento universitario delle discipline della Sanità Pubblica in Asia Centrale (Kazakhstan, Kyrgyzstan, Uzbekistan) e di incorporazione in esse delle nozioni di chimica analitica necessarie alla pratica consapevole dell'igiene ambientale e dei luoghi di lavoro (Progetti europei TEMPUS, 2012-2014; TUTORIAL, 2015-2017 e HARMONEE, 2021-2023).

ATTIVITÀ QUALI LA DIREZIONE O LA PARTECIPAZIONE A COMITATI EDITORIALI DI RIVISTE SCIENTIFICHE
(per ciascuna voce inserire anno, ruolo, rivista scientifica, ecc.)

Associate Editor delle riviste "open access":

2012-2015: International Journal of Analytical Mass Spectrometry and Chromatography

2019 - tuttora: MDPI-Molecules, Analytical Chemistry Section (selezione dei reviewer e valutazione dei loro resoconti, parere finale sui manoscritti affidati).

Componente del **Board of International Editors** delle riviste:

2007-2011: The Open Spectroscopy Journal, Board of International Editors

2009-2013: Acta Toxicologica Argentina, Board of International Editors

2005-2017: Central European Journal of Environmental Medicine, Board of International Editors

Dal 1992: **Reviewer** per numerose riviste scientifiche di chimica analitica, spettrometria di massa, valutazione del rischio tossicologico, biochimica e tossicologia (elenco delle riviste non esaustivo).

Biological Mass Spectrometry, Organic Mass Spectrometry, J.Mass Spectrometry, Rap.Communic.Mass Spectrom, J.Chromatography B, Analytica Chimica Acta, Leukaemia&Lymphoma, J.Biochem.Biophys Methods, Analytical Chemistry, MDPI-Toxics, Inorganic Chemistry, Metallomics, MDPI-Molecules -

Analyt.Chem. Section, MDPI- Int.J.Environ.Res.Pub.Health, Regulat.Toxicol.Pharmacol, Chemosphere; attività complessiva riassunta, pressappoco dal 2016, nella pagina individuale:

(<https://publons.com/researcher/1379418/federico-maria-rubino/peer-review/>)

Guest Editor del fascicolo tematico "Mass Spectrometry in the Health Sciences", MDPI-Molecules, Analytical Chemistry Section (2021-22, in corso)

TITOLARITÀ DI BREVETTI (per ciascun brevetto, inserire autori, titolo, tipologia, numero brevetto, ecc.)

nulla

PREMI E RICONOSCIMENTI NAZIONALI E INTERNAZIONALI PER ATTIVITÀ DI RICERCA (inserire premio, data, ente organizzatore, ecc.)

nulla

PARTECIPAZIONE IN QUALITÀ DI RELATORE A CONGRESSI E CONVEGNI DI INTERESSE INTERNAZIONALE
(inserire titolo congresso/convegno, data, ecc.)

v. elenco allegato (sezione B dell'elenco completo delle pubblicazioni, non esaustiva).

ATTIVITÀ GESTIONALI, ORGANIZZATIVE E DI SERVIZIO

INCARICHI DI GESTIONE E AD IMPEGNI ASSUNTI IN ORGANI COLLEGIALI E COMMISSIONI, PRESSO RILEVANTI ENTI PUBBLICI E PRIVATI E ORGANIZZAZIONI SCIENTIFICHE E CULTURALI, OVVERO PRESSO L'ATENEO O ALTRI ATENEI (inserire incarico/impegno, ente, data, ecc.)

- Università degli Studi di Milano: Rappresentante dei Lavoratori per la Sicurezza (RLS), incarico elettivo per 2 mandati dal 2011 a tuttora.
- Ordine Interprovinciale dei Chimici della Lombardia: incarico a nomina quale componente e Presidente del Consiglio di Disciplina (2014-2017).
- Reviewer per Enti finanziatori Nazionali di progetti di ricerca: Romania, 2012; Kuwait, 2014.
- Nell'ambito della collaborazione con l'International Center for Rural Health, Collaborating Center of the World Health Organization, tra le principali attività:
- 2009 - tuttora: collaborazione quale esperto a incontri e gruppi di lavoro degli Organismi internazionali (International Labour Office, ILO; World Health Organization - Chemical Assessment Network, World Health Organization, WHO; Food and Agriculture Organization, FAO), Unione Europea (EU) su temi di valutazione, prevenzione e gestione del rischio chimico negli ambienti di vita e di lavoro, in particolare per l'esposizione professionale a pesticidi in agricoltura e a farmaci pericolosi in ambiente ospedaliero. Altre consulenze fornite a Organismi pubblici italiani nell'ambito delle attività istituzionali di tutela della salute: formulazione di pareri di impatto ambientale e sanitario (sicurezza della popolazione generale e dei Lavoratori dagli effetti avversi dell'esposizione a sostanze chimiche nell'ambiente e negli ambienti di vita e di lavoro).
- 2011-2022: collaborazione, quale unico Chimico e componente del Core Group of Collaborators di ILO, alla redazione del volume "Diagnostic and exposure criteria for occupational diseases - Guidance notes for diagnosis and prevention of the diseases in the ILO List of Occupational Diseases (revised 2010)" (https://www.ilo.org/global/topics/safety-and-health-at-work/resources-library/publications/WCMS_836362, scarico libero e gratuito)

ATTIVITÀ CLINICO ASSISTENZIALI (indicare, data, durata, ruolo, ente presso il quale si è prestata attività assistenziale, ecc.)

- 1994-2000: Chimico Dirigente di 1° Livello presso il Laboratorio di Tossicologia Industriale del Centro di Medicina Occupazionale e di Comunità (CeMOC) di Milano, quale responsabile dello sviluppo e dell'impiego dei metodi di analisi chimica dei contaminanti negli ambienti di vita e di lavoro. Le attività hanno comportato la messa a punto e la verifica di metodi e di analisi chimiche per la misura del Protossido di Azoto (N₂O) e di anestetici da inalazione organoalogenati volatili nelle sale operatorie e nelle urine dei lavoratori ospedalieri esposti (analisi condotte mediante gas-cromatografia con rivelazione ECD); la messa a punto delle determinazioni per i principali metalli di interesse tossicologico industriale (Piombo, Cadmio nel sangue e nelle urine) e di Alluminio (in acqua sterile da infusione per soluzioni dialitiche) (analisi condotte con Assorbimento Atomico-GFAAS); di farmaci antineoplastici nella Farmacia ospedaliera dedicata (UMaCA, Unità di Manipolazione Farmaci Antineoplastici) e nei reparti ospedalieri di somministrazione in Day Hospital e in degenza (analisi condotte mediante HPLC). Le attività del settore "antineoplastici" hanno dato luogo a relazione a parere con co-firma e firma del bollettino di analisi da parte del Chimico analista, per un totale di 5 documenti, e con presentazione dei risultati in Riunione Periodica ai sensi del D.Lvo. 626/94.
- 2001- tuttora: nell'ambito di un rapporto convenzionale mai attivato, collaborazione continuativa con il Servizio di Prevenzione dell'A.O. Ospedale San Paolo e con il Centro Internazionale per la Salute Rurale - Centro di Collaborazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (ICRH, WHO-CC), per le attività di valutazione del rischio e di igiene del Lavoro. Tra le attività preminenti è sussistita, a richiesta dell'Ente ospedaliero, l'attività di Laboratorio per la determinazione, a campagna, di composti cancerogeni, sensibilizzanti e irritanti (formaldeide, glutaraldeide nei Laboratori diagnostici di Anatomia Patologica e negli Ambulatori di Endoscopia); di farmaci antineoplastici nella Farmacia ospedaliera dedicata (UMaCA, Unità di Manipolazione Farmaci Antineoplastici) e nei reparti ospedalieri di somministrazione in Day Hospital e in degenza (analisi condotte mediante HPLC); la determinazione di carica batterica aerodispersa e sulle superfici nelle sale operatorie (conta totale e su terreni selettivi). Tutte le attività hanno dato luogo a relazione a parere con co-firma e firma del bollettino di analisi da parte del Chimico analista, per un totale di oltre 15 documenti e con presentazione dei risultati in Riunione Periodica ai sensi dei Dd.LL. 626/94 e 81/08.

Data

5 Maggio 2022

Luogo

Milano

PUBBLICAZIONI DEL DOTT. FEDERICO MARIA RUBINO

A) PUBBLICAZIONI A STAMPA.

1985-1989

- 1) E.Arlandini, C.Gioia, G.Perseo, B.Danieli, F.M.Rubino: "Field Desorption and Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry of some Oligopeptides of the Tryptophyllin Family.", *Biomed. Environm. Mass Spectrom.*, **14**, 487-93 (1987).
- 2) S.Banfi, P.Restani, F.M.Rubino, S.Sommaruga: "Synthesis and Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry of B-Casomorphin-5.", *Gazz. Chim. It.*, **118**, 41-45 (1988).
- 3) I.Fermo, F.M.Rubino, E.Bolzacchini, C.Arcelloni, R.Paroni, P.A.Bonini: "Pre-column Derivatization of Amino Acids with N,N-diethyl-2,4-dinitro-5-fluoroaniline (FDNDEA) and Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography Separation.", *Jour. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **433**, 53-62 (1988).
- 4) C.Pasqualucci, M.Visconti, M.Pinza, B.Danieli, F.M.Rubino: "FAB Mapping of Elcatonin, a Novel Synthetic Analogue of Eel Calcitonin.", *Adv. Mass Spectrom.*, **11B**, 1414-5 (1989).
- 5) B.Danieli, F.M.Rubino, L.Zecca: "Electron Impact Mass Spectrometry of Substituted 1,3,8-triazaspiro(4,5)decan-4-ones.", *Biomed. Environm. Mass Spectrom.*, **18**, 1000-4 (1989).
- 6) F.M.Rubino: "Silylaldonitrile Derivatives for the Determination of Sugars by Gas Chromatography-Mass Spectrometry.", *Jour. Chromatogr.*, **473**, 125-33 (1989).
- 7) B.Danieli, F.M.Rubino, A.Cremonesi: "Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry of N-benzyloxycarbonyl Amino Acids and Peptides." *Org. Mass Spectrom.*, **24**, 225-9 (1989).

1989-1994

- 8) F.M.Rubino, P.Mascaro, S.Banfi, S.Quici: "Structural study on Mn(III)-tetraarylporphyrin Complexes by Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry.", *Org. Mass Spectrom.*, **26**, 161-6 (1991).
- 9) F.M.Rubino, L.Zecca, P.Mascaro, W.Hunkeler: "A Study of Some Imidazo(1,5-a)benzodiazepin-6-ones by Electron Impact Mass Spectrometry. Evidence for Generation and Isomerization of a Distonic Fragment Ion.", *Org. Mass Spectrom.*, **26**, 636-44 (1991).
- 10) F.M.Rubino: "Cesium Fluoride as a Mass Calibrant in FAB-MS.", *Org. Mass Spectrom.*, **26**, 718-20 (1991).
- 11) F.M.Rubino, L.Zecca: "Retrosynthetic Fragmentation in the Fast Atom Bombardment Mass Spectra of Eserine and Some Related Compounds.", *Org. Mass Spectrom.*, **26**, 961-6 (1991).
- 12) F.M.Rubino, L.Zecca, F.Chillemi: "Characterization of Putative Neurotransmitter N-Acetyl-Aspartyl-Glutamic Acid and Some Related Compounds by Fast Atom Bombardment and Tandem Mass Spectrometry.", *Biol. Mass Spectrom.*, **21**, 85-91 (1992).
- 13) F.M.Rubino, L.Zecca: "Molecular Characterization of the Hydroxylated Metabolites of Diclofenac by Tandem Mass Spectrometry.", *Biol. Mass Spectrom.*, **21**, 109-13 (1992).
- 14) C.Pasqualucci, M.Visconti, M.Pinza, B.Danieli, F.M.Rubino: "A Structural Study on Elcatonin, a Novel Synthetic Analogue of Eel Calcitonin by Fast Atom Bombardment and Tandem Mass Spectrometry.", *Biol. Mass Spectrom.*, **21**, 144-50 (1992).
- 15) F.M.Rubino, B.Danieli, F.Chillemi, A.Cremonesi: "Fast Atom Bombardment and Tandem Mass Spectrometry at High and Low Collision Energy for the Sequence Analysis of Low-to-Middle Mass Peptides.", *Biol. Mass Spectrom.*, **21**, 451-62 (1992).
- 16) L.Riboni, D.Acquotti, R.Casellato, R.Ghidoni, G.Montagnolo, A.Benevento, L.Zecca, F.M.Rubino, S.Sonnino: "Changes of the

human liver GM₃ ganglioside molecular species during aging.", *Eur. J. Biochem.*, **203**, 107-13 (1992).

- 17) S.Sonnino, D.Acquotti, G.Kirschner, A.Uguaglianza, L.Zecca, F.M.Rubino, G.Tettamanti: "Preparation of lyso-GM1 (II³Neu5AcGcOse₄-long chain bases) by a one-pot reaction.", *J. Lipid Res.*, **33**, 1221-6 (1992).
- 18) F.M.Rubino, L.Zecca: "Application of Triple-Quadrupole Tandem Mass Spectrometry to the Analysis of Pyridine-containing Derivatives of Long-Chain Fatty Acids and Alcohols.", *Jour.Chromatogr. Biomed. Appl.*, **579**, 1-12 (1992).
- 19) F.M.Rubino, P.Mascaro, G.Palmisano, G.Appendino, G.Cravotto, S.Tagliapietra, G.M.Nano: "Electron Impact Fragmentation of Pyranocoumarine Derivatives. Tandem Mass Spectrometric Study of Abundant Singly and Doubly Charged Fragment Ions at High and Low Collision Energy.", *Org. Mass Spectrom.*, **27**, 597-603 (1992).
- 20) F.M.Rubino, L.Zecca: Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometric Study on the 3-picolinyl Esters of Fatty Acids.", *Org. Mass Spectrom.*, **27**, 1240-7 (1992).
- 21) F.M.Rubino, L.Zecca, S.Sonnino: "Characterization of Sphingosine Long-Chain Bases by Fast Atom Bombardment and High-Energy Collision-Induced Decomposition Tandem Mass Spectrometry.", *Org. Mass Spectrom.*, **27**, 1357-64 (1992).
- 22) F.M.Rubino: "A Computer Program for Prediction of Mass Spectral Information in the Fast Atom Bombardment Spectra of Peptides.", *Spectrosc. Lett.*, **25**, 811-20 (1992).
- 23) A.Mosca, R.Paleari, F.M.Rubino, L.Zecca, G. De Bellis, S. Debernardi, F.Baudo, D.Cappellini, G.Fiorelli: "Hb Abruzzo (β143(H21)His→Arg) identified by Mass Spectrometry and DNA Analysis.", *Hemoglobin*, **17**, 261-68 (1993).
- 24) F.M.Rubino, S.Banfi, G.Pozzi, S.Quici: "Solution and Gas-Phase Chemistry of Fe(III) and Mn(III) Tetraarylporphyrins As Studied by Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry. 1- Generation of Molecular Signals.", *J.Am.Soc.Mass Spectrom.*, **4**, 249-54 (1993).
- 25) F.M.Rubino, S.Banfi, G.Pozzi, S.Quici: "Solution and Gas-Phase Chemistry of Fe(III) and Mn(III) Tetraarylporphyrins As Studied by Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry. 2- Synthesis and Characterization of Molecular Complexes.", *J.Am.Soc.Mass Spectrom.*, **4**, 255-58 (1993).
- 26) S.Banfi, F.Montanari, G.Pozzi, S.Quici, F.M.Rubino: "Mn(III)-bis-Porphyrins as Catalysts in H₂O₂ Alkene Epoxidations in the Presence of a Lipophilic Bidentate Imidazole Ligand.", *Rend. Fis. Acc. Lincei*, **4**, 207-12 (1993).
- 27) F.M.Rubino, L.Zecca, S.Sonnino: "Characterization of Ceramide Mixtures by Fast Atom Bombardment and Precursor and Fragment Ion Analysis Tandem Mass Spectrometry.", *Biol. Mass Spectrom.*, **23**, 82-90 (1994).
- 28) G.Audisio, A.Priola, G.Gozzelino, R.Mendichi, F.M.Rubino: "Distribution of Cyclized Units Present in the Cationic Isoprene Oligomers.", *Makromol. Chem. Phys.*, **195**, 3709-19 (1994).

1994-2000

- 29) Rubino FM, Colombi A, Floridia L, Tavazzani M, Occhipinti E. Time and Spatial Dependence of the Concentration of Automotive-related Pollutants in the Urban Atmosphere surrounding "Grattacielo Pirelli" of Milano, Italy. *Ann Chim (Roma)*, **86**, 565-75 (1996).
- 30) Rubino FM, Floridia L, Tavazzani M, Fustinoni S, Giampiccolo R, Colombi A. Height Profile of some Air Quality Markers in the Urban Atmosphere Surrounding a 100m Tower Building. *Atmospheric Environment*, **32**, 3569-80 (1998).

- 31) Previdi M, Marraccini P, Farioli L, Rubino FM, Colombi A. Allergopatie respiratorie: monitoraggio ambientale, aeroallergeni, prevenzione. *La Medicina del Lavoro*, **89** 481-98 (1998).
- 32) Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Rubino FM, Colombi A. High-Performance Liquid Chromatography of Methotrexate for Environmental Monitoring of Surface Contamination in Hospital Departments and Assessment of Occupational Exposure. *J Chromatogr B*, **726** 95-103 (1999).
- 33) Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Rubino FM, Colombi A. Measurement of Surface Contamination from Nucleoside Analogue Antineoplastic Drugs by High-Performance Liquid Chromatography in Occupational Hygiene Studies of Oncologic Hospital Departments. *J Chromatogr B*, **724** 325-334 (1999).
- 34) Rubino FM, Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Colombi A. Measurement of Surface Contamination from some Antineoplastic Drugs by High-Performance Liquid Chromatography for Occupational Hygiene Investigation in Hospital Departments. *La Medicina del Lavoro*, **90**(4) 572-583 (1999).

2001-2011

- 35) Rubino FM: "Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites." *Journal of Chromatography B*, **764** 217-54 (2001).
- 36) Bonetti M, Bossi A, Pauletto A, Rubino FM. Applicazione di una strategia integrata di intervento conoscitivo dell'emissione e della propagazione atmosferica di odori molesti in ambito urbano. *IA Ingegneria Ambientale XXXI*(7-8) 380-86 (2002).
- 37) D.Camerino, M.Buratti, F.M.Rubino, C.Somaruga, V.Bellugi, A.Bordiga, L.Bordini, R.Maraschi, M.Molinari, C.Colosio, L.Soleo, A.Colombi: "Valutazione degli effetti neurotossici e nefrotossici conseguenti all'esposizione a lungo termine a mercurio metallico dei lavoratori addetti agli impianti Cloro-Soda." *La Medicina del Lavoro*, **93**(3):238-50 (2002)
- 38) Colombi A, Buratti M, Rubino FM, Giampiccolo R, Pulvirenti S, Brambilla G. Evoluzione della tossicologia industriale tra dosi effimere e genoma umano. *La Medicina del Lavoro*, **94**(1):69-82 (2003)
- 39) F.M.Rubino, C.Verducci, R.Giampiccolo, S.Pulvirenti, G.Brambilla, A.Colombi: "Molecular Characterization of Homo- and Heterodimeric Mercury(II)-bis-Thiolates of Some Biologically Relevant Thiols by Electrospray Ionization and Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry." *J.Am.Soc.Mass Spectrom.*, **15**(3) 288-300 (2004)
- 40) F.M.Rubino, C.Verducci, R.Giampiccolo, S.Pulvirenti, G.Brambilla, A.Colombi: "Characterization of the disulfides of bio-thiols by electrospray ionization and triple quadrupole tandem mass spectrometry." *Jour Mass Spectrom*, **39**(12) 1408-16 (2004)
- 41) P.Pierucci, E.Porazzi, M.Pardo Martinez, F.Adani, C.Carati, F.M.Rubino, A.Colombi, E.Calcatera, E.Benfenati: "Volatile organic compounds produced during the aerobic biological processing of municipal solid waste in a pilot plant." *Chemosphere* **59** 423-30 (2005)
- 42) Cavallo Delia, Ursini CL, Perniconi B, Di Francesco A, Giglio M, Rubino FM, Marinaccio A, Iavicoli S Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. *Mutat Res* **587** 45-51 2005
- 43) Buratti M, Valla C, Pellegrino O, Rubino FM, Colombi A Aluminum determination in biological fluids and dialysis concentrates via chelation with 8-hydroxyquinoline and solvent extraction/fluorimetry. *Anal Biochem* **353** 63-68 2006
- 44) Rubino FM, Verducci C, Buratti M, Fustinoni S, Campo L, Omodeo-Salè E, Giglio M, Iavicoli S, Brambilla G, Colombi A. Assay of urinary α -fluoro- β -alanine by gas chromatography - mass spectrometry for the biological monitoring of occupational exposure to 5-fluorouracil in oncology nurses and pharmacy technicians. *Biomed. Chromatogr* **20** 257-66 2006
- 45) Buratti M, Pellegrino O, Valla C, Rubino FM, Verducci C, Colombi A Polyurethane foam chips combined with liquid chromatography in the determination of unmetabolized polycyclic aromatic hydrocarbons excreted in human urine. *Biomed Chromatogr* **20**(9):971-8 2006
- 46) Rubino FM, Pitton M, Brambilla G, Colombi A. Electrospray Ionization and Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry Study of Some Biologically Relevant Homo- and Heterodimeric Cadmium Thiolate Conjugates *J Am Soc Mass Spectrom* **17** 1442-55 2006
- 47) Rubino FM, Pitton M, Brambilla G, Colombi A. A Study of the Glutathione Metaboloma Peptides by Energy-Resolved Mass Spectrometry as a Tool to Investigate into the Interference of Toxic Heavy Metals with their Metabolic Processes. *J Mass Spectrom* **26** 1578-93 2006
- 48) Rubino FM, Pitton M, Caneva E, Pappini M, Colombi A. Thiol-disulfide redox equilibria of glutathione metaboloma compounds investigated by tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **22** 3935-48 2008
- 49) Rubino FM, Pitton M, Di Fabio D, Colombi A. A holistic approach to the physiopathology of chemicals from cancer to degenerative diseases: mass spectrometric study of the protein adducts of endogenous and xenobiotic compounds. *Mass Spectrom Rev.* **28** 725-84 2009
- 50) Borgeese L, Zacco A, Bontempi E, Vigna L, Pellegatta M, Patrini L, Riboldi L, Rubino FM, Depero LE. Use of Transmission X-Ray Fluorescence (TXRF) for the evaluation of heavy metal poisoning due to the improper use of a traditional Ayurvedic ailment. *J Pharm Biomed Anal.* **2010**; **52**(5):787-90
- 51) Rubino FM, Pitton M, Di Fabio D, Meroni G, Santaniello E, Caneva E, Pappini M, Colombi A. Measurement of S-methylcysteine and S-methyl-mercapturic acid in human urine by alkyl-chloroformate extractive derivatization and isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr.* **2011** **25**(3):330-43

2012-2022

- 52) Colosio C, Rubino FM, Alegakis A, Ariano E, Brambilla G, Mandic-Rajcevic S, Metruccio F, Minoia C, Moretto A, Somaruga C, Tsatsakis A, Turci R, Vellere F. Integration of biological monitoring, environmental monitoring and computational modelling into the interpretation of pesticide exposure data: Introduction to a proposed approach. *Toxicol Lett.* **2012**; **213**(1):49-56. PMID: 21903154.
- 53) Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Ariano E, Alegakis A, Bogni M, Brambilla G, De Paschale G, Firmi A, Minoia C, Micoli G, Savi S, Sottani C, Somaruga C, Turci R, Vellere F, Tsatsakis A, Colosio C. Farmers' exposure to herbicides in North Italy: assessment under real-life conditions in small-size rice and corn farms. *Toxicol Lett.* **2012**; **210**(2):189-97. PMID: 22306369.
- 54) Rubino FM, Martinoli A, Pitton M, Di Fabio D, Caruso E, Banfi S, Tosi G, Wauters LA, Martinoli A. Food choice of Eurasian red squirrels and concentrations of anti-predatory secondary compounds. *Mammalian Biology* **77**(5):332-338 (2012)
- 55) Mrema EJ, Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Sturchio E, Turci R, Osculati A, Brambilla G, Minoia C, Colosio C.Exposure to priority organochlorine contaminants in the Italian general population. Part 1. Eight priority organochlorinated pesticides in blood serum. *Hum Exp Toxicol.* **2013** Dec;**32**(12):1323-39. doi: 10.1177/0960327113485255. PMID: 23857032
- 56) Mrema EJ, Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Sturchio E, Turci R, Osculati A, Brambilla G, Minoia C, Colosio C.Exposure to priority organochlorine contaminants in the Italian general population. Part 2: Fifteen priority polychlorinated biphenyl congeners in blood serum. *Hum Exp Toxicol.* **2014** Feb;**33**(2):170-84. doi: 10.1177/0960327113485256. PMID: 23857031

- 57) Ghilardi G, Rubino FM, Pitton M, Massetto N, Bissi M, Bianciardi P, Samaja M, Carelli S. Evaluation of glutathionyl-haemoglobin in patients undergoing carotid endarterectomy. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2013 Apr 18 PMID: 23594507).
- 58) Mrema EJ, Rubino FM, Brambilla G, Moretto A, Tsatsakis AM, Colosio C. Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology*. 2013; 307:74-88. doi: 10.1016/j.tox.2012.11.015
- 59) Rubino FM, Della Noce C, Vigna L, De Giuseppe R, Novembrino C, de Liso C, Maiavacca R, Patrini L, Riboldi L, Bamonti F. Measurement of glutathionylated haemoglobin by MALDI-ToF mass spectrometry as a biomarker of oxidative stress in heavy smokers and in occupational obese subjects. *Int J Anal Mass Spectrom Chromatogr* (2013) doi:10.4236/ijamsc.2013
- 60) Fustinoni S, Mercadante R, Polledri E, Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Vianello G, Colosio C, Moretto A. Biological monitoring of exposure to tebuconazole in winegrowers. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2014 Nov;24(6):643-9. doi: 10.1038/jes.2014.14. PMID: 24619295
- 61) Rubino FM. Toxicity of Glutathione-Binding Metals: A Review of Targets and Mechanisms. *Toxics*. 2015 Jan 26;3(1):20-62. doi: 10.3390/toxics3010020. PMID: 29056650
- 62) Baur X, Budnik LT, Zhao Z, Bratveit M, Djurhuus R, Verschoor L, Rubino FM, Colosio C, Jepsen JR. Health risks in international container and bulk cargo transport due to volatile toxic compounds. *J Occup Med Toxicol*. 2015 May 20;10:19. doi: 10.1186/s12995-015-0059-4. PMID: 26075009 (corr. *J Occup Med Toxicol*. 2018 Aug 13;13:25. doi: 10.1186/s12995-018-0207-8. PMID: 30123313)
- 63) Mandic-Rajcevic S, Rubino FM, Vianello G, Fugnoli L, Polledri E, Mercadante R, Moretto A, Fustinoni S, Colosio C. Dermal exposure and risk assessment of tebuconazole applicators in vineyards. *Med Lav*. 2015 Jul 8;106(4):294-315. PMID: 26154472
- 64) Campisi GM, Signorelli P, Rizzo J, Ghilardi C, Antognetti J, Caretti A, Lazarević JS, Strettoi E, Novelli E, Ghidoni R, Rubino FM, Paroni R. Determination of the serine palmitoyl transferase inhibitor myriocin by electrospray and Q-trap mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2017 Dec;31(12). doi: 10.1002/bmc.4026. PMID: 28621883
- 65) Mandic-Rajcevic S, Rubino FM, Ariano E, Cottica D, Neri S, Colosio C. Environmental and biological monitoring for the identification of main exposure determinants in vineyard mancozeb applicators. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2018 May;28(3):289-296. doi: 10.1038/jes.2017.14. PMID: 28901326
- 66) Mercadante R, Polledri E, Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Vaiani A, Colosio C, Moretto A, Fustinoni S. Assessment of penconazole exposure in winegrowers using urinary biomarkers. *Environ Res*. 2019 Jan;168:54-61. doi: 10.1016/j.envres.2018.09.013. PMID: 30268961
- 67) Mandic-Rajcevic S, Rubino FM, Ariano E, Cottica D, Negri S, Colosio C. Exposure duration and absorbed dose assessment in pesticide-exposed agricultural workers: Implications for risk assessment and modeling. *Int J Hyg Environ Health*. 2019 Apr;222(3):494-502. doi: 10.1016/j.ijheh.2019.01.006. PMID: 30685193
- 68) Ursini CL, Omodeo Salè E, Fresegna AM, Ciervo A, Jemos C, Maiello R, Buresti G, Colosio C, Rubino FM, Mandić-Rajčević S, Chiarella P, Carbonari D, Delrio P, Maiolino P, Marchetti P, Boccia R, Iavicoli S, Cavallo D. Antineoplastic drug occupational exposure: a new integrated approach to evaluate exposure and early genotoxic and cytotoxic effects by non-invasive Buccal Micronucleus Cytome Assay biomarker. *Toxicol Lett*. 2019 Nov;316:20-26. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.08.022. PMID: 31465813
- 69) Paroni R, Casati S, Dei Cas M, Bignotto M, Rubino FM, Ciuffreda P. Unambiguous Characterization of p-Cresyl Sulfate, a Protein-Bound Uremic Toxin, as Biomarker of Heart and Kidney Disease. *Molecules*. 2019 Oct 15;24(20):3704. doi: 10.3390/molecules24203704. PMID: 31618977
- 70) Ottolenghi S, Rubino FM, Sabbatini G, Coppola S, Veronese A, Chiumello D, Paroni R. Oxidative Stress Markers to Investigate the Effects of Hyperoxia in Anesthesia. *Int J Mol Sci*. 2019 Nov 4;20(21):5492. doi: 10.3390/ijms20215492. PMID: 31690051
- 71) Vitalini S, Dei Cas M, Rubino FM, Vigentini I, Foschino R, Iriti M, Paroni R. LC-MS/MS-Based Profiling of Tryptophan-Related Metabolites in Healthy Plant Foods. *Molecules*. 2020 Jan 13;25(2):311. doi: 10.3390/molecules25020311. PMID: 31940983
- 72) Rubino FM, Dei Cas M, Bignotto M, Ghidoni R, Iriti M, Paroni R. Discovery of Unexpected Sphingolipids in Almonds and Pistachios with an Innovative Use of Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. *Foods*. 2020 Jan 21;9(2):110. doi: 10.3390/foods9020110. PMID: 31972966
- 73) Rubino FM. Center-of-Mass iso-Energetic Collision-Induced Decomposition in Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *Molecules*. 2020 May 10;25(9):2250. doi: 10.3390/molecules25092250. PMID: 32397650
- 74) Mandić-Rajčević S, Rubino FM, Colosio C. Establishing health-based biological exposure limits for pesticides: A proof of principle study using mancozeb. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020 Aug;115:104689. doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104689. PMID: 32544413
- 75) Rubino FM. The Redox Potential of the β -93-Cysteine Thiol Group in Human Hemoglobin Estimated from In Vitro Oxidant Challenge Experiments. *Molecules*. 2021 Apr 26;26(9):2528. doi: 10.3390/molecules26092528. PMID: 33926119
- 76) Brizzolari A, Dei Cas M, Cialoni D, Marroni A, Morano C, Samaja M, Paroni R, Rubino FM. High-Throughput Griess Assay of Nitrite and Nitrate in Plasma and Red Blood Cells for Human Physiology Studies under Extreme Conditions. *Molecules*. 2021 Jul 28;26(15):4569. doi: 10.3390/molecules26154569. PMID: 34361720
- 77) Duca L, Ottolenghi S, Coppola S, Rinaldo R, Dei Cas M, Rubino FM, Paroni R, Samaja M, Chiumello DA, Motta I. Differential Redox State and Iron Regulation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Acute Respiratory Distress Syndrome and Coronavirus Disease 2019. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Sep 14;10(9):1460. doi: 10.3390/antiox10091460. PMID: 34573092

B) PUBBLICAZIONI IN ATTI DI CONGRESSI.

- 78) Danieli B, Rubino FM. Modern Mass Spectrometric Techniques for the Structural Analysis of Organic and Bioorganic Molecules" in: *Seminars in Organic Synthesis, XVII Summer School "A. Corbella", 22-26 June 1992, (Eds. R.Lazzaroni, G.Bartoli, G.Guanti), 67-97 (1992) Editrice di Chimica, Milano.*
- 79) Rubino FM, Zecca L. Mass Spectrometric Characterization of the Covalent Adducts of Physostigmine Drugs with Biologically Competent Thiols. *Atti del 12th Informal Meeting on Mass Spectrometry, S.Floriano (PN), 11-13 Aprile 1994.*
- 80) Rubino FM, Danieli B, Chillemi F. A Novel Fragmentation of Protonated Arginine at the N-Terminal of Peptides. *Atti del Congresso MASSA 94, Milano, 13-14 Novembre 1994.*
- 81) Basilico S, Rubino FM, Bernazzani G, Bocchi G, Colombi A, Ronchin M, Occhipinti E. Air Quality Monitoring in Hospital Departments: Influence of Outside Pollutants and Inside Human Activities on Global Hospital Air Quality. *Healthy Buildings'95*, 2, 1055-60 (1995).
- 82) Rubino FM, Basilico S, Bernazzani G, Bocchi G, Colombi A, Margonari M, Occhipinti E. Air Quality Monitoring in Grattacielo Pirelli of Milan, a Large, Conditionated Office Building. *Healthy Buildings'95*, 3, 1055-60 (1995).
- 83) Basilico S, Rubino FM, Bernazzani G, Bocchi G, Fasani AM, Colombi A, Ronchin M, Occhipinti E. Assessment of Outdoor Chemical and Microbial Pollution on Global Indoor Air Quality in Hospitals. in: *M.Maroni (Ed.): Ventilation and Indoor Air Quality Requirements in Hospitals. NATO-ASI Series, Partnership Sub-Series 2. Environment, vol. 11, Kluwer Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands 1996, pp. 181-9.*
- 84) Previdi M, Colombi A, Farioli L, Margonari M, Nava C, Rubino FM, Arbosti G. Aeroallergeni nell'uso di guanti chirurgici. *Atti del Convegno: Rischi lavorativi in ambiente sanitario: Patologia da guanti. (a cura di Franco G.) Fondaz. S. Maugeri, IRCCS, I Documenti 5, 127-33 (1996).*
- 85) Rubino FM, Floridia L, Tavazzani M, Fustinoni S, Giampiccolo R, Colombi A. Campionamento continuo e specificità analitica nello studio

- delle variazioni circadiane dell'inquinamento indoor da idrocarburi aromatici (BTEX) indotto dal traffico veicolare urbano. *Atti del convegno: RisCh'96, il rischio chimico negli ambienti di lavoro: identificazione, misurazione, valutazione, prevenzione e protezione*. Modena 10-12 Ottobre 1996. (a cura di G.Lazzaretti, C.Govoni); pp. 701-3.
- 86) Rubino FM, Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Colombi A. Influenza della distribuzione spazio-temporale della contaminazione da traffico veicolare sulla qualità dell'aria negli uffici. *Atti del 6° Convegno Nazionale "Inquinamento dell'Aria e Tecniche di Riduzione"*, Rubano (PD) 25-27 Novembre 1996.
 - 87) Rubino FM, Tavazzani M, Floridia L, Pellegrino O, Colombi A. Miglioramento della qualità dell'aria indoor e risparmio energetico nel condizionamento di grandi edifici terziari. *Atti del 3° Congresso Nazionale di Chimica Ambientale*, Gallipoli 24-26 Settembre 1997.
 - 88) Colombi A, Rubino FM. Qualità dell'aria negli ambienti adibiti ad attività terziarie: contaminanti biologici e loro derivati. *Atti del 16° Congresso Nazionale AIDII (Faenza-RA, 19-21 Giugno 1997) a cura di G.B.Bartolucci, D.Cottica, M.Imbriani, D.Sordelli. Le Collane della Fondazione S. Maugeri, IRCCS, I Documenti 14*, 63-68 (1997).
 - 89) Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Rubino FM, Colombi A. Misura della contaminazione delle superfici di lavoro nella preparazione ospedaliera di farmaci antineoplastici. *Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali"* Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 31-38 (2000).
 - 90) Rubino FM, Floridia L, Tavazzani M, Basilico S, Colombi A. Disseminazione indoor della contaminazione da farmaci antineoplastici in ambito ospedaliero. *Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali"* Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 39-50 (2000).
 - 91) Basilico S, Margonari M, Nava C, Petri A, Rubino FM, Floridia L, Occhipinti E, Colombi A. Tutela della salute degli operatori e monitoraggio ambientale dei farmaci antineoplastici in ambito ospedaliero. *Atti del Convegno Nazionale "Progressi nella valutazione del rischio espositivo a chemioterapici antitumorali"* Pavia, 14-15 Ottobre 1999 vol.5, 177-86 (2000).
 - 92) Rubino FM, Floridia L, Buratti M, Basilico S, Brambilla G, Colombi A. Il monitoraggio ambientale della contaminazione da farmaci antineoplastici nelle farmacie ospedaliere per la tutela della salute del personale sanitario. *Atti del 63° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Folia Medica 71(S1):81-86* (2000).
 - 93) Colombi A, Rubino FM, Giampiccolo R, Pulvirenti S, Brambilla G. The sensorial measurement of odor emission as a tool for the assessment of nuisance to workers and the neighbouring population. *Proceedings of the 27th International Congress on Occupational Health, Iguassu Falls (BR), February 23-28 2003*.
 - 94) Rubino FM, Verduci C, Giampiccolo R, Pulvirenti S, Brambilla G, Colombi A. Characterization of symmetrical and unsymmetrical oxidized bio-thiols by ESI and triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Atti del 22° Informal Meeting on Mass Spectrometry, Tokay (HU)*, 2-5 Maggio 2004.
 - 95) Rubino FM, Buratti M, Fustinoni S, Brambilla G, Colombi A. Is airborne urban particulate matter a long-term reservoir of polycyclic aromatic hydrocarbons? The incongruence of the inhaled pyrene-hydroxypyrene mass balance. *Atti del convegno: 'Dagli Amianti alle Nanoparticelle'* - Torino, 28-30 Giugno 2004.
 - 96) Brambilla G, Rubino FM, Pulvirenti S, Verduci C, Fustinoni S, Buratti M, Colombi A. Considerazioni sul ruolo dei coniugati mercurio-tiolic nella tossicità cardiovascolare del metallo. *Atti del 67° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Giorn It Med Lav Ergonom 26(Suppl.):33-34*.
 - 97) Colombi A, Rubino FM, Buratti M, Fustinoni S, Verduci C, Neri L, Brambilla G. Il metabonoma ed il metaboloma come indicatori di dose e di effetto nella moderna tossicologia industriale. *Atti del 67° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Giorn It Med Lav Ergonom 26(Suppl.):45-46*.
 - 98) Rubino FM, Verduci C, Buratti M, Fustinoni S, Neri L, Brambilla G, Colombi A. Indicatori di esposizione a idrocarburi aromatici policiclici: il paradosso pirene-idrossipirene. *Atti del 67° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Giorn It Med Lav Ergonom 26(Suppl.):98-99*.
 - 99) Scibetta L, Campo L, Mercadante R, Buratti M, Rubino FM, Colombi A, Foà V, Fustinoni S. Valutazione di MTBE urinario come indicatore biologico di esposizione a vapori di benzina e traffico autoveicolare. *Atti del 67° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale*, Sorrento, 8-11 Novembre 2000; *Giorn It Med Lav Ergonom 26(Suppl.):101-02*.
 - 100) Colombi A, Rubino FM, Giampiccolo R, Pulvirenti S, Verduci C, Pitton M, Papale A. [Application of olfactometric techniques to limit the olfactory nuisance caused by industrial plants with a high environmental impact.] *Prevenzione Oggi*, 1(2):59-94 (2005)
 - 101) Rubino FM, Pitton M, Brambilla G, Colombi A Human exposure to toxic metals through food staples and the use of biomass as fuel resource. *Atti del 16th International Congress of Agricultural Medicine and Rural Health (IAAMRH) Lodi (I), June 18-21 2006 p88*
 - 102) Rubino FM, Pitton M, Brambilla G, Colombi A A mechanism of selective heavy metal-induced oxidative stress by metal(II)-glutathione conjugates may explain the neurotoxicity of mercury. *Atti dell' International Workshop 'Neurotoxic metals: Lead, Mercury and Manganese: from research to prevention' Brescia (I) June 17-18 2006 P18*
 - 103) Colombi A, Rubino FM, Pitton M, Verduci C, Buratti M, Brambilla G. Human metabolism generates industrial chemicals with toxic and carcinogenic properties: an emerging challenge for occupational toxicology. *Atti 28th International Congress on Occupational Health Milano (I) June 11-16 2006 [ID1746]*
 - 104) Brambilla G, Rubino FM, Pitton M, Verduci C, Buratti M, Colombi A. Is airborne urban particulate matter a long-term reservoir of polycyclic aromatic hydrocarbons? The incongruence of the inhaled pyrene-hydroxypyrene mass balance. *Atti 28th International Congress on Occupational Health Milano (I) June 11-16 2006 ID1831*
 - 105) Rubino FM, Pitton M, Verduci C, Buratti M, Brambilla G, Colombi A Measurement of surface contamination from antineoplastic drugs and biological monitoring for assessment of the adequacy of preventive measures in oncologic hospital departments. *Atti 28th International Congress on Occupational Health Milano (I) June 11-16 2006 ID1833*
 - 106) Pitton M, Rubino FM, Giampiccolo R, Pulvirenti S, Colombi A The sensorial measurement of odor emission as a tool for the assessment of nuisance to workers and the neighbouring population. *Atti 28th International Congress on Occupational Health Milano (I) June 11-16 2006 ID1853*
 - 107) Rubino FM, Pitton M, Verduci C, Buratti M, Brambilla G, Colombi A Catalytic or stoichiometric oxidative stress: the different behaviour of thiol-binding heavy metals unveiled by mass spectrometry. *Atti 28th International Congress on Occupational Health Milano (I) June 11-16 2006 ID1668*
 - 108) Cavallo Delia, Ursini CL, Chianese C, Di Francesco A, Giglio M, Laurenza S, Colombi A, Rubino FM, Iavicoli S Evaluation of antineoplastic drugs genotoxicity in hospital nurses and pharmacy employees. *Atti 6th ICOH International Conference on Occupational Health for Healthcare Workers. Kitakyushu (J) October 7-10, 2004 in: Jour UOEH 28(S):179-83 (2006)*
 - 109) C. Colosio, F.M. Rubino, C. Somaruga, A. Colombi, G. Brambilla. What a rural GP knows and what should know on occupational health in agriculture. In: 16. International Congress on Agricultural Medicine and Rural Health : Building new tools for health promotion in rural areas. Lodi 2006. - pp. 10.
 - 110) Rubino FM, Pitton M, Caneva E, Brambilla G, Colombi A Mass Spectrometry and NMR study of thiol-disulfide redox equilibria in the glutathione metaboloma. *Atti 25th Informal Meeting on Mass Spectrometry Nyiregyhaza-Sosto (HU), May 6-10 2007 p.92*
 - 111) C. Colosio, E. Ariano, M. Carcano, A. Chiodini, S. Fustinoni, C. Somaruga, F. Travaglini, F. Vellere, F. M. Rubino, L. Settini, F. Toffoletto, G. Brambilla, A. Colombi. Preparation and validation of exposure and risk profiles for pesticide use in greenhouses. In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 180:suppl 1 (2008 Oct 05), pp. S26-S26.
 - 112) Di Fabio D, Rubino FM, Pitton M, Meroni G, Santaniello E, Caneva E, Pappini M, Colombi A, Maffei Facino R. Measurement of S-methylcysteine and S-methylmercapturic acid in urine by alkylchloroformate extractive derivatization and isotope-dilution GC-MS. *Atti 13th Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis Milano (I), September 9-12 2009 p.207*
 - 113) Rubino FM, Caneva E, Novembrino C, Vigna L, De Giuseppe R, Pellegatta M, de Liso F, Patrini L, Riboldi L, Colombi A, Mamonti L. Glutathionylated hemoglobin is a biomarker of oxidative stress in healthy heavy smokers. *Atti 13th Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis Milano (I), September 9-12 2009 p.205*
 - 114) Borgese L, Bontempi E, Vigna L, Depero LE, Pellegatta M, Patrini L, Rubino FM, Riboldi L. Use of Transmission X-Ray Fluorescence (TXRF) for the confirmation of heavy metal poisoning due to the improper use of a traditional Ayurvedic ailment. *Atti 13th Meeting on Recent Developments in Pharmaceutical Analysis Milano (I), September 9-12 2009 p.206*
 - 115) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino, G. Brambilla. Emerging health effects from pesticide exposure in Europe and in developing countries - In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 205:suppl. 1(2011 Aug 28), pp. S4-S4.
 - 116) F.M. Rubino, P. Imbrogno, B. Pesenti, G. Vianello, C. Colosio. Valutazione di rischio tossicologico in carenza di informazioni: contributo alla soluzione di un caso recente. *Atti Congresso SIMLII (Torino, 2011) TS02 G. Ital Med Lav. Ergon. 33(3):Suppl.2, 241-43 (2011)*
 - 117) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, E. Mrema, G. Rabozzi, R. Rizzo, F.M. Rubino, M. Sokooti, C. Somaruga, F. Vellere, R. Tabibi, G. Brambilla. Occupational health and safety in agriculture: current situation and objectives for the future. (Intervento presentato al 5. convegno Croatian Congress on Occupational Health tenutosi a Hvar nel 2011).
 - 118) S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino, L. Fugnoli, G. Vianello, G. Brambilla, C. Colosio. Exposure and risk profiles for a safe pesticide use in agriculture (Intervento presentato al 5. convegno Croatian congress on occupational health tenutosi a Hvar nel 2011).
 - 119) C. Colosio, F. Rubino, L. Fugnoli, S. Mandic-Rajcevic, G. Vianello, S. Fustinoni, E. Polledri, R. Mercadante, A. Moretto. Dermal exposure to the fungicide tebuconazole during application in vineyards. In:

- TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 211:suppl.(2012 Jun), pp. S172-S172.
- 120) C. Colosio, F.M. Rubino, L. Fugnoli, S. Mandic-Rajcevic, E.J. Mrema, G. Vianello, G. Brambilla. Risk assessment of pesticide use in agriculture is easier by integration of traditional monitoring approaches and new computational tools (30th International Congress on Occupational Health, Cancun, 2012).
 - 121) C. Colosio, F.M. Rubino, S. Mandic-Rajcevic, G. Brambilla. Diagnostic and exposure criteria for occupational diseases (30th International Congress on Occupational Health, Cancun, 2012)
 - 122) F.M. Rubino, G. Vianello, S. Mandic-Rajcevic, S. Fustinoni, A. Moretto, C. Colosio. Exposure to fungicides in vineyard cultivation: results from three ongoing Italian studies. (Health and Safety in Agriculture-Nordic and world-wide perspectives, Ystad, 2012).
 - 123) S. Fustinoni, R. Mercadante, E. Polledri, F. Rubino, C. Colosio, A. Moretto. Biomonitoring human exposure to tebuconazole. In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 211:suppl.(2012 Jun 17), pp. S51-S51. (48th Congress of the European-Societies-of-Toxicology (EUROTOX), Stockholm, 2012.
 - 124) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, G. Vianello, E. Ariano, F.M. Rubino. Definition of AOEL-based provisional BEIs for pesticide exposure monitoring: a proposed approach for the protection of farmer's health / - In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 221:Suppl.(2013 Sep 01), pp. S33-S33.
 - 125) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, G. Vianello, E. Ariano, F.M. Rubino. Definition of AOEL-based provisional BEIs for pesticide exposure monitoring: a proposed approach for the protection of farmers' health (49th Eurotox, Interlaken, 2013).
 - 126) F.M. Rubino, P. Signorelli, J.S. Lazarevic, R. Paroni. Characterization of Myricoin and some derivatives by electrospray and qtrap mass spectrometry. (8th MS-Pharmaday : Complex substances for Botanical Drugs, Herbal Medicinal Products, Medical Devices, Medical Foods, Sansepolcro, 2014).
 - 127) F. M. Rubino, J. Antognetti, G. Campisi, J. Rizzo, M. Iriti, R. Paroni. Comportamento inatteso della melatonina e di suoi analoghi come molecole protonate in ESI: studio spettroscopico e conseguenze analitiche. (40th Convegno HPLC-MS e FT-MS: stato dell'arte, novità, innovazione e strumentazione, Milano, 2014).
 - 128) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino. A prototype algorithm to calculate Health-based occupational exposure limits for a safe use of pesticides. In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 238(2S):28(2015 Sep 15), pp. S04-2.S19-S04-2.S20.
 - 129) F. Rubino, S. Mandic-Rajcevic, C. Colosio. Biological Monitoring for Pesticide Risk Assessment in Farmers and Rural Population with a Tiered Protocol. In: Proceedings International Congress on Rural Health & International Conference Ragusa SHWA / [a cura di] C. Colosio, G. Schillaci, T. Pekez Pavlisko, H.J. Hannich, J. Takala. - [s.l.] : International Congress on Rural Health (ICRH), 2015 Sep. - ISBN 9788894120707.
 - 130) S. Fustinoni, R. Mercadante, E. Polledri, F.M. Rubino, S. Mandic-Rajcevic, C. Colosio, A. Moretto. Urine and hair specimens for biomonitoring short and long term penconazole exposure. In: Proceedings International Congress on Rural Health & International Conference Ragusa SHWA / [a cura di] C. Colosio, G. Schillaci, T. Pekez Pavlisko, H.J. Hannich, J. Takala. - [s.l.] : International Congress on Rural Health (ICRH), 2015 Sep. - ISBN 9788894120707.
 - 131) S. Mandic-Rajcevic, F. Rubino, C. Colosio. From Field Studies to Scenario-Based Risk Assessment: an Online Pesticide Risk Assessment Platform. In: Proceedings International Congress on Rural Health & International Conference Ragusa SHWA / [a cura di] C. Colosio, G. Schillaci, T. Pekez Pavlisko, H.J. Hannich, J. Takala. - [s.l.] : International Congress on Rural Health (ICRH), 2015 Sep. - ISBN 9788894120707.
 - 132) S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino, M. Matte, C. Colosio. Using urine ETU levels as an indicator of risk from Mancozeb exposure in vineyard applicators. In: TOXICOLOGY LETTERS. - ISSN 0378-4274. - 238:2 20suppl.(2015 Oct 16), pp. S110-S110.
 - 133) F.M. Rubino, G. Campisi, J. Rizzo, J. Antognetti, R. Paroni. Scansioni MS/MS isoenergetiche dei precursori: proof-of-principle nell'analisi del ceramidoma. (Convegno Dagli ioni metastabili (1945) alle tecniche MSn: stato dell'arte, novità innovazione e strumentazione, Roma, 2015).
 - 134) G.M. Campisi, J. Rizzo, P. Signorelli, F. Bonezzi, A. Caretti, R. Ghidoni, F.M. Rubino, R. Paroni. Measurement of ceramide species in different biological models by LC-MS/MS. (XII Sphingolipid Club Meeting and SLC Advanced Course, Trabia, Sicily, Italy Hotel Torre Artale, 2017).
 - 135) F.M. Rubino, G.M. Campisi, R. Paroni. Semiquantitative discovery of ceramides by isoenergetic precursor ion scan in the triple quadrupole mass spectrometer: fundamental issues and proof-of-principle application (XII Sphingolipid Club Meeting and SLC Advanced Course, Trabia, 2017).
 - 136) R. Mercadante, E. Polledri, F.M. Rubino, S. Mandic-Rajcevic, C. Colosio, A. Moretto, S. Fustinoni - Biomonitoring long and short term exposure to penconazole using hair and urine specimens In: Abstract Book of the 10th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational and Environmental Health (ISBM-10) / R. Mercadante, E. Polledri, F.M. Rubino, S. Mandic-Rajcevic, C. Colosio, A. Moretto, S. Fustinoni. - [s.l.]: M. Manno, 2017 Sep 28. - pp. 43-43.
 - 137) C. Colosio, F.M. Rubino. La durata dell'esposizione: informazione negligita nella valutazione del rischio da pesticidi / (18th SITOX Bologna 2018)
 - 138) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, F. Rubino. From Pre-marketing Studies and Authorization Dossiers to New Prospects for Pesticide Risk Assessment in Rural Enterprises. In: Book of Abstracts / [a cura di] V. Matović. - Beograd : Serbian Society of Toxicology, 2018 Apr 20. - ISBN 9788691786717. - pp. 8-9.
 - 139) C. Colosio, S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino. Introduction to Pesticide Exposure Monitoring, Practical Guidance, and Perspectives / - In: Book of Abstracts / [a cura di] V. Matović. - Beograd : Serbian Society of Toxicology, 2018 Apr 20. - ISBN 9788691786717. - pp. 16-17.
 - 140) S. Mandic-Rajcevic, F.M. Rubino, E. Ariano, D. Cottica, S. Negri, C. Colosio, M. Marini. Improving risk assessment of vineyard mancozeb applicators by integrating environmental and biological monitoring results / In: Abstract Book of the 10th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational and Environmental Health (ISBM-10) / S. Mandic-Rajcevic; F.M. Rubino, E. Ariano, D. Cottica; S. Negri; C. Colosio. - [s.l.] : M. Manno and D.L. Cioffi, 2018 Sep 28. - pp. 67-67.
 - 141) R. Paroni, M. Deicas, J. Rizzo, F. Calvi, G. Mistraretti, M. Samaja, M. Iriti, F.M. Rubino. Metodo UPLC-MS-MS con diluizione isotopica per l'analisi di melatonina, triptofano e metaboliti indolici correlati: applicazioni pilota a matrici complesse di origini vegetale ed umana. (2^o Seminario di Spettrometria di Massa Dipartimento di Chimica UNITECH COSPECT, Milano, 2018)
 - 142) F.M. Rubino. Decomposizione di ioni precursore mediante collisione in condizioni iso-energetiche: aspetti teorici e applicazioni proof-of-principle nelle tecnologie di analisi "omica". (2^o Seminario di Spettrometria di Massa Dipartimento di Chimica UNITECH COSPECT, Milano, 2018).
 - 143) J. Rizzo, M. Dei Cas, F.M. Rubino, R.C. Paroni. Pharmacokinetics and bioavailability of different acetylsalicylic acid formulations assessed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in healthy subjects. In: XXII International Mass Spectrometry Conference : abstract book. G. Giorgi. - International Mass Spectrometry Foundation, 2018 Nov. - ISBN 9788890738852. - pp. 392-393.
 - 144) F.M. Rubino, M. Dei Cas, J. Rizzo, P. Signorelli, R. Ghidoni, R.C. Paroni. Ceramidome plasticity through iso-energetic precursor and neutral loss discovery scans In: XXII International Mass Spectrometry Conference: abstract book. G. Giorgi. - International Mass Spectrometry Foundation, 2018 Nov. - ISBN 9788890738852. - pp. 1138-1139.
 - 145) F.M. Rubino, M. Dei Cas, J. Rizzo, A. Penoni, M. Iriti, R.C. Paroni. Indolome analysis for nutraceutical and physiological studies. In: XXII International Mass Spectrometry Conference, abstract book. G. Giorgi. - International Mass Spectrometry Foundation, 2018 Nov. - ISBN 9788890738852. - pp. 739-740.
 - 146) M. Dei Cas, F.M. Rubino, J. Rizzo, P. Signorelli, E. Strettoi, C. Platania, C. Bucolo, R. Pignatello, R. Ghidoni, R.C. Paroni. Pharmacokinetic of myricoin in rabbit's eyes. In: XXII International Mass Spectrometry Conference, abstract book. G. Giorgi. - International Mass Spectrometry Foundation, 2018 Nov. - ISBN 9788890738852. - pp. 374-375.
 - 147) Federico Rubino, S. Mandic-Rajcevic, E. Ariano, Fagnoli, V. Laurendi, M. Lombardi, D. Puri and Claudio Colosio. The PESTIRISK tool for personal planning of pesticide safe use by field users: concept and development. In: Atti del 33rd International Congress on Occupational Health – ICOH 2022 (Melbourne-Rome Global Digital Congress, 6-10 Feb 2022) Saf Health Work 2022;13:S1eS86.

C) VARIE.

C.1) CAPITOLI DI LIBRI.

- 148) Colombi A, Rubino FM, Basilico S, Manno M: Elementi di Tossicologia Industriale in: Alessio L, Apostoli P (Eds.) Manuale di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale per Tecnici della Prevenzione; Piccin(Milano) 2010; pp.89-115.
- 149) Colombi A, Rubino FM, Basilico S. *Solventi Industriali* in: Alessio L, Apostoli P (Eds.) Manuale di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale per Tecnici della Prevenzione; Piccin (Milano) 2010; pp. 145-160.
- 150) Mrema Ezra J., Rubino Federico M., Colosio Claudio *Obsolete Pesticides – A Threat to Environment, Biodiversity and Human Health*. L.I. Simeonov et al. (eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security, DOI 10.1007/978-94-007-6461-3_1, © Springer Science+Business Media Dordrecht 2013
- 151) Mandic-Rajcevic Stefan, Rubino Federico M., Colosio Claudio. *General Approaches and Procedures for Pesticide Legislation*. L.I. Simeonov et al. (eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security, DOI 10.1007/978-94-007-6461-3_39, © Springer Science+Business Media Dordrecht 2013
- 152) Rubino Federico M., Mandic-Rajcevic Stefan, Mrema Ezra J., Colosio Claudio. *Principles and Application of the Integrated Pest Management Approach. Biological Pesticides*. L.I. Simeonov et al. (eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security, DOI 10.1007/978-94-007-6461-3_37, © Springer Science+Business Media Dordrecht 2013
- 153) Società Italiana di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale. Linee Guida: LA SORVEGLIANZA SANITARIA IN AGRICOLTURA. Cap. 4.1 II

- rischio chimico. Pp. 71-110; P. Apostoli, P. A. Bertazzi, M. Imbriani, L. Soleo, F. Violante (Eds.), C. Colosio (Coord.) Nuova Editrice Berti (2013).
- 154) Rubino F.M., Mrema E.J., and Colosio C. (2014) Pesticide Residues: Dithiocarbamates. In: Motarjemi Y. (ed.) *Encyclopedia of Food Safety*, Volume 3, pp. 5-10. Waltham, MA: Academic Press.
 - 155) Rubino F.M., Mrema E.J., and Colosio C. (2014) Pesticide Residues: Organochlorines. In: Motarjemi Y. (ed.) *Encyclopedia of Food Safety*, Volume 3, pp. 23-30 Waltham, MA: Academic Press.
 - 156) C. Colosio, F. Rubino. Agricoltura e zootecnia. In: Schede tecniche e rischi per la salute. [a cura di] F. Tomei, S.M. Candura. Padova Piccin, 2015. ISBN 9788829927593. pp. 39-50.
 - 157) C. Colosio, F. M. Rubino. Composti Organici: prodotti fitosanitari. In: Trattato di Medicina del Lavoro / Oltre 100 autori dei diversi capitoli ; [a cura di] L. Alessio, G. Franco, F. Tomei. - Padova : Piccin, 2015 May 02. - ISBN 978-88-299-2708-1. - pp. 965-985.
 - 158) Mandic-Rajcevic Stefan, Rubino Federico M., Colosio Claudio. *Exposure and Risk Profiles: From field studies to typical exposure and risk scenarios*. In: *Exposure and Risk Assessment of Pesticide Use in Agriculture*. (Stefan Mandic-Rajcevic et al, Eds.) (2021) Elsevier (<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-812466-6.00010-5>)
 - 159) Mandic-Rajcevic Stefan, Rubino Federico M., Colosio Claudio. *Definition and establishment of biological exposure limits of pesticides for the interpretation of biological monitoring data*. In: *Exposure and Risk Assessment of Pesticide Use in Agriculture*. (Elsevier (2021)
 - 160) Rubino Federico M., Mandic-Rajcevic Stefan, Colosio Claudio. Pesticides. in: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons (2020) DOI: 10.1002/0471238961.1605192012051407.a01.pub3
 - 161) ILO. Diagnostic and exposure criteria for occupational diseases – Guidance notes for diagnosis and prevention of the diseases in the ILO List of Occupational Diseases (revised 2010) (Eds. Shengli Niu, Claudio Colosio, Michele Carugno, Anil Adisesh), Geneva, 2022.

C.2) TRADUZIONI.

- 162) Djerassi C: 'Cantor's Dilemma' (Penguin, 1988). Traduzione italiana, note e nota finale: 'Il Dilemma di Cantor', (Di Renzo, Roma, 2003)

C.3) RECENSIONI.

- 163) [Rubino FM; s.i.a.]: Se Non Ora, Quando? di P. Levi (Einaudi, Torino 1982) in: *La Martinella di Milano* XXXVII(I-II):53-54 (1983).
- 164) Rubino FM e Colombi A: Mezzanotte e cinque a Bhopal, di D.Lapierre e J.Moro (trad. it. Mondadori, 2001) in: *"La Medicina del Lavoro*, **93**(1):126-27 (2002).
- 165) Colombi A e Rubino FM: Permissible Dose: a history of radiation protection in the twentieth century, di J. Samuel Walker (University of California Press, 2000) in: *"La Medicina del Lavoro*, **94**(3):334-36 (2003).
- 166) Colombi A e Rubino FM: Omaggio a Gaia. La vita di uno scienziato indipendente, di J Lovelock (trad. it. Bollati Boringhieri, 2002) in: *La Medicina del Lavoro*, **95**(4):331-33 (2004).
- 167) Colombi A e Rubino FM: Venomous Earth. How arsenic caused the world's worst mass poisoning, di A.A.Maharg in: *La Medicina del Lavoro*, **96**(5):459-61 (2005).
- 168) Rubino FM e Colombi A: The ILO and the Quest for Social Justice 1919-2009, di G.Rodgers, E.Lee, L.Slepston, J.Van Daele (ILO, Geneve 2009) in: *La Medicina del Lavoro*, **101**(2): bozze s.i.p. (2010).

C.4) ALTRI CONTRIBUTI.

- 169) Rubino FM, Somaruga C, Colosio C: Prevenzione e diagnosi delle malattie professionali: la collaborazione tra Università degli Studi di Milano e Ufficio Internazionale del Lavoro (ILO) in: *La Medicina del Lavoro*, **101**(2):s.i.p. (2010).
- 170) F.M. Rubino. Private Words Addressed in Public: Carl Djerassi's poetry at the science-to-humanities interface. In: *The SciArtist : Carl Djerassi's Science-in-Literature in Transatlantic and Interdisciplinary Contexts*. W. Grünzweig. Berlin: LIT Verlag, 2012. - ISBN 9783643902313. - pp. 157-167 (convegno Transnational and Transatlantic American Studies: Carl Djerassi's Science-in-Literature in Transatlantic and Interdisciplinary Contexts tenutosi a Dortmund nel 2009).
- 171) Rubino, F. M. (2018). The "Bitul B'shishim (one part in sixty)": is a Jewish conditional prohibition of the Talmud the oldest-known testimony of quantitative analytical chemistry?. *Substantia*, 2(1), 103-119. <https://doi.org/10.13128/Substantia-44>

ATTIVITA' E LINEE DI RICERCA (in sintesi)

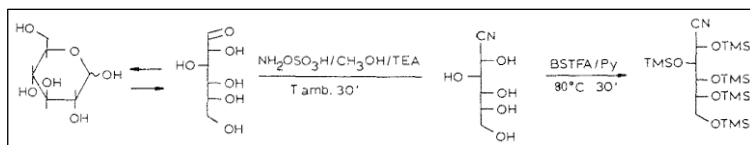
Questa rassegna descrive, necessariamente in forma breve, alcune delle principali attività di ricerca cui, in un abbondante trentennio di attività professionale da Chimico, ho partecipato a vari livelli, in funzione delle richieste, che mi venivano di volta in volta rivolte, di lavoro quale Chimico analista, di gestione e di pianificazione, e della mia possibilità di svolgere, in esse, attività di ricerca originale e indipendente. I riferimenti bibliografici sono fatti all'elenco generale delle mie pubblicazioni, aggiornato al 21 Aprile 2022 e alla loro numerazione progressiva in esso.

Il complesso delle attività di ricerca e di servizio svolte nel corso di ormai più di trentacinque anni ha condotto alla pubblicazione di oltre 170 pubblicazioni, tra cui 77 memorie scientifiche originali a stampa, comparse nella letteratura internazionale sottoposta a "peer review", capitoli di libri e monografie collettanee, presentazioni in atti di congressi scientifici nazionali e internazionali, recensioni di libri, la traduzione dall'Inglese di un romanzo di *science-in-fiction*. La quasi totalità delle pubblicazioni prodotte è disponibile, per lo più liberamente *in toto*, nella banca-dati AIR accessibile *on-line*. Dal punto di vista scientometrico, la produzione scientifica corrisponde a un Impact Factor complessivo di circa 190, con un numero totale di citazioni, desunto da numerose banche-dati complementari (SciFinder del Chemical Abstract Service, Web of Science, ResearchGate, Publons) e depurate dalle auto-citazioni di tutti i coautori, pari a circa 1158-1128 (SciFinder-CAS; Web of Science) corrispondente a un valore dell'indice di Hirsch (H-index) compreso tra 17 (SciFinder, WoS) e 18 (Scopus), in funzione della banca dati impiegata, e adottando il metodo dello scarto automatico delle autocitazioni e l'esclusione delle citazioni identificate da parte di altri coautori.

Dal Marzo 1985 al Giugno 1988. Dopo la Laurea (Marzo 1985; familiarizzazione con l'operatività su un moderno spettrometro di massa VG-7070 EQ-HF per ricerca chimica e biochimica), dal Maggio 1986, quale ricercatore borsista della Fondazione Centro S. Romanello (Ospedale San Raffaele, Milano): gestione di un sistema GC-MS informatizzato Finnigan-4000; messa a punto di metodi analitici per la misura di metaboliti solubili (zuccheri, amminoacidi) in matrici biologiche umane.

Caratterizzazione di oligo-peptidi mediante ionizzazione FAB e spettrometria di massa tandem su uno strumento magnetico: predizione degli ioni-sequenza sulla base della sequenza amminoacidica, con un programma in BASIC su Commodore64 [1,2,4,7,22]. Un metodo HPLC con derivatizzazione pre-colonna (derivato dietilammino-Sanger, oggi non più disponibile in quanto il reagente è un sensibilizzante ritenuto ancor più potente del 2,4-DNCB) per l'analisi di amminoacidi plasmatici e urinari e di idrolizzati proteici [3]. Studi di spettrometria di massa strutturale su sostanze organiche complesse, tra cui farmaci e loro metaboliti (analoghi dello

spiroperidol) [5]. Il primo articolo da me prodotto in autonomia: una procedura innovativa di derivatizzazione di monosaccaridi riducenti ai corrispondenti aldonitrili sililati (unico picco cromatografico) per l'analisi GC-MS [6; schema di derivatizzazione a destra].



Dal Gennaio 1988 al Settembre 1989. Quale ricercatore ospite e professore a contratto di chimica organica per scienze biologiche del Dipartimento di Chimica dell'Università della Calabria (Arcavacata di Rende, CS): studi di spettrometria di massa su sostanze organiche complesse di origine sintetica e naturale.

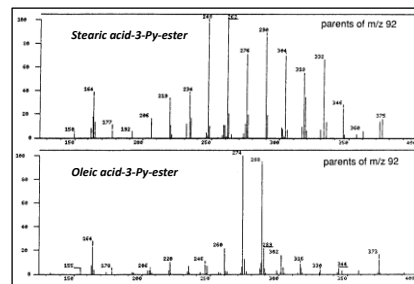
Studi di spettrometria di massa su sostanze organiche complesse di origine sintetica e naturale: studio della reattività in fase gas di metallo-porfirine di Mn e Fe, quali modelli bio-mimetici dei citocromi P450 [8]; flumazenil e analoghi: isomerizzazione e decomposizione di ioni distonici [9]; piranocumarine emolitiche: decomposizione di ioni a doppia carica positiva [19].

Dal Gennaio 1989 al Dicembre 1993. Quale ricercatore ex-art 36 del Consiglio Nazionale delle Ricerche presso l'Istituto di Tecnologie Biomediche Avanzate di Milano: organizzazione e gestione di un laboratorio di spettrometria di massa, modernamente equipaggiato con il primo strumento a triplo quadrupolo installato in Italia (Finnigan TSQ70 in configurazione GC-MS) e con uno spettrometro di massa magnetico ad alta risoluzione (Finnigan MAT90 con sorgente FAB). Nel 1992 sono stato il primo autore italiano a pubblicare articoli nel Journal of the American Society for Mass Spectrometry, da allora la più autorevole rivista del settore.

Studi di spettrometria di massa strutturale su sostanze organiche complesse di origine sintetica e naturale, tra cui: farmaci e loro metaboliti (flumazenil e analoghi, diclofenac e metaboliti [13], analoghi della fisostigmina [12], acido spaglumico e analoghi [14], piranocumarine emolitiche [19]); analisi della composizione oligomerica di preparazioni di poli-isoprene [28]; studio della reattività in fase gas di metallo-porfirine quali modelli bio-mimetici dei citocromi P450 [24-26]; i primi articoli di autori italiani nel Journal of the American Society for Mass Spectrometry [24,25].

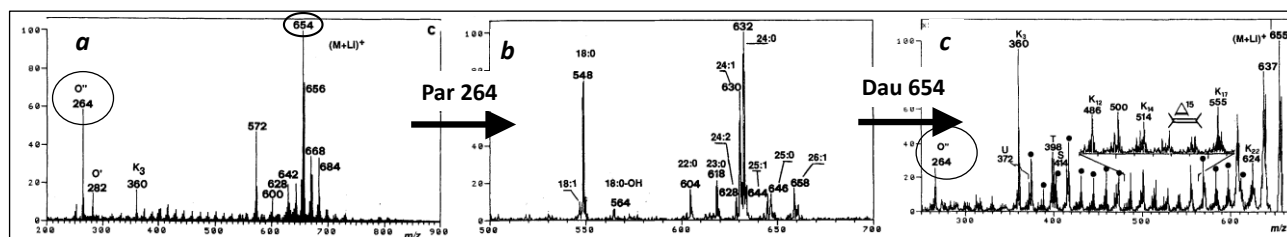
Messa a punto di metodi analitici per la ricerca e la misura di componenti endogeni di interesse biochimico e biomedico, tra cui il primo metodo analitico per la caratterizzazione qualitativa e semi-quantitativa di sfingosine [21], ceramidi [27] e glico-sfingolipidi [16,17]; metodi lipidomici per l'identificazione strutturale di acidi grassi a struttura inusuale mediante derivatizzazione di Harvey [18,20]; entrambi con l'uso della spettrometria di massa tandem, e con un approccio di "spettroscopia degli ioni precursore" oggi classificabile come tecnica "omica".

La derivatizzazione "di Harvey" dei composti lipidici a derivati 3-piridinici (esteri dell'acido nicotinico, del 3-piridin-carbinolo, della 3-nicotinaldeide) consente, attraverso la frammentazione in spettrometria di massa a ionizzazione elettronica, di definire, senza necessità del confronto con composti standard, la posizione di doppi legami, gruppi metilici in ramificazione e di altre modificazioni della catena polimetilenica, sia attraverso gli spettri "in sorgente", sia degli spettri "precursore" di frammenti della porzione piridinica derivatizzante (Figura a lato, pannello superiore [18]), che mostrano, nel caso della catena polimetilenica completamente satura, una schiera di frammenti ionici provenienti dalla regolare frammentazione del capostipite ionizzato. Quando tuttavia è presente un'interruzione della regolarità, hanno luogo modifiche dello spettro prevedibili a priori, con la comparsa di ioni che definiscono la posizione del doppio legame (Figura a lato, pannello inferiore [18]), mentre la presenza di gruppi metilici in ramificazione comporta la "sparizione" del segnale nella posizione corrispondente della catena alchilica. Una limitazione allora presente, e che ha sfavorito l'impiego della tecnica, è la procedura di derivatizzazione, che richiede l'idrolisi preliminare dei lipidi complessi, cui si aggiunge la difficoltà di eluire in gas-cromatografia i derivati, che risultano notevolmente meno volatili dei classici FAME. Un aspetto allora innovativo fu la possibilità di usare, per la condensazione, un agente, il carbonil-diimidazolo, notevolmente più sicuro, sul piano operativo e della sicurezza tossicologica, rispetto alle alternative disponibili, ovvero il cloruro di tionile o di fosforile, oppure la carbodiimide, già allora nota come un temibile agente sensibilizzante.



Per l'analisi molecolare dei ceramidi, che comportava la richiesta di caratterizzare ciascun componente presente, identificandone i principali aspetti strutturali e successivamente stimandone la presenza nella miscela, adottai, su uno strumento a triplo quadrupolo, l'approccio allora innovativo e tuttora adottato per l'analisi di componenti appartenenti a una classe chimica specifica presenti in miscele complesse. Nello spettro "in sorgente" (Figura, pannello a sinistra, a), i componenti di interesse possono essere minoritari, specialmente se presenti in misura ridotta, e risultare poco o del tutto non evidenziabili. Selezionando, sulla base della conoscenza della frammentazione, un segnale prodotto da una sottostruttura comune nella classe (ione precursore comune, o "pivot", nel caso il frammento a m/z 264), è possibile ottimizzare le condizioni per l'esecuzione di un esperimento di rivelazione selettiva dei precursori ionici (pannello intermedio b) nel quale emergono "tutti" (in linea di principio, e in funzione della sensibilità dello strumento) e "solamente" (ancora in linea di principio, e in funzione della specificità del frammento pivot e dell'assenza di interferenze grossolane e inattese; v. [72]) i segnali molecolari dei prodotti di interesse. La richiesta presentava la necessità di caratterizzare le modificazioni rispettivamente presenti nelle catene alchiliche delle porzioni sfingosinica (risultata allora costituita dalla sola sfingosina) e acilica, consistente in acidi grassi a catena di varie lunghezze e recante insaturazioni in posizioni disperate. In questo caso, per affrontare e risolvere il problema (pannello a destra, c), ho fatto uso della tecnica di frammentazione "elettrociclica a carica remota" ad alta energia

di precursori ionici litiati (“tecnica di Gross”), allora disponibile solamente sugli spettrometri di massa tandem magnetici, e ora accessibile sugli spettrometri MALDI-ToF-ToF, quale quello disponibile presso la struttura COSPECT di ateneo, e del quale sono operatore autorizzato.



La “frammentazione elettrociclica a carica remota” (CREF) è un processo di frammentazione per collisione “ad alta energia” (> 4 kV) su un gas bersaglio “piccolo” (in genere, He) in composti che possono essere ionizzati in fase gas come specie elettroni-pari (gruppo carbossilato, sale di alchilammonio o fosfonio quaternario, cationizzazione, ...), e che non contengono gruppi suscettibili di frammentazione con energie di attivazione inferiori a 1,5-2 eV: in genere, sono composti poco funzionalizzati e con estesi gruppi alchilici, come i lipidi, o carbociclici, come gli steroidi. La CREF è una via di frammentazione a bassa efficienza, nelle quali la catena polimetilenica deve assumere una conformazione “a 6 membri” tanto obbligata quanto poco frequente, che dà luogo a un processo elettrociclico [2+2+2] di riarrangiamento intramolecolare, con produzione di due molecole neutre, Idrogeno molecolare e un’olefina terminale, e un frammento ionico (ancora l’olefina terminale complementare), la cui carica elettrica è costituita dal centro carico, che non ha partecipato alla reazione. Nel caso in cui la modifica nella catena polimetilenica sia costituita da un doppio legame olefinico, la regolare frammentazione risulta inibita, e dalla posizione dell’interruzione nella schiera regolare di ioni frammento è possibile determinare, anche in questo caso in modo inequivoco e in assenza di composti standard di riferimento, la posizione del doppio legame. Nell’analisi strutturale lipidica, di conseguenza, le tecniche “di Harvey” e “di Gross” risultano di impiego complementare.

La strategia complessiva che, in spettrometria di massa, fa uso delle modalità di ricerca sequenziale degli ioni precursore, e di successiva caratterizzazione dei singoli precursori per spettroscopia degli ioni prodotto, è tuttora la modalità operativa adottata nelle applicazioni “omiche” per la ricerca globale dei prodotti di biotrasformazione delle sostanze xenobiotiche come classi di metaboliti coniugati (glucuronidi, solfati, mercapturati, ...) nella farmacologia industriale, come tappa conoscitiva preliminare agli studi ADME.

Identificazione del 3° caso in Italia di variante emoglobinica Abruzzo (143(H21)Arg>His) mediante analisi in toto del digerito triptico con ionizzazione Fast Atom Bombardment e spettrometria di massa tandem in triplo quadrupolo [23]; verifica dell’identità della porzione ciclica dell’analogo carbo-calcitonina (Turbocalcin) [14].

Dal Gennaio 1994 al Dicembre 2000. Quale Chimico Dirigente di 1° livello del Centro di Medicina Occupazionale e di Comunità (CeMOC), da ultimo dell’A.O. Istituti Clinici di Perfezionamento di Milano: pianificazione, esecuzione e relazione di indagini di valutazione del rischio da esposizione ad agenti chimici (“Rischio Chimico”) negli ambienti di vita e di lavoro. L’attività comportava la messa a punto di metodi analitici originali per la misura di contaminanti chimici non convenzionali e il loro impiego in campagne di studio per la prevenzione dei rischi per la popolazione professionale e generale.

La transizione da “scienziato di Stato” (sarcastica definizione del ricercatore CNR da parte di un ben salmastro e stagionato collega) a Chimico nei ruoli della Sanità, inevitabile per circostanze diverse, segnò il mio ingresso (inatteso e non deliberatamente ricercato, ma non sgradito, e forse rispondente a un non inconsapevole desiderio) nel settore professionale della gestione dei rischi negli ambienti di lavoro, proprio nell’anno in cui veniva promulgato il primo provvedimento legislativo organico in merito, il D.Lvo 626/94, e a questa circostanza, ovvero alla necessità di “gestire il rischio chimico”, era legata la mia assunzione presso la struttura operativa. Considerando, retrospettivamente, che dal 2018 (“Legge Lorenzin”) la professione di Chimico è stata inserita tra le professioni sanitarie, quanto mi accadde nel 1994 si sarebbe rivelato profetico dello sviluppo futuro della nostra professione.

In maggioranza, le attività svolte quale Chimico nei ruoli della Sanità e, successivamente, quale Tecnico laureato universitario nelle strutture della Scuola di Medicina, hanno richiesto la mia applicazione professionale in contesti del tutto inconsueti in funzione dei miei (nostri) studi e delle mie precedenti attività di ricerca. Il ruolo professionale del Chimico analista, limitato all’esecuzione e alla verifica dei risultati analitici e, quale vertice di creatività professionale, all’occasionale messa a punto o adattamento di metodi analitici a richiesta degli utilizzatori dei risultati finali, è andato, gradualmente ma velocemente, a ridursi nel tempo, in conseguenza della riduzione della richiesta di prestazioni, del conseguente calo nel numero di Laboratori analitici e della scelta di esternalizzarne

in misura ampia le funzioni, della sostituzione progressiva con valutazioni congetturali basate sull'impiego di modelli di calcolo empirici, di quelle risultanti dalle misure analitiche.

Per contro, anche a fronte dell'abbandono progressivo, ma sempre parziale, dell'attività di laboratorio analitico, la mia cultura professionale da Chimico, e in particolare da Chimico analista "professionista delle misure e dei numeri", ha consentito di inserirmi in modo progressivamente più propositivo in attività per lo più inattese, inconsuete, estemporanee, nelle quali, in modo altrettanto inatteso (e raramente scervo da occasioni di conflitto professionale e di rivalità personale), il "modo di pensare chimico" ha reso possibile osservare problemi altrui in modo, per i miei inevitabili interlocutori, del tutto anomalo, ma portatore di soluzioni rigorose nella confusione e razionali nell'approssimazione.

Un versante del tutto inconsueto, considerando la mia provenienza dalla "ricerca" condotta nell'ambiente protetto delle istituzioni pubbliche dedicate, mi si presentò per il coinvolgimento nelle attività di "comunicazione e formazione" del rischio chimico, svolte dal mio Ente, e che erano rivolte, ai sensi del 626/94 e della vocazione istituzionale del CeMOC, ai Lavoratori dei comparti produttivi e dei servizi apparentemente modesti e marginali, considerati assai lontani, per scolarità, cultura, attese, dalla mia formazione e da quello che, fino ad allora, avevo considerato il mio ambito professionale. Ben più delle occasioni di didattica nel Diploma Universitario per Infermieri, i moduli formativi sul rischio chimico offerti a lavoratori manuali di numerosi settori (panificatori, parrucchieri e operatori cimiteriali, per ricordare solo le avventure più memorabili), nei quali mi erano assegnati solo spazi rigidamente ristretti, mi hanno obbligato a riflettere sul modo di comunicare gli aspetti essenziali di necessario interesse per gli interlocutori, in uno sforzo non facile di umiltà intellettuale.

Anche sul piano tecnico, ciascuno dei problemi che ho affrontato, e che mi accingo a descrivere, possiede un retroterra culturale spesso complesso, che ho dovuto acquisire insieme al suo linguaggio specifico e alla sua "passione (polemica) interna", per potervi contribuire, non di rado persino con soddisfazione dei miei sistematicamente scettici interlocutori. Ciascuna delle avventure "nasceva prima di me", sotto scenari che mi venivano sommariamente, e spesso con reticenza, spiegati, o che si lasciava che capissi da solo, preda sistematica di "gaffes" talvolta nemmeno esilaranti. Sono stati, in genere, minuti problemi "di nicchia", che tendevano a planare sul mio tavolo, molto più che sul mio bancone e dentro i miei strumenti, già abbandonati al loro destino irrisolti e, spesso, bisognosi di soluzione, per ieri.

"Nulla pareva per loro troppo basso, né troppo elevato. Servir gli infimi, ed esser servito dai potenti, entrar nei palazzi e nei tuguri, con lo stesso contegno d'umiltà e di sicurezza, esser talvolta, nella stessa casa un soggetto di passatempo e un personaggio senza il quale non si decideva nulla, chieder l'elemosina per tutto, e farla a tutti quelli che la chiedevano al convento, a tutto era avvezzo un cappuccino"

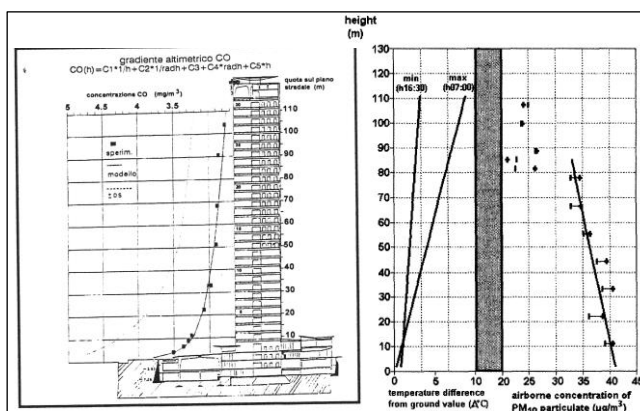
Spiegarne al lettore comprensivo il complicato contesto aiuta a immaginare come ho dovuto articolare, di volta in volta, apparenti banalità operative o soluzioni tecniche originali e addirittura uniche, bassa routine e incursioni piratesche fuori dalla mia strada battuta, il senso di esercizi diligenti e dell'esigenza di non trasformarmi, passivo, in un distributore automatico di numeri, ottuso e con bottoniera incorporata, in un alternarsi di felici successi, di problemi risolti e archiviati, di promettenti inizi abbandonati, del rammarico persistente, perché, più spesso di quanto non sia io capace di rassegnarmi, "mancò la fortuna, non il valore".

Studi di igienicità degli spazi confinati a destinazione terziaria (uffici) e sanitaria (ospedali) posti in area urbane e del nesso delle condizioni di qualità dell'aria indoor con la collocazione urbanistica degli immobili, l'affollamento, le sorgenti interne di produzione di inquinanti metabolici (anidride carbonica), la presenza di impianti di climato-ventilazione, la presenza di aeroallergeni nell'aria degli ambienti d'ufficio e di lavoro [31]. Le ricerche hanno richiesto di mettere a punto strategie di impiego di un misuratore automatizzato di contaminanti aerodispersi basato sulla spettroscopia infrarossa con filtri interferenziali e rivelazione fotoacustica (Briel&Kjaer 3100) e capace di misure seriate nel tempo e di campionare 6 posizioni diverse, ciascuna ogni 15 minuti circa.

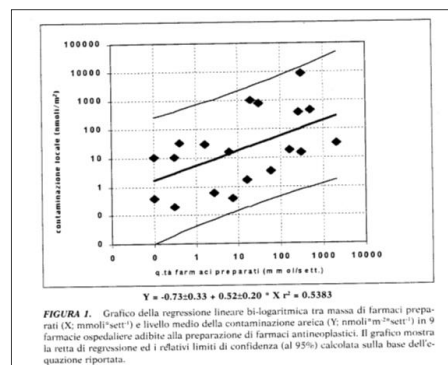
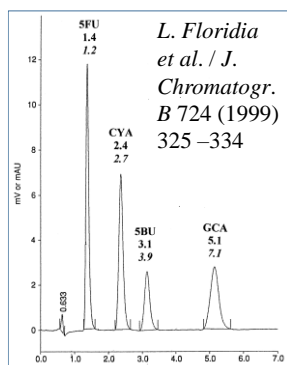
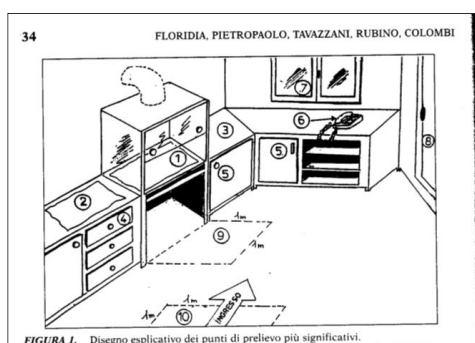
L'indagine di qualità dell'aria, commissionata al CeMOC da Regione Lombardia e svolta su 6 ospedali milanesi e lombardi, consentì alle rispettive Amministrazioni di proporre interventi di mitigazione dei livelli di contaminazione aerodispersa dell'aria urbana in ingresso, attraverso la limitazione del traffico veicolare e la ri-collocazione di attività quali i mercati urbani [87-90]. La concordanza nei profili temporali di contaminanti indoor (CO₂, particolato PM₁₀, carica batterica totale aerodispersa), tutti indicatori di presenza di visitatori, consentì inoltre di razionalizzare gli orari di visita nel quadro generale di "umanizzazione" dell'attività ospedaliera [83,85]. Nel corso della ricerca risultò possibile evidenziare e misurare per la prima volta l'entità di un gradiente di concentrazione aerodispersa di inquinanti da traffico veicolare (monossido di Carbonio, polveri totali; v. Figura a lato; idrocarburi aromatici BTEX) nella troposfera

urbana in prossimità di un edificio “a torre”, gli oltre 100 metri del Grattacielo Pirelli di Milano, allora sede della Regione Lombardia [29,30,84]. Fu possibile così dimostrare che la concentrazione, relativamente elevata, di monossido di Carbonio indoor e la lamentata percezione intermittente di sensazioni di “aria maleodorante” derivavano dalla presa d’aria del condizionamento, allora posta in prossimità della rampa di accesso veicolare prospiciente la piazza, e posta al livello del piano stradale, nel piazzale della Stazione Centrale, allora luogo di mitici ingorghi di traffico.

Al contrario, risultò marginale, nella specifica situazione, l’influenza del fumo di tabacco sulla concentrazione di CO nei locali (allora ancora il bando non era normato, ma la questione costituiva fonte di contenzioso acre tra il personale degli uffici). I risultati di questa attività consentirono, ad anni di distanza, di guidare l’adattamento dell’impianto di condizionamento alle nuove normative igienistiche, nel corso del restauro conservativo dello storico edificio. Non vanto, ma piccolo piacere mi offre il vedere, ancora a distanza di oltre vent’anni, l’articolo su Atmospheric Environment citato tra i non numerosi contributi a una questione che appare di persistente interesse, e che può essere ora affrontata con risorse allora inimmaginabili (un recentissimo articolo mostra l’impiego di droni porta-sensore!), influenzando con i suoi risultati anche il dibattito tecnico sulla qualità della vita nelle nostre città.



Protocolli per l’asseverazione dell’igienicità delle farmacie ospedaliere addette all’allestimento delle chemioterapie antineoplastiche (UMaCA), attraverso la misura della contaminazione da farmaci antitumorali sulle superfici e sugli operatori. Queste attività si resero necessarie a richiesta di numerose Direzioni ospedaliere, in quanto implicitamente previste già dal disposto normativo del D.Lvo 626/94, indicate dalla Conferenza Stato-Regioni e successivamente incorporate nel D.Lvo 81/08 (Tit.IX CAPO I e CAPO II, PROTEZIONE DA AGENTI CHIMICI). In una condizione culturale di allerta (e in qualche caso di autentica, non infondata preoccupazione), di sostanziale confusione nella letteratura scientifica e negli orientamenti tecnici dei cultori della disciplina, si rese necessario mettere a punto le strategie, le modalità e le procedure operative di campionamento, metodi di analisi di complessità e onere compatibili con le disponibilità dei Laboratori di igiene del lavoro operanti nel territorio nazionale, indicare valori tipici e criteri di accettabilità della contaminazione, criteri per la comunicazione ai committenti (Direzione Sanitaria ospedaliera, Servizio di Prevenzione), agli attori della prevenzione (Rappresentanti dei Lavoratori per la Sicurezza) e ai Lavoratori dell’esito delle indagini e delle loro conseguenze sulla salute e sul benessere degli operatori [32-34]. Una scelta strategica che si rese necessaria fu la rinuncia all’impiego sistematico e di prima istanza del monitoraggio biologico (misura dei metaboliti dei farmaci antineoplastici nelle urine dei lavoratori potenzialmente esposti), per l’assenza di criteri tossicologici attraverso i quali proporre valori limite di esposizione biologica equivalente (in particolare per alcuni farmaci, come la ciclofosfamide e il cis-Platino, “critici” in quanto classificati quali cancerogeni per l’uomo e ampiamente somministrati a dosi anche elevate) e per gli aspetti di criticità, anche sul piano etico, della comunicazione dei risultati ai Lavoratori, beneficiari ultimi delle iniziative di prevenzione. Venne, al contrario, adottata la strategia maggiormente aderente al criterio ALARA (As Low As Reasonably Achievable), ampiamente adottato nell’igiene ambientale e dei luoghi di lavoro nei confronti della dispersione della contaminazione e dell’esposizione della popolazione e dei Lavoratori a sostanze tossiche cancerogene, per le quali la normativa adotta il “principio di precauzione”, e in particolare raccomanda di ridurre la dispersione e la potenziale esposizione ai livelli più bassi tecnicamente ed organizzativamente possibili. Attraverso il campionamento sistematico della contaminazione sulle superfici di lavoro, sugli arredi e sulle persone degli operatori, e adottando modelli di relazione tra quantità manipolate di alcuni farmaci adottati quali indicatori per la particolare convenienza della loro misura, divenne possibile non solamente asseverare in termini assoluti l’entità della dispersione dei farmaci, ma soprattutto fornire indicazioni operative e oggettivare l’entità del miglioramento conseguente all’introduzione di mezzi tecnici e di procedure di lavoro meglio adeguati [92-94,107,110; v. Figura].



Strategia di campionamento sistematico dei locali, ciascuno con un “layout” differente

Metodo analitico rapido per 3 farmaci indicatori prioritari

Relazione tra impiego e contaminazione in Ospedali diversi

Dal punto di vista del Chimico analista, e dei vincoli organizzativi e tecnici caratteristici dei laboratori di igiene pubblica, la messa a punto dei metodi analitici necessari rappresentò un impegno inatteso, che fu possibile risolvere adottando una serie di espedienti inconsueti, tra cui l’impiego di colonne HPLC corte per analisi veloci, di una fase mobile preparata con minimo contenuto di organico e che impiega acqua sterile iniettabile direttamente nel flacone sigillato, impiegata in modo isocratico, con il riciclo del solvente, che viene scartato a fine lotto analitico direttamente tra i rifiuti ospedalieri, senza possibilità di esposizione del personale di Laboratorio. Le metodologie di campionamento dalle superfici, non normative e confrontabili tra laboratori diversi solo in termini empirici, sono state armonizzate in modo da richiedere materiali liberamente disponibili e poco costosi (salviette struccanti 80 mm e cotton-fioc). Anche per la stima dell’esposizione individuale dei preparatori di farmacia e degli infermieri somministratori sono state sviluppate tecniche

di campionamento basate sull'impiego di "pad" cutanei (dispositivi autocostruiti, costituiti da rettangoli di carta bibula di 1 dm², supportati su cerotto chirurgico). La strategia stessa di comunicazione dei risultati (e addirittura le unità di misura da impiegare! Contestatomi l'uso delle moli, si pretendeva di sommare insieme i microgrammi) era risultata conflittuale tra i pochi laboratori italiani e internazionali che affrontavano la questione, così come le finalità e le metodologie con le quali effettuare i primi tentativi di assegnare livelli tipici di contaminazione e valori limite di buona pratica. Questa modalità di intervento valse ad evidenziare, in alcune farmacie ospedaliere, condizioni di grave inadeguatezza e di pericolosità delle attività, mentre in altri casi consentì di assicurare il personale operante nei confronti della sostanziale assenza di rischi specifici, incoraggiando il costante mantenimento delle buone pratiche di lavoro.

L'attività venne condotta su oltre 25 Ospedali italiani, fino al 1999 dal Laboratorio CeMOC, e successivamente presa in carico fino al 2017 dal successivo Laboratorio universitario che ne assunse con me le funzioni (v. oltre). Queste attività furono svolte inizialmente sotto forma di consulenze a parere a beneficio di singole strutture ospedaliere, su richiesta dei rispettivi Medici Competenti o dei servizi locali di tutela della salute nei luoghi di lavoro, e successivamente anche nell'ambito di progetti di ricerca richiesti e finanziati dai Servizi medesimi (2006). In due cicli successivi, esse vennero svolte attraverso progetti BRIC-INAIL (2002-2004 [42,44] e 2016-2017 [68]), che esplicitamente richiesero l'introduzione nel protocollo anche del monitoraggio biologico dell'esposizione. Riuscii a limitare la varietà degli indicatori richiesti, alcuni dei quali, addirittura, notoriamente privi di un nesso quantitativamente rilevante della dose misurata con l'esposizione potenziale e con la quantità di farmaco preparata, mostrando che l'indicatore più affidabile, nelle situazioni indagate, risulta la misura dell'escrezione urinaria del metabolita maggioritario del 5-Fluorouracile, l'amminoacido α -Fluoro- β -alanina, AFBA, per il quale furono messi a punto, a distanza di tempo, due metodi analitici complementari, mediante GC-MS e successivamente HPLC-MS-MS, in funzione della strumentazione di volta in volta disponibile. Nel complesso, il monitoraggio biologico si mostrò in genere privo di un'addizionale valenza in termini preventivi, ma riuscì solo a evidenziare l'entità, assai ridotta e verosimilmente priva di effetti avversi a lungo termine, dell'assorbimento in caso di estemporanei inconvenienti occorsi al personale infermieristico nelle sale di trattamento pazienti (v. Tabella da [44]), e verosimilmente coincidente con le fasi di attacco o di distacco dei dispositivi per somministrazione parenterale allora in uso, e oggi del tutto sostituiti da quelli "a circuito chiuso". Nel complesso, l'attività di "monitoraggio antineoplastici", tuttora saltuariamente richiesta per l'aggiornamento dei Documenti di Valutazione Rischi delle strutture o per il loro Accreditamento nel sistema sanitario pubblico e convenzionato, è stata testimone dell'efficacia complessiva dell'opera di Prevenzione, fin dall'identificazione del possibile problema di rischio per la salute, attraverso l'adozione di interventi strutturali, la cui efficacia può essere oggettivata dal monitoraggio, dell'informazione-formazione del personale infermieristico e di farmacia attraverso corsi e addestramento specifico, e dell'adozione, ormai assodata, di presidi tecnici in grado di prevenire la maggior parte degli episodi di possibile esposizione.

Table 3. AFBA concentration measured in the three positive samples

Sample ID	Results of repeated measurements ($\mu\text{g/mL}$)		
	A	B	C
9 E	0.03	0.03	—
18 E	0.03	0.02	—
28 E	1.15	0.84	1.14

LoD = 0.018 $\mu\text{g/mL}$.

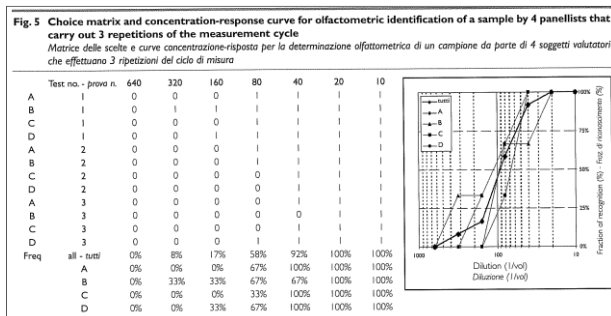
Biomed. Chromatogr. **20**: 257–266 (2006)

Dal Gennaio 2001 al presente. Quale Tecnico Laureato Universitario (D3) dell'Università degli Studi di Milano, presso il Dipartimento di Scienze della Salute (denominazione attuale): fondazione, insieme al Prof. Antonio Colombi (già del Dipartimento di Medicina del Lavoro, "Clinica del Lavoro Luigi Devoto") e gestione tecnica del Laboratorio di Tossicologia e Metabolomica Analitica (LaTMA), del quale è dal 2004 il direttore tecnico. Il LaTMA ha inizialmente assunto in carico, ampliato e sviluppato le attività del disciolto Laboratorio di Tossicologia Professionale del CeMOC, in parte anche di quelle del disciolto Laboratorio di Tossicologia Industriale della Clinica del Lavoro, alle quali ho affiancato attività di ricerca accademica su linee originali. Dal 2010 il LaTMA è stato progressivamente integrato nelle attività del Centro Internazionale per la Salute Rurale dell'Ospedale San Paolo (attualmente ASST Ospedali Santi Paolo e Carlo di Milano), attraverso l'attività dei docenti di Medicina del Lavoro in convenzione ospedaliera. Dal 2015, le attività del LaTMA sono state poste a disposizione dell'intero Dipartimento, e in particolare delle Cattedre di Biochimica e di Medicina del Lavoro.

Asseverazione dell'odorosità ambientale con tecnica olfattometrica secondo la norma europea EN 13725 per la verifica della molestia olfattiva di impianti industriali e di smaltimento di rifiuti solidi urbani e della ricaduta olfattiva negli insediamenti abitati [36]. Questa linea di ricerca venne sviluppata per una decina d'anni in risposta all' "emergenza rifiuti urbani" verificatasi in Regione Lombardia, in forma acuta negli anni '90, e successivamente per rispondere alle esigenze di controllo dell'odorosità delle emissioni degli impianti di trattamento rifiuti che opera(va)no con le differenti "Best Available Technologies" (BAT), tra cui in particolare la bio-essiccazione e il trattamento deodorizzante dell'effluente gassoso maleodorante con la tecnica della bio-filtrazione [41]. La tecnica olfattometrica di asseverazione dell'odorosità si avvale del contributo essenziale, quale "elemento sensore", di volontari selezionati (v. Figura; [100]) ai quali viene proposto di verificare la presenza di odore percettibile in campioni di aria campionata, progressivamente diluiti. Il valore di diluizione proporzionale al quale il 50% dei soggetti è ancora in grado di percepire la differenza tra l'odorosità del campione e quella di aria pulita di riferimento è definito quale risultato analitico espresso in Unità Odorimetriche normalizzate. Questa tecnica è del tutto analoga, per principi primi,

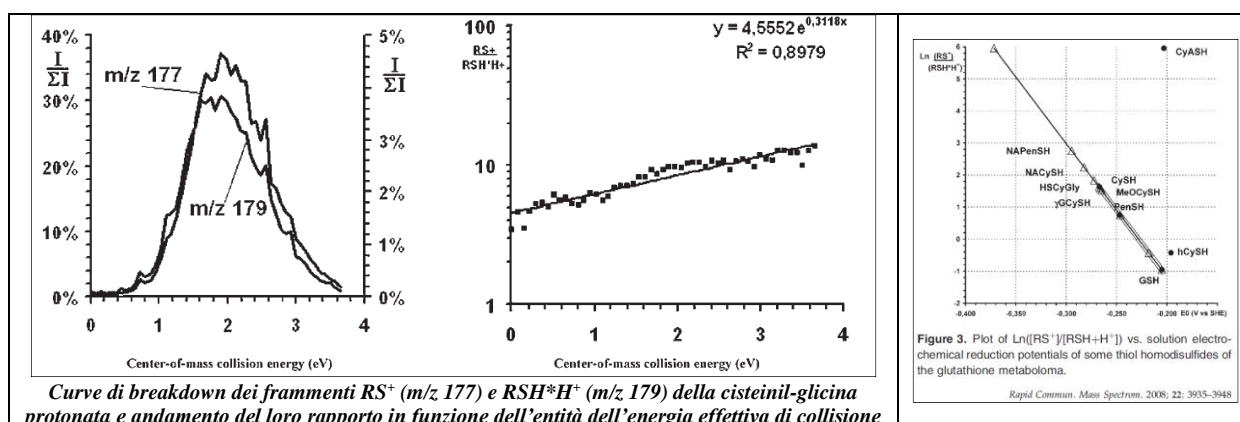


ad altre tecniche analitiche tradizionali di bio-saggio, tra cui quelle immunometriche per la diagnosi clinica di allergia e per la misura del “titolo anticorpale”, nelle quali la curva di lavoro è rappresentata dalla “sigmoide semi-logaritmica” (v. Tabella e grafico a lato; [100]), e non necessariamente è sempre possibile operare nel suo tratto “pseudo-lineare” che contiene il valore “50% della risposta”. Specialmente nel caso in cui l’elemento sensore è rappresentato da soggetti umani “assessori” intrinsecamente dotati di variabilità inter-individuale nell’acuità olfattiva e di variabilità personale nel tempo della capacità di sottoporsi alla prova, devono essere adottati criteri operativi in grado di rendere le misure (che possiedono valore tecnico-amministrativo) eseguibili e dirimenti, pur in presenza di sorgenti ineliminabili di variabilità operativa. La norma europea EN 13725 richiede, per ogni campione di aria esaminato, un numero elevato di determinazioni sensoriali in replica, portate a termine da un numero relativamente elevato di soggetti assessori addestrati, spesso di difficile reperibilità, e ciascuno dei quali può andare incontro ad affaticamento sensoriale in modo imprevedibile nel corso della sessione di prova. Lo scopo dell’attività, che nei suoi stadi finali (studio di intercalibrazione tra 4 Laboratori con attività in Lombardia ed Emilia Romagna) venne finanziata nell’ambito di progetti BRIC-INAIL [93,100,106], fu determinare le condizioni minime operative attraverso le quali risultava possibile asseverare l’emissione odorigena da bio-filtri piani posti a copertura di capannoni nei quali avviene la bio-essiccazione di RSU e di riconoscere i cambiamenti nelle qualità organolettiche dell’aria in uscita da impianti che operano in condizioni differenti [100]. Uno dei principali risultati ottenuti fu consentire a Laboratori pubblici di controllo di costituire proprie unità di lavoro, adottando procedure semplificate (e quindi praticamente applicabili) per la misura sensoriale, rese possibili dall’adozione di protocolli di campionamento adattati al controllo delle emissioni da biofiltri a vasta superficie piana e all’intervento conoscitivo nelle aree abitate.



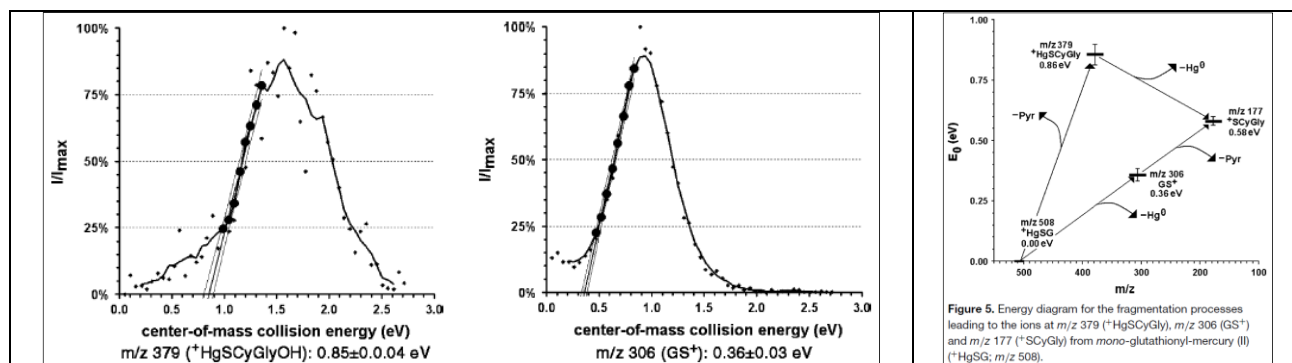
Meccanismi di tossicità del Mercurio e stress ossidativo. Nel 1999-2001 lo SCOEL (Scientific Committee on Occupational Health) dell’Unione Europea richiese alla comunità scientifica di fornire un parere sulla necessità eventuale di ridurre il valore del Limite Biologico Equivalente di esposizione a Mercurio elementare, nel quadro del generale procedimento di definitiva interruzione (“phase-out”) dei suoi principali usi industriali e civili. Per partecipare a questa iniziativa, alcuni gruppi di ricerca nazionali organizzarono un progetto multidisciplinare di studio della relazione tra livelli di esposizione e indicatori di danno precoce neurotossico, nel “continuo di dose” rappresentato da lavoratori di alcuni impianti chimici ormai residuali (impianto Cloro-Soda di Priolo, SR) come livello massimo di esposizione, e da gruppi di popolazione generale nazionale con livelli differenti di esposizione al metallo (portatori di otturazioni dentarie ad amalgama, consumatori sistematici di pesce pelagico) [37]. Emersero dubbi sui meccanismi di azione tossica del Mercurio e di altri metalli con elevata capacità legante dello Zolfo ridotto (noti ai Chimici come appartenenti al 2° gruppo analitico “dell’idrogeno solforato”, nella separazione classica dell’analisi chimica qualitativa inorganica), caratterizzati da effetti tossici e dosi letali molto differenti tra loro. Per contribuire ad affrontare la questione in termini meno fenomenologici, condussi per alcuni anni una linea di ricerca originale, volta allo studio dei coniugati dei metalli tiofilici (Hg, Pb, Cd, Zn) con i composti tiofili solubili cellulari, appartenenti alla griglia biosintetica del glutathione [39,40,46,47]. Utilizzai lo spettrometro di massa a triplo quadrupolo attraverso la tecnica ERMS (Energy-Resolved Mass Spectrometry; spettri collisionali di decomposizione unimolecolare condotti a valori variabili di energia di collisione) per ottenere le curve di efficienza di frammentazione o “curve di breakdown”, dalla cui analisi poter calcolare costanti termodinamiche sulla base delle intensità relative di canali-chiave di frammentazione e della misura di potenziali di comparsa di frammenti ionici significativi. La messa a punto di questa tecnica “di nicchia” consentì di affrontare alcune questioni non risolte nello studio delle proprietà di importanti molecole biologiche.

Uno studio sistematico coinvolse l’insieme dei bio-tioli solubili appartenenti alla griglia biosintetica e catabolica del glutathione e di alcuni analoghi ad azione farmacologica antiossidante [40]. Osservai che il rapporto tra i prodotti di due frammentazioni caratteristiche e complementari del ponte disolfuro corrispondono alla formazione dei frammenti tiofili nella forma “ridotta” (tiolo protonato) e ossidata” (ione sulfenilo) e che il loro rapporto è in relazione con il potenziale ossidoriduttivo Nernstiano della coppia redox in soluzione (v. Figura sottostante; [48]).



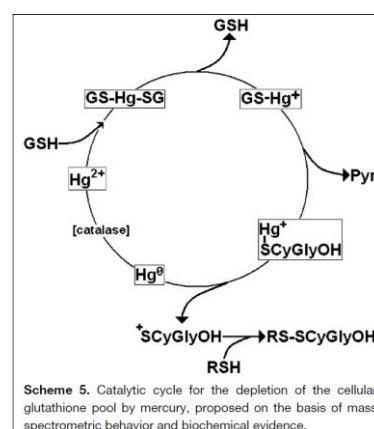
Lo studio di correlazione spettro-struttura delle specie Mercurio-tiofili [39] e Cadmio-tiofili [46] mise in evidenza alcune peculiarità, che condussero all’opportunità di misurare i potenziali ossido-riduttivi delle coppie disolfuro-solfuro di alcuni termini della serie, per i quali questi valori non erano noti. A loro volta, i dati di potenziale redox ottenuti furono impiegati per studiare in modo originale alcuni aspetti della tossicità di metalli “pesanti” tiol-affini (Zinco, Cadmio, Mercurio, Piombo) e di formulare un’ipotesi meccanicistica in grado di spiegare la molto maggiore tossicità del Mercurio rispetto ad altri metalli dotati di analoga reattività.

Tra i metalli in grado di formare coniugati con il glutatone, che sono substrati dell'enzima gamma-glutamidasio, il derivato mercurio-tiolo legato alla cisteinil-glicina manifesta il forte carattere riducente della porzione tiolica ed è in grado di rilasciare, per frammentazione unimolecolare in fase gas e anche in condizioni biologiche in soluzione, Mercurio in forma mono-atmica elementare, con la corrispondente ossidazione al corrispondente disolfuro di due equivalenti tiolici. In condizioni biologiche, inoltre, il Mercurio mono-atmico elementare viene nuovamente riossidato enzimaticamente ed opera quindi come un "parassita metabolico" intracellulare, che a ogni "ciclo" catalitico consuma due unità di glutatone ridotto [47].



Un'inattesa applicazione della mia ipotesi venne offerta, qualche anno più tardi, da uno studio di eco-tossicologia condotto su uccelli pelagici nell'emisfero australe, nei quali i ricercatori posero in correlazione con livelli elevati di Mercurio misurati la parziale decolorazione del becco e delle zampe, dovuta a una carenza di feo-melanina contenente Zolfo (DOI: 10.3389/fevo.2016.00095).

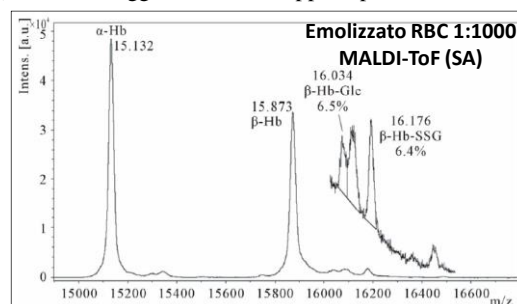
Lo studio attraverso la spettrometria di massa ha consentito di ampliare la conoscenza sulla varietà di meccanismi di tossicità dei coniugati mercurio-tioli, e in particolare di evidenziare la formazione, a partire da coniugati tio-eteri metallo-organici e organici del glutatone che vanno incontro alla degradazione per beta-eliminazione, di una specie organica de-solfurata di tipo acrilico, reattiva nei confronti dei siti nucleofili delle strutture biologiche e in grado di interferire con la funzionalità degli enzimi cisteinici e con i meccanismi endogeni di detossificazione e di signalling dello stress ossidativo [63]. Questo meccanismo può essere inoltre alla base dell'osservazione della formazione in-vivo di corpuscoli, intracellulari o dispersi nei parenchimi, in animali e nell'uomo esposti a livelli elevati di ingestione di Mercurio, ad esempio nelle popolazioni Inuit e nei loro cani, che si cibano di carne di mammiferi marini che hanno bio-amplificato le tracce di metalli tossici (e di contaminanti organici persistenti) attraverso la rete trofica. Le particelle nano-dimensionali, osservate con le tecniche di microscopia ottica ed elettronica, contengono metalli in forma elementare ("metallusomi" di metalli nobili) oppure sotto forma di solfuri e calcogenuri nano-dimensionali. Questi ultimi possono derivare dalla decomposizione spontanea delle specie di metallotioneina contenenti metalli come il Cadmio e il Mercurio, che vengono detossificati attraverso la formazione di coniugati tio-eteri con gli amminoacidi solforati e con la seleno-cisteina. Un indizio probante della verosimiglianza di questo meccanismo è fornito dall'osservazione dello spettro di decomposizione unimolecolare del coniugato mercurio-glutathionico, la cui specie deprotonata fornisce, tra i principali prodotti, la specie de-solfurata fortemente elettrofila attraverso la perdita neutra di una unità unimolecolare di solfuro di Mercurio [63]. Questo mio interesse nei meccanismi di tossicità dei metalli tossici tiolici purtroppo venne interrotto dalla modifica dell'assegnazione delle priorità di lavoro al LaTMA, che portò al pressoché abbandono, per una decina d'anni, della mia attività nella spettrometria di massa.



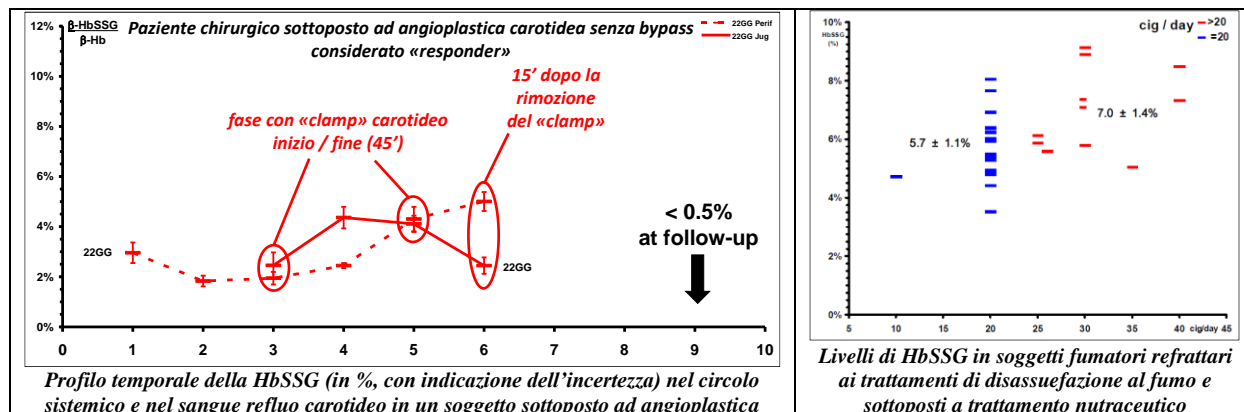
L'interesse nella tossicologia dei metalli mi fece coinvolgere nello studio di un caso del tutto inatteso e inconsueto di intossicazione da Piombo, occorsa a un immigrante indiano che, per trattare una propria parassitosi, si fece inviare e ingerì un preparato tradizionale a base di carbonato-solfato di Piombo, che causò nel soggetto un danno renale parzialmente reversibile, conducendolo al ricovero ospedaliero presso la Clinica del Lavoro "Luigi Devoto" di Milano per sottoporsi alla terapia chelante [50]. Questo argomento di studio mi condusse ad ampliare gli interessi nei confronti dei meccanismi molecolari dello stress ossidativo biologico e alla ricerca di indicatori biologici del fenomeno, utili per la ricerca clinica.

Misura della glutathionil-emoglobina e valutazione dello stress ossidativo eritrocitario. Questa attività, iniziata come naturale evoluzione degli studi di tossicologia meccanicistica dei metalli (v. sopra), venne maggiormente sviluppata per consentire la collaborazione con alcuni gruppi di ricerca clinica interessati ad utilizzare indicatori biochimici innovativi per valutare il rischio per la salute conseguente all'esposizione a fattori perturbanti di diversa origine. La glutathionil-emoglobina (HbS-SG) è una forma minore dell'emoglobina, in cui un residuo cisteinico (b-93) forma un legame disolfuro reversibile con una unità di glutatone, e rappresenta di conseguenza un utile indicatore biologico di stress ossidativo. (v. spettro a lato; [59]).

Misi a punto un metodo per la misura della HbSSG in emolisi eritrocitari umani con la spettrometria di massa MALDI-ToF [59] (lo strumento disponibile nella piattaforma COSPECT di ateneo), adottata per la sua velocità di analisi, compatibile con la misura di serie numerose di campioni, derivanti da studi clinici di popolazione [57,59,72,79]. La serie di oltre 450 misure, da me condotte su soggetti esposti a fattori causali diversi, in grado di generare stress ossidativo, ne fa la collezione più ampia disponibile in letteratura. Tra le casistiche indagate, vi sono quelle di fumatori "incoercibili", sottoposti a un trattamento di "riduzione del danno" che consiste nell'assunzione di concentrati



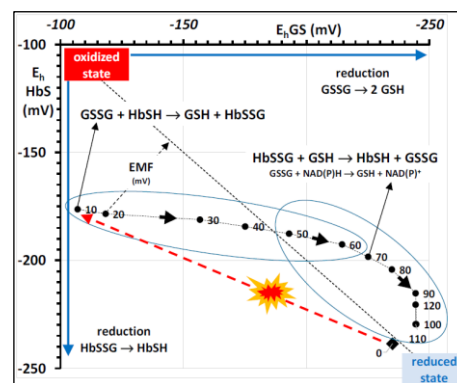
vegetali ad azione antiossidante [59] e di soggetti obesi refrattari alla riduzione del rischio cardiovascolare [59], nei quali l'indicatore si manifesta innalzato rispetto ai livelli, ai limiti della misurabilità, caratteristici della popolazione generale. Un altro ambito di interesse fu la richiesta di indagare il comportamento dello stress ossidativo a livello del circolo cerebrale in pazienti sottoposti a un trattamento chirurgico di rimozione della placca carotidea senza ricorso al by-pass nella fase (circa 40 min) di interruzione della perfusione dell'emisfero coinvolto. In alcuni soggetti, la misura della HbSSG nel sangue venoso refluo dall'emisfero coinvolto a intervalli di tempo prima e dopo la fase ipossica consentì di evidenziare un rialzo transitorio dell'indicatore e il suo rientro al valore pre-intervento entro pochi minuti dal rientro della perfusione. Altri pazienti non mostrarono valori di HbSSG misurabili ($< 0,5\%$) oppure valori diversi, ma nessun effetto dell'atto chirurgico sullo stress ossidativo a livello d'organo, rispetto al circolo sistemico [57].



In uno studio successivo su pazienti chirurgici sottoposti a interventi di maggior durata (2-3 h) per patologie addominali diverse, i valori di HbSSG risultarono consistentemente elevati, senza relazione con la percentuale di Ossigeno somministrata al paziente sotto anestesia [72]. Nel corso della pandemia Covid-19 ho partecipato a uno studio volto a stabilire criteri di diagnosi differenziale dell'ipossia conseguente a patologie respiratorie diverse, di natura cronica o acuta, che si avvalgono di criteri clinici, dello studio di un "panel" di indicatori biochimici del metabolismo del Ferro e di indicatori di stress ossidativo sistemico, tra cui la HbSSG, che risulta elevata sia in condizioni di ipossia cronica (BPCO), sia negli episodi acuti, una volta giunti all'osservazione ospedaliera [79].

Studi ancora in fase di pubblicazione, oppure la cui raccolta campioni è tuttora in corso, coinvolgono gruppi di soggetti normali in ambienti "estremi" (apneisti e sommozzatori amatoriali, personale delle stazioni di ricerca antartiche) e soggetti con un più ampio ambito di patologie croniche (insufficienza renale e diabete), nei quali valutare l'efficienza dell'indicatore a oggettivare gli effetti sul metabolismo antiossidante, nella prospettiva di verificare l'efficacia di trattamenti nutraceutici nel contrastare le condizioni di stress ossidativo cronico. L'ampliamento degli studi ha reso necessari interventi di manutenzione del metodo, volti a ridurre il tempo di turnover dei campioni e migliorare la precisione della misura, mettendo a punto un software alternativo a quello fornito dalla strumentazione commerciale disponibile, per l'integrazione accurata dei segnali tramite un foglio di lavoro Excel che consente di migliorare l'errore assoluto di misura al di sotto dello 0,5% (articolo in preparazione).

La valutazione complessiva si avvale anche della possibilità di calcolare, dal risultato analitico, il valore del potenziale ossidoriduttivo intra-eritrocitario, avvalendosi della misura del potenziale normale redox, da me calcolato in modo originale a partire da dati indipendenti, pubblicati nella letteratura, ma originalmente rielaborati [77]. Lo studio che ho riesaminato misurava le concentrazioni eritrocitarie di HbSSG, glutazione e glutazione disolfuro in eritrociti trattati in acuto con *t*-butil-idroperossido quale generatore di radicali liberi e lasciati in ripresa fisiologica. I livelli delle specie disolfuriche ossidate (GSSG e HbSSG) risultavano elevati al nadir immediatamente successivo all'insulto ossidativo, e i loro livelli andavano progressivamente a calare fino al pressoché totale ripristino dei livelli basali, entro 2h circa. Assumendo, in prima istanza, che entro ogni intervallo del campionamento le concentrazioni delle specie tioliche nella forma ridotta (GSH e HbSH) e ossidata (GSSG e HbSSG) possano essere rappresentate da uno stato di equilibrio, risulta possibile calcolare un valore "operativo" per il potenziale elettrochimico della coppia che coinvolge il gruppo tiolico dell'emoglobina (b-93C) in funzione delle concentrazioni misurate delle specie e del potenziale normale della coppia glutazione disolfuro / glutazione. Così operando, il potenziale normale relativo al gruppo tiolico dell'emoglobina risulta più ossidante anche rispetto a quello del glutazione, e di conseguenza l'emoglobina si comporta, di fronte all'insulto ossidativo, come "scavenger antiossidante di ultima istanza". Infatti, ricalcolando come potenziali elettrochimici i valori di concentrazione del glutazione disolfuro, del glutazione in forma tiolica, della glutatilonil-emoglobina e dell'emoglobina in forma tiolica, è possibile tracciare una "traiettoria di ripresa" degli eritrociti umani normali sottoposti all'insulto ossidativo con il generatore di radicali liberi (*t*-butil-idroperossido) scelto quale riferimento (v. Figura; [76]).



La collaborazione con gruppi di ricerca interessati allo studio fisiologico di soggetti umani "in ambiente estremo" mi ha coinvolto, nella fase iniziale di pianificazione degli studi, per offrire un contributo di natura inattesa per l'apparente "banalità" della richiesta, ma di inconsueto interesse intellettuale per il Chimico analista. La richiesta è di rendere alcuni metodi analitici per la misura di bioindicatori della funzione cardio-circolatoria compatibili con la loro esecuzione "in campo", ad esempio su campioni appena prelevati da soggetti in esercizio di attività subacquea, direttamente sul battello di appoggio ("ruggedization"). La misura degli ioni nitrito e nitrato nel plasma e negli eritrociti rappresenta un indicatore affidabile dell'effetto dell'agente vasodilatatore endogeno, l'ossido di Azoto (NO) nel contrastare l'effetto meccanico della compressione durante l'immersione subacquea. Il fenomeno, che è transitorio, deve essere studiato su campioni di sangue (venoso e, addirittura, arterioso) prelevati dal soggetto direttamente in immersione, da parte

di un medico anestesista che si immerge contestualmente, dotato di un equipaggiamento per il prelievo venoso specificamente progettato. La misura degli ioni nitrito e nitrato viene eseguita con un metodo colorimetrico ampiamente collaudato, l'ultra-centenaria diazotazione di Griess, che genera dal nitrito, direttamente, un composto rosso, mentre la quota di nitrato deve essere convertita separatamente mediante riduzione chimica, e poi misurata insieme al nitrito endogenamente già presente. La misura separata negli eritrociti include, nella fase pre-analitica di frazionamento e preparazione del campione, la misura dell'ematocrito, la preparazione di un campione a concentrazione nota di emoglobina, la precipitazione delle proteine con un metodo compatibile per la misura sul surnatante e con le successive fasi della misura di altri bio-indicatori solubili ed eritrocitari, tra cui la HbSSG (v. sopra). Ancorché apparentemente "banale", la messa a punto metodologica ha richiesto di ottimizzare alcune fasi pre-analitiche e analitiche fino a dettagli minuti nella scelta della plastiche e alle procedure di gestione dei reagenti, dei campioni e dei rifiuti, di organizzare il ciclo di lavoro e la catena di trasmissione dei risultati e di riesaminare i criteri statistici di verifica dei risultati, che includono la valutazione dell'incertezza estesa prodotta dalla necessità di calcolare il risultato finale sulla base di numerosi parametri misurati [76]. Dopo l'interruzione causata dalla pandemia Covid-19, ci si attende che il metodo possa essere sperimentato in campo e successivamente impiegato nelle campagne di indagine.

Valutazione del turnover della bio-metilazione attraverso la misura dell'escrezione urinaria di S-Metil-Cisteina svolta con un metodo originale che impiega la gascromatografia-spettrometria di massa con diluizione isotopica (standard interno CD₃-SMC di sintesi originale) [51]. Questo sviluppo metodologico era propedeutico a progetti di ricerca epidemiologica di studio dell' "epi-genoma" costituito da porzioni del DNA reso non-codificante attraverso la metilazione permanente e trasmissibile di porzioni contenenti citosina nella corrispondente Metilcitosina. Collaborazione e progetto non ebbero seguito e vennero abbandonati. Potemmo tuttavia eseguire uno studio pre-pilota di misure volto a verificare la possibile esistenza di un ciclo mensile della bio-metilazione nella fase di riparazione del DNA, in donne fertili, misurando l'escrezione dell'amminacido metilato nelle urine.

Asseverazione e gestione del rischio chimico da prodotti fitosanitari ("pesticidi") nell'impiego professionale in agricoltura. Questa attività, che perdura dal 2010, viene condotta in funzione della collaborazione sistematica con il Centro Internazionale per la Salute Rurale (International Center for Rural Health, Collaborating Center of the World Health Organization; ICRH-WHO-CC), che ha sede presso l'ASST Santi Paolo e Carlo di Milano. L'attività si svolge attraverso la programmazione e la conduzione di indagini sul campo, la messa a punto e l'impiego di metodi analitici, l'interpretazione dei risultati e la redazione delle conseguenti relazioni per la Valutazione di Rischio delle Aziende agricole ai sensi del D-Lvo 81/08 e comprende anche attività di ricerca applicata e accademica, articolata secondo tre linee, mutuamente complementari.

In primo luogo, i metodi sperimentali per la misura dell'esposizione ad antiparassitari durante l'applicazione in campo aperto, essenzialmente assodati e resi disponibili tramite i manuali OECD, devono essere resi compatibili con la loro effettiva applicazione, in termini di sostenibilità organizzativa ed economica, con la realtà agricole e con quella delle attività di prevenzione dei rischi [52,53]. Questo sforzo comporta la razionalizzazione e la riduzione del numero dei campioni richiesti per ricostruire in modo sufficiente i livelli di dispersione dei prodotti sull'operatore, l'esposizione cutanea attraverso gli indumenti indossati durante l'attività (e non implicitamente corrispondenti a reale vestiario professionale), la contaminazione delle mani [153].

L'esperienza acquisita nell'organizzazione delle campagne di misura della contaminazione da farmaci antineoplastici in ambiente ospedaliero (v. sopra) ha contribuito in misura determinante ad adattare i protocolli di acquisizione e di registrazione dei campioni (uso di "pad" cutanei normalizzati, di metodi per il campionamento delle superfici e per il lavaggio delle mani degli operatori), rendendo possibile lo svolgimento delle operazioni anche da parte del personale tecnico degli organi pubblici di controllo. Dai livelli ricostruiti di contaminazione cutanea viene ricostruita l'entità della dose assunta, sulla base della congettura sull'entità frazionaria dell'assorbimento cutaneo accettata in sede di autorizzazione all'impiego del prodotto, e sulla base del livello massimo di dose giornaliera ammissibile (definito AOEL, Acceptable Operator Exposure Level, dalla normativa europea) viene stimato, in termini retrospettivi, il grado di sicurezza dell'operazione svolta dal lavoratore agricolo in funzione della "saturazione (percentuale) del limite di esposizione" [123,124].

L'AOEL rappresenta, per ogni prodotto antiparassitario, un parametro definito in fase di autorizzazione, sulla base dei dati di sperimentazioni estensive negli animali da esperimento, di meccanismi di estrapolazione animale-uomo e dell'adozione di fattori di sicurezza in grado di tutelare i soggetti più fragili della popolazione umana. Il carico analitico derivante dall'applicazione sistematica di questa metodologia può divenire eccessivamente oneroso, in particolare quando risulta vincolante impiegare per le misure strumenti intrinsecamente costosi (HPLC-MS-MS) disponibili solo in laboratori specializzati. In alcuni casi, e specialmente quando maggiori sono gli interventi di tutela disponibili per i lavoratori agricoli (indumenti e mezzi di protezione individuale di livello professionale, equipaggiamento di applicazione a bassa dispersione, mezzi cabinati e condizionati con aria filtrata), l'esposizione estemporanea della giornata di lavoro può venire a sovrapporsi a quella proveniente dai residui dei prodotti antiparassitari presenti ubiquitariamente nell'ambiente dell'azienda agricola e assorbiti per il complesso delle vie interne. Questo fenomeno, se non influisce sulla valutazione del rischio associato al lavoro quotidiano di applicazione degli antiparassitari, rappresenta tuttavia una componente essenziale nella valutazione del rischio a lungo termine associato con la possibile comparsa di malattie a lunga latenza o provocate dall'accumulo progressivo di dose interna non eliminata o da danni cumulativi silenti e sub-clinici ad organi ed apparati (neurotossicità e tossicità neuro-comportamentale, tossicità riproduttiva e disturbi nello sviluppo della prole nella popolazione agricola, effetti immunotossici e cancerogeni).

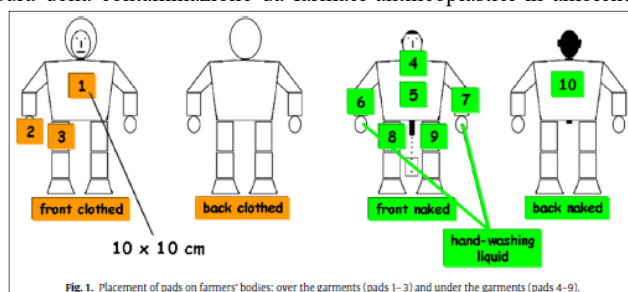


Fig. 1. Placement of pads on farmers' bodies: over the garments (pads 1-3) and under the garments (pads 4-9).



In secondo luogo, e per questa ragione, il monitoraggio biologico dell'esposizione a sostanze esogene rappresenta da tempo una strategia in grado di tener conto, nella valutazione della dose assorbita, di tutte le diverse vie di esposizione, professionali (inalazione e ingestione, assorbimento cutaneo) e provenienti dall'ambiente generale di vita (alimenti, acqua, aria). L'apparente semplicità logica implicita in questo approccio cela tuttavia una serie di ambiti di incertezza conoscitiva che hanno storicamente concorso a rendere l'applicazione meno diretta di quanto potrebbe apparire, specialmente per i contaminanti costituiti da sostanze organiche. Nel caso specifico dell'esposizione professionale ai pesticidi, la strategia di prima scelta, per il ragionevole compromesso tra facilità organizzativa e potenza conoscitiva dei risultati ottenuti, è la misura del prodotto o di un suo abbondante metabolita in un campione di urina ottenuto al termine dell'esposizione, eventualmente confrontato con uno fornito prima dell'inizio dell'attività [53]. Studi progressivamente più complessi sono in grado di ricostruire in termini cinetici la progressiva eliminazione del prodotto dall'organismo, estendendo la raccolta sistematica, frazionata e integrale delle urine ai giorni successivi [60,65,66,67]. Inevitabilmente, questo complesso piano di campionamento risulta spesso inapplicabile per la sorveglianza dei lavoratori, se non nell'ambito di sporadiche campagne di studio ben organizzate e largamente finanziate, ma paradossalmente indisponibili per la maggioranza dei lavoratori agricoli, specialmente nelle situazioni meno sorvegliate e quindi più meritevoli di attenzione.

A complicare il quadro complessivo, la variabilità interindividuale nella produzione dei metaboliti oggetto del monitoraggio biologico rende in genere scarsamente affidabile la ricostruzione della dose interna sulla base dell'escrezione de(i) metabolit(i) e, a ritroso, del rischio, espresso come saturazione percentuale dell'AOEL, calcolata sulla base della congettura di dose interna. Ciò non di meno, disporre di una relazione quantitativa tra la stima di dose interna calcolata sulla base della misura della dose cutanea in studi condotti in ambiente reale e i corrispondenti livelli di metaboliti bio-indicatori rende possibile concettualizzare e proporre, per la Valutazione di Rischio dei prodotti antiparassitari, l'adozione di un indicatore di equivalenza, Equivalent Biological Exposure Level (EBEL) definito come la dose di metabolita escreto (in condizioni normalizzate di ottenimento del campione [67]) da un lavoratore che ha assorbito, nella giornata di lavoro, una quantità di antiparassitario corrispondente al suo AOEL [74,123,124,127]. Un esempio-pilota è stato fornito dall'esame di un gruppo di dati proveniente dall'indagine su agricoltori che impiegavano per il diserbo propanil, un erbicida anilidico ora non più autorizzato in Italia, e nei quali la 3,4-dicloro anilina rappresenta il metabolita escreto nelle urine. Il grafico riportato (v. Figura a lato) mostra la capacità di ricavare un valore, ancorché indicativo (pari a 110 microg/L in un campione delle 24 ore; intervallo di incertezza, dovuto a tutte le fonti di variabilità, di un ordine di grandezza logaritmico), anche avvalendosi di uno studio di proporzioni limitate e non specificamente focalizzato allo scopo, nel quale il prelievo di solo un campione estemporaneo di urina a fine attività di lavoro preclude la possibilità di impiegare, per esprimere il risultato, una metrica più corretta in termini chimici, fisiologici e tossicologici.

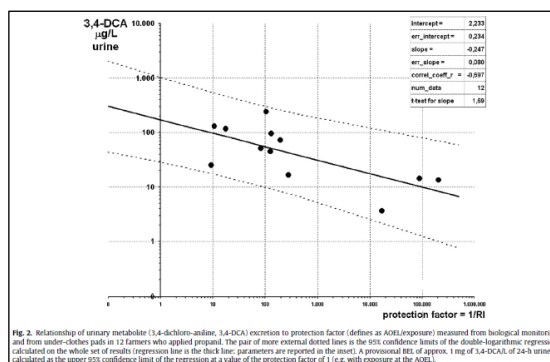
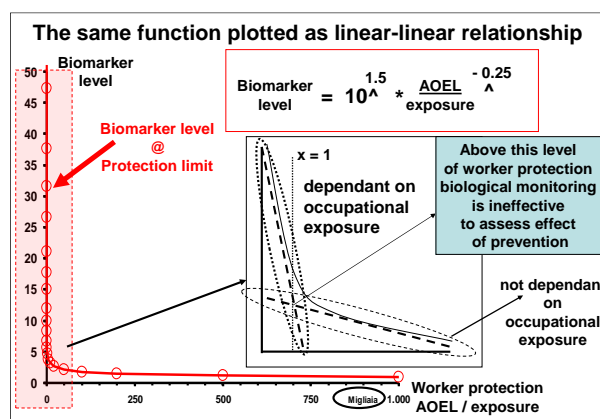
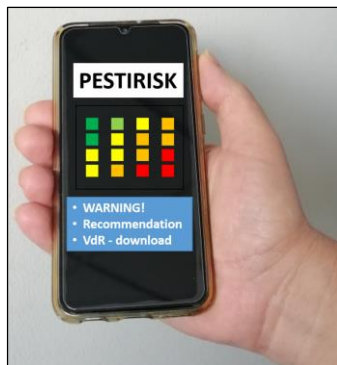


Fig. 2. Relationship of urinary metabolite (3,4-dichloro-aniline, 3,4-DCA) excretion to protection factor (defined as AOEL/ingestion) measured from biological monitoring and from under-clothes pads in 12 farmers who applied propanil. The pair of more external dotted lines is the 95% confidence limits of the double-logarithmic regression calculated on the whole set of results (regression line is the thick line; parameters are reported in the inset). A provisional BEI of approx. 1 mg of 3,4-DCA/L of 24-h urine is calculated as the upper 95% confidence limit of the regression at a value of the protection factor of 1 (i.e., with exposure at the AOEL).

In questi due ambiti di attività, il mio Laboratorio (ormai ridotto nell'organico alla mia sola persona e, per qualche tempo, a un contrattista a breve termine e privo di formazione chimica) ha fornito le risorse organizzative indispensabili a svolgere le campagne di acquisizione dei campioni (centinaia per ciascuna, tra campionatori passivi "pad", ritagli di tuta di lavoro, liquidi di lavaggio delle mani, campioni "wipe" provenienti dalla deterzione delle superfici, campioni provenienti dalla raccolta integrale delle urine su più giornate consecutive), mentre la capacità analitica, per la necessità di uniformare le misure provenienti da studi differenti, era stata centralizzata in altri Laboratori. Il mio contributo intellettuale alla definizione dell'indicatore EBEL è consistito nel materializzare sotto forma di modelli e di calcoli una preliminare intuizione che era da tempo in attesa sia di dati correttamente acquisiti, sia della capacità di elaborarli in modo efficace. In particolare, aver adottato per l'analisi dei risultati la regressione bi-logaritmica ha consentito di evidenziare un andamento bi-modale nella relazione tra esposizione interna (espressa come saturazione dell'AOEL, e in definitiva come metrica del Rischio Chimico) ed escrezione de(i) metabolit(a) bio-indicatore di dose. Ancor più, questa scelta di metrica ha rivelato l'esistenza di un valore di esposizione "soglia" (un "gomito", nella visualizzazione bi-lineare della relazione, v. figura a lato) che corrisponde alla transizione tra i livelli di esposizione professionale (ovvero estemporanea e recente, proporzionali all'esposizione professionale misurata; la regione della curva rapidamente rampante lungo l'asse Y) e quelli derivanti dall'eventuale presenza di tracce dell'antiparassitario quale contaminante ubiquitario dell'ambiente di vita (la regione della curva lentamente decrescente lungo l'asse X) [124]. Un'importante conseguenza di poter definire questo valore-soglia (su alcune casistiche, questo valore è risultato dell'ordine del 10% -25% del corrispondente valore EBEL) è, per il Chimico analista, anche di poter oggettivare, nello sviluppo del metodo analitico, la sensibilità (espressa come limite inferiore di quantificazione, LLoQ) inderogabile affinché sia efficace il monitoraggio biologico, eventualmente potendo derogare dall'impiego di metodi e di strumentazione eccessivamente costosa rispetto alla sensibilità analitica realmente necessaria, e utiizzando metodi a più basso costo e più agili nel trasferimento inter-laboratorio.



In terzo luogo, per quanto il monitoraggio in campo e il monitoraggio biologico dell'esposizione possano fornire –ancorché con grande impegno organizzativo ed onere economico- risultati sufficienti a verificare l'efficacia dell'adozione di corrette pratiche di lavoro nel proteggere i lavoratori agricoli dalla sovra-esposizione indebita ai prodotti antiparassitari applicati sulle colture, ciò non di meno questa pratica rimane intrinsecamente “retrospettiva”, e non particolarmente utile (a parte l'ottemperanza all'obbligo legislativo della Valutazione del Rischio ex-81/08), specialmente perché questa attività è estemporanea e soggetta a numerosi fattori incontrollabili che possono influenzare l'entità reale dell'esposizione. L'interesse prioritario nella tutela dei Lavoratori rimane la prevenzione del rischio, non il suo censimento, e di conseguenza lo sviluppo di strumenti di previsione e pianificazione delle operazioni appare maggiormente aderente agli scopi preventivi, rispetto all'affinamento delle tecniche di indagine “a posteriori”. Per questa ragione, l'ICRH partecipa a progetti di ricerca applicata per la formulazione di dispositivi informatizzati che consentono all'operatore agricolo di pianificare le sue azioni di lotta antiparassitaria, definendo in anticipo, in funzione delle condizioni



ad operare l'applicazione in sicurezza, scegliendo opportunamente i prodotti a parità di efficacia meno pericolosi e i mezzi di protezione meglio compatibili anche dal punto di vista ergonomico. Il modello di calcolo che ho fornito al gruppo di lavoro perché venga trasformato in un dispositivo informatizzato è basato su un modello multi-compartimentale di trasmissione (deposizione) dell'antiparassitario (v. schema a lato) dalla macchina agricola all'operatore equipaggiato con i suoi dispositivi di schermatura, successivamente attraverso gli indumenti dell'operatore, alla cute, e da essa a costituire la dose interna, l'entità della quale, confrontata con il valore limite per il

prodotto, costituisce la valutazione oggettiva del rischio espositivo: v. Figura; [130,146].

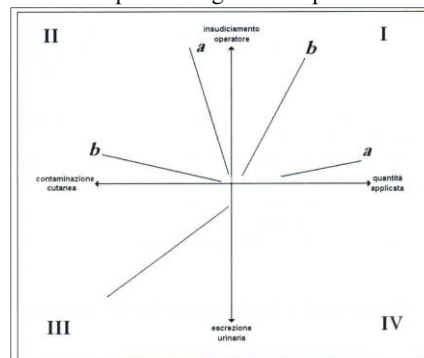


Figura 1. rappresentazione schematica delle relazioni quantitative tra le variabili che determinano l'esposizione del lavoratore ad un prodotto fitosanitario in funzione della quantità applicata e delle condizioni di lavoro

Questo approccio si è reso necessario dopo aver constatato che i modelli computazionali sviluppati per rendere possibile la valutazione del rischio degli antiparassitari in fase “pre-marketing” non forniscono risultati sufficientemente affidabili per valutare la sicurezza dell'operatore che applica il prodotto nelle condizioni reali dell'azienda agricola. Anche l'impiego di indicatori qualitativi e di metodi di “ranking” empirico, utili per giudicare altre caratteristiche di sicurezza delle macchine agricole, è risultato inadeguato quando adattato a prevedere l'entità dell'esposizione ad antiparassitari nell'ambito della Valutazione del Rischio [52,111,117].

Un'attività collaterale ed estemporanea dell'ICRH ha riguardato la valutazione di rischio associata alla pregressa esposizione a pesticidi organo-clorurati obsoleti e ad altri composti organo-clorurati persistenti (policloro-bifenili), banditi, ma il cui carico inquinante ubiquitario si trasmette per via trans-generazionale nella popolazione generale, attraverso l'accumulo nel grasso, l'allattamento materno e i residui nell'ambiente e negli alimenti [55,56,58]. Contestuale a questa attività di tossicologia epidemiologica, il Centro ha anche affiancato iniziative di aggiornamento professionale per ricercatori ed esperti dei Paesi dell'area balcanica e sud-europea, partecipando ad una Scuola Nato (Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, Varna, BG, 2011) sul tema dei pesticidi obsoleti e sulla loro sostituzione con prodotti moderni autorizzati in EU e con l'adozione di pesticidi biologici [150,11,152]. Una rassegna bibliografica commissionata sull'argomento [58] è risultata, nella mia produzione scientifica, l'articolo di gran lunga più citato, con almeno 300 citazioni censite.

Un rientro alla Spettrometria di Massa: messa a punto di metodi analitici per la misura di componenti endogeni e di lipidi complessi biologicamente attivi mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem in triplo quadrupolo. L'acquisizione di un nuovo sistema analitico LC-MS ha reso possibile il ritorno della mia collaborazione con le linee di ricerca biochimiche attive nel Dipartimento di Scienze della Salute. Le richieste che mi sono state formulate in qualità di esperto del Dipartimento mi hanno consentito, ancorché in modo intermittente, di tornare a praticare la spettrometria di massa, sia come applicazione analitica, sia con vocazione spettroscopica e strutturale, utilizzando ancora “in proprio” lo strumento dipartimentale condiviso e contribuendo ad avviare all'uso consapevole della tecnica alcuni giovani colleghi.

Tra le applicazioni specifiche di maggior interesse sviluppate vi sono alcuni metodi analitici per la misura di composti di interesse dei gruppi di ricerca che accedono allo strumento. In particolare, la Miriocina è un curioso composto multifunzionale e fortemente anfifilico, studiato per le sue proprietà farmacologiche come inattivatore covalente dell'enzima-chiave nella biosintesi degli sfingolipidi. Lo sviluppo di un metodo per la sua misura ha richiesto lo studio spettroscopico della sostanza, la cui frammentazione si è dimostrata tanto intricata sul piano meccanicistico, quanto insoddisfacente per indirizzare la scelta di uno standard interno isotopicamente marcato facilmente realizzabile. La messa a punto delle condizioni strumentali richiese di renderle compatibili per misurare il composto in matrici biologiche differenti, senza dover modificare in modo sostanziale la messa a punto strumentale rispetto agli altri metodi analitici eseguiti per la misura dei ceramidi fisiologici nei medesimi campioni [64].

Ancora, lo studio spettroscopico delle sostanze di cui viene richiesta la misura in spettrometria di massa si è mostrato indispensabile per venire a capo della misura della Melatonina, un mediatore neuro-endocrino di natura indolica, presente in tracce minute nei

campioni biologici, ma con molteplici proprietà ed effetti biologici sorprendenti. La scelta dello standard interno isotopicamente marcato (con isotopi stabili, unico verosimile il Deuterio) è stata fonte di sgradite sorprese, con conseguenze allarmanti nella fase di messa a punto della procedura analitica: le curve standard, pur minuziosamente preparate dalle mani di due anziani esperti, fornivano andamenti ondovaghi e tutt'altro che lineari, capricciosamente nel medesimo giorno, prima e dopo pranzo.

Con non poco incredulo disappunto, emerse che l'isotopomero commercialmente disponibile, pur a caro prezzo, al momento e recante i tre atomi di Deuterio nella porzione aromatica, già iniziava a retro-scambiare con l'acqua le posizioni di marcatura pochi giorni dopo aver preparato la soluzione-madre di standard interno. Dolorosamente, anche la frammentazione della specie marcata, misurata nella soluzione di fresco preparata, si rifiutava di fornire una coppia di segnali precursore-prodotto in grado di consentire la misura: anche in fase gas, e nelle condizioni apparentemente "blande" della ionizzazione per elettro-nebulizzazione (ESI), atomi di Idrogeno e di Deuterio in posizioni apparentemente stabili si scambiavano in un inestricabile "scrambling della marcatura", neppure interessante da studiare spettroscopicamente. L'unico altro prodotto isotopomero commercialmente disponibile con grande fatica e a prezzo ancor più esoso (quattro Deuteri nelle posizioni metileniche), pur stabile in soluzione, anch'esso forniva alla frammentazione, per la medesima ragione, una coppia precursore-prodotto del pari inadatta all'impiego in diluizione isotopica. Fu solo la mia ideazione di un isotopomero specifico, già noto ma essenzialmente rimasto nell'ombra inutilizzato, reso a noi disponibile con inattesa facilità per sintesi ad opera di un chimico organico dalla mano miracolosa, a consentirci di sviluppare finalmente il metodo necessario.

Risultato finale è stata, infine, la messa a punto di un metodo multi-analitico, in grado di misurare negli estratti vegetali di cibi ad alto valore nutritivo una ricca serie di metaboliti del triptofano, accompagnati, classe per classe, ciascuno da uno standard interno analogo o isotopicamente marcato [71].

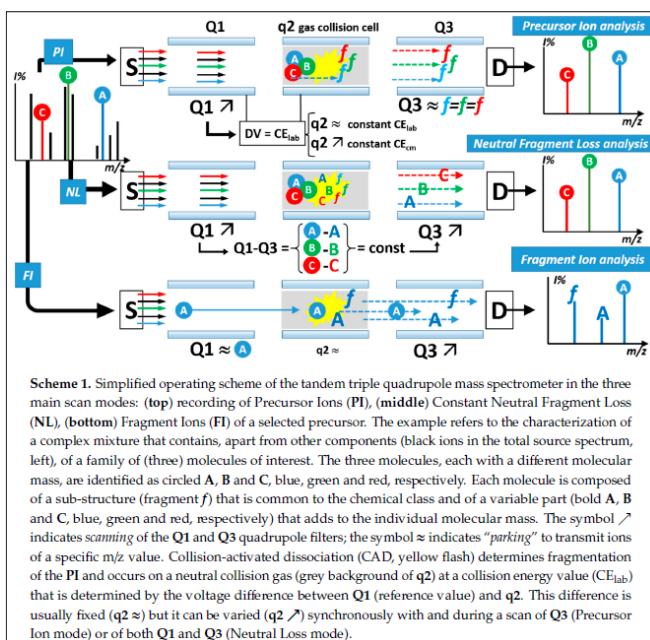
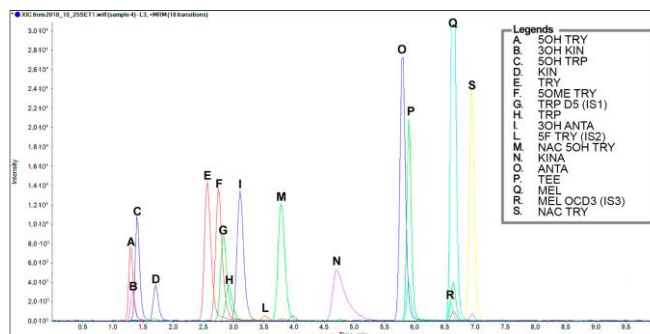
La richiesta di caratterizzare la composizione dei "ceramidi" (lipidi azotati che avevo già studiato quasi trent'anni prima e che costituivano l'oggetto della ricerca dei nostri maggiori collaboratori interni) contenuti nei vegetali ad alto valore nutritivo (semi e noci di pistacchio e mandorla) ma mai studiati nel dettaglio, mi ha consentito di realizzare, finalmente, su uno spettrometro a triplo quadrupolo (TSQ) di più moderna realizzazione, l'ultimo esperimento spettroscopico possibile in questa configurazione strumentale.

La ragione dello straordinario successo del TSQ, specialmente nell'applicazione analitica, e dei suoi modi multipli di impiego in spettroscopia (schematizzati nella Figura; [73]) è la sua capacità, esaltata dai progressi nell'informatizzazione del controllo strumentale, di far avvenire la reazione di frammentazione distintiva di ciascun composto in condizioni di energia esattamente definite dall'Operatore, imponendo una specifica differenza del potenziale elettrico di trasmissione degli ioni precursore attraverso la cella di collisione dello strumento (il quadrupolo intermedio) e diretti, insieme ai frammenti prodotti, verso il quadrupolo analizzatore (v. Figura a lato). Un dettaglio sperimentale di fondamentale importanza è costituito dalla relazione fisica tra la massa molecolare (in realtà, il rapporto m/z) dello ione precursore, la massa della molecola neutra del gas di collisione, la differenza di potenziale tra i due quadrupoli e l'entità dell'energia di collisione "effettiva" (in gergo, "al Centro di Massa") con la quale avviene la decomposizione dello ione precursore

$$(E_{\text{eff}} = DV * (m_{\text{gas}} / (m_{\text{gas}} + m/z))).$$

Solamente il TSQ è in grado di modulare con continuità la differenza di potenziale inter-quadrupolo da un valore essenzialmente "zero", al quale il precursore non è ancora in grado di frammentarsi, a valori progressivamente più elevati, ai quali si formano con efficienza sempre maggiore i frammenti, la cui natura è definita dalle caratteristiche strutturali della sostanza esaminata.

In breve, a parità della differenza di potenziale inter-quadrupolo, l'energia di collisione "effettiva" sugli ioni molecolari precursore cala con una funzione non-lineare di m/z . Al contrario, è possibile fare in modo che una classe di specie chimiche analoghe, diverse per massa molecolare in funzione di modificazioni strutturali di una base comune, vengano frammentate in spettrometria di massa "tandem" nel triplo quadrupolo mantenendo costante il valore "effettivo" dell'energia di collisione, e quindi la probabilità di formazione ("cross-section"; e quindi dell'intensità relativa) di un frammento caratteristico. Questa modalità di funzionamento del TSQ risulta possibile linearizzando l'equazione sopra riportata, che diviene ($DV = E_{\text{eff}} + E_{\text{eff}} * (m/z / m_{\text{gas}})$), e l'esperimento diviene eseguibile se l'elettronica di gestione e il software strumentale consentono di far variare velocemente, ovvero nel corso della scansione di m/z dei quadrupoli analizzatori (nell'ordine del secondo, o di una frazione) il potenziale inter-quadrupolo. Un piccolo modulo di calcolo, sotto forma di un foglio Excel, mi consente di effettuare il calcolo velocemente e senza tema di errore, in modo da facilitare l'esecuzione degli esperimenti, impostando nel software di gestione strumentale i corretti valori dei parametri. La disponibilità di alcuni intervalli

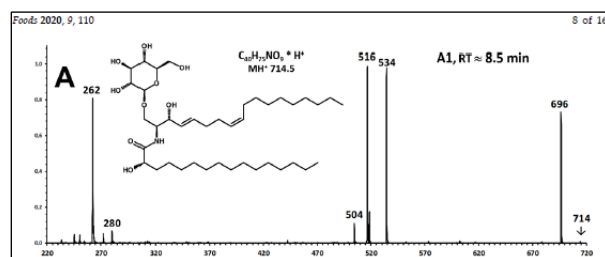
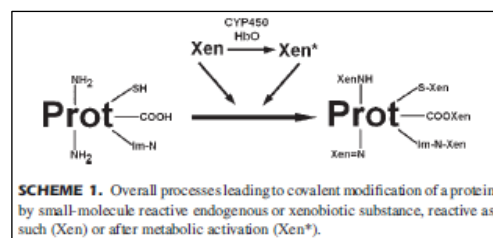
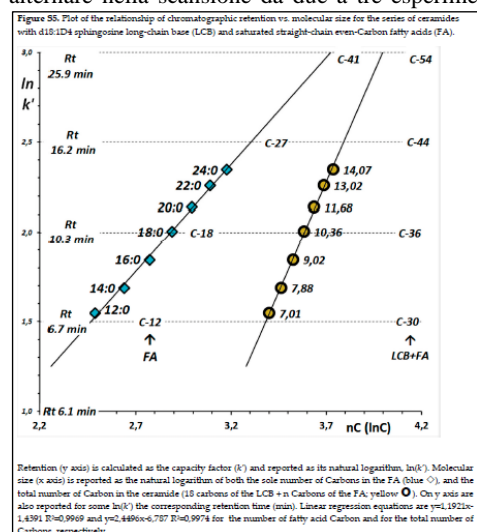


di tempo-macchina mi consentì di verificare che il nostro strumento consente questa modulazione veloce e di applicare in modo “pilota” questa tecnica con un paio di applicazioni “proof-of-principle”, facendo operare il TSQ sia nella modalità “tandem” di “ricerca dei precursori a frammento ionico comune” (Parent, o Precursor Ion Scan), sia nella più complessa modalità di “ricerca della perdita neutra” (Neutral Loss Scan), nella quale, addirittura, tutti i tre potenziali di quadrupolo devono scansionare “in sincrono”. Entrambe queste modalità consentono di “filtrare”, nell’analisi di un campione complesso, solamente “famiglie” di componenti di interesse, caratterizzate da una struttura e da una via di frammentazione comune. Nel primo caso (Precursor Ion Scan), la caratteristica comune è un frammento ionico, nel secondo (Neutral Loss Scan), la produzione di un frammento neutro.

Due famiglie di composti risultarono, nell’immediato, disponibili e adatte a verificare la potenzialità del metodo strumentale. Dapprima, per verificare la possibilità di effettuare la “scansione dei precursori” ho utilizzato una miscela di amminoacidi derivatizzati col cromoforo “dabsile”, intensamente colorato in rosso, utilizzando come frammento comune “reporter” quello derivante dal cromoforo medesimo. Successivamente, per esaminare la possibilità di effettuare l’esperimento di “ricerca della perdita neutra” ho utilizzato una serie di ribo- e desossiribo-nucleosidi, alcuni dei quali recanti una modificazione covalente della nucleobase, per i quali la transizione “reporter” è costituita dalla perdita della porzione glicosidica come frammento neutro. [73].

In entrambi i casi, l’esito positivo dell’esperimento apre la strada ad applicazioni con valenza epidemiologica nella “dosimetria degli addotti covalenti” di “sostanze genotossiche alchilanti” con le proteine circolanti, albumina sierica ed emoglobina eritrocitaria. Un’applicazione ben nota di questa strategia dosimetrica è la misura della frazione di “emoglobina glicata” (base di Schiff del glucosio con il gruppo amminico terminale delle catene proteiche) impiegata come indice del buon controllo della glicemia media del trimestre nel soggetto normale e dell’efficacia del controllo farmacologico della glicemia nelle forme di diabete e di sindrome metabolica. La medesima strategia, applicata allo studio della popolazione esposta a sorgenti di contaminazione ambientale, professionale e proveniente da stili di vita e condizioni fisiopatologiche, può essere applicata, ancorché raramente, alla stima dell’esposizione ad alcuni agenti genotossici, alchilanti come tali (ossido di etilene, composti acrilici, agenti alchilanti come alcuni farmaci antineoplastici) o dopo la conversione metabolica, che introduce gruppi funzionali reattivi (benzene, idrocarburi aromatici policiclici, butadiene, convertiti in epossidi), che reagiscono con alcuni gruppi funzionali delle proteine (tra cui alcuni residui di cisteina dell’emoglobina e dell’albumina; v. Schema), attraverso tecniche sperimentalmente complesse, che fanno un uso estensivo delle tecniche di spettrometria di massa. Strumenti con prestazioni ancor più raffinate (in termini di elevatissima risoluzione e sensibilità) consentono oggi di estendere la misura non di un solo agente nocivo per volta, ma, in linea di principio (impiego della tecnica “in scansione”), di “tutti” gli agenti chimici tossici “alchilanti” cui l’organismo è esposto a livello di tracce [38], nel cosiddetto “approccio espos-omico”. Per sviluppare questo ambito di interesse, che tuttavia richiede, per la sua effettiva realizzazione in progetti di ricerca di epidemiologia molecolare, imponenti mezzi tecnici e la disponibilità, di standard autentici di sintesi e dei corrispondenti standard interni marcati con isotopi stabili, condussi una rassegna bibliografica volta a riassumere le informazioni presenti nella letteratura pubblicata fino al 2008 circa, sugli addotti proteina-xenobiotico provenienti dallo studio di esposizione a sostanze genotossiche industriali e sui loro livelli misurati come “basali” nella popolazione generale. La rassegna bibliografica prodotta [49] costituisce una fonte bibliografica ben citata, anche se il progetto di ricerca di cui essa costituiva la premessa intellettuale non venne mai a materializzarsi.

La tecnica inconsueta di spettroscopia collisionale a energia costante da me messa a punto (in realtà, applicata in modo occulto in alcuni strumenti tandem, con nomi esotici come “Rolling Energy”, non esplicitata nei manuali d’uso, taciuta nel suo significato dagli addestratori durante i corsi, e priva di controllo da parte dell’Operatore) mi ha consentito di esaminare gli estratti della frazione lipidica di pistacchi e mandorle, e di identificare in essi una coppia di glicosidi ceramidici (“cerebrosidi”) costituiti da una base sfingosina “esotica”, che reca un’insaturazione supplementare della catena C18, e di due acidi grassi saturi C16, dei quali uno idrossilato, verosimilmente nella posizione -alfa [72]. Poter alternare nella scansione da due a tre esperimenti (da 0,5 o da 1 secondo l’uno)



mi ha consentito di identificare, con un esperimento di perdita neutra, la natura glicosidica di ciascuno dei componenti, di caratterizzarne la porzione sfingosina come una delle quattro scelte possibili, e infine di definire di ciascuno la massa molecolare e (di conseguenza) la natura del residuo acilico (le Figure che dimostrano il tutto sono parecchie, complesse, e si vedono in modo apprezzabile solo nell’articolo originale, paginato ad-hoc per consentire l’allineamento delle immagini).

Un elemento ancor più inconsueto, ma che si è reso indispensabile in una fase critica di esame di risultati preliminari, è stata la costruzione di una relazione empirica ma quantitativa tra la ritenzione dei singoli ceramidi nell’eluizione cromatografica scelta (espresso come fattore di capacità k' , nella sua forma logaritmica $\ln(k')$) e la lunghezza dell(e) loro caten(e) alchilic(he), sia come composizione totale che come solo numero di atomi di carbonio del residuo di acido grasso. Poter congetturare, sulla base delle relazioni lineari bi-logaritmiche calcolate, il numero di gruppi metilenici formalmente atteso da un composto che eluisce nel cromatogramma al suo specifico tempo, e poterlo confrontare con la

dimensione molecolare oggettivata dalla sua massa molecolare misurata dallo spettrometro di massa ha consentito di render conto di un'osservazione che, senza questo criterio di verifica, avrebbe condotto alla "scoperta" fittizia di un raro ma inesistente nuovo composto. A ulteriore spiegazione, abbiamo potuto renderci conto che l'analisi di "campioni reali", ovvero di estratti grezzi di autentico materiale naturale, comporta, anche per la miglior tecnica di spettrometria di massa tandem, la possibilità di cadere in artefatti subdoli, dovuti non tanto all'inefficiente specificità della "transizione" scelta (ancora la validissima coppia precursore-prodotto per i ceramidi col pivot a m/z 264 da me pubblicata nel 1994 [27]), ma la presenza in misura massiccia di un interferente nel campione, costituito dalla grande abbondanza di trigliceridi che sovrachia di alcuni ordini di grandezza i ceramidi, presenti a livelli di alcune parti-per-milione (o micro/g).

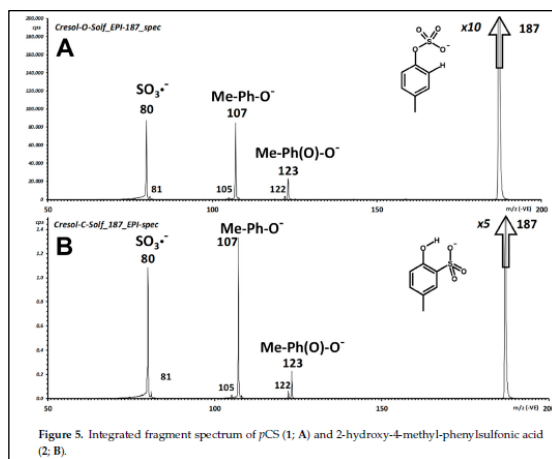
La richiesta di partecipare alla messa a punto di un metodo analitico LC-MS per la misura di alcuni bio-indicatori di insufficienza renale, costituiti dagli esteri solfati di fenoli biologici, il p-cresil-solfato e l'indossil-solfato, è stata occasione di un'altra esperienza sorprendente. La preparazione dell'introvabile standard di p-cresil-solfato, condotta secondo "certissime" indicazioni di letteratura da un chimico organico di grande esperienza, si rivelò un altro labirinto di contraddizioni, nel quale solamente la spettroscopia NMR (1-H e 13-C) rivelava con altrettanta certezza che il prodotto ottenuto non era quello desiderato, ma l'acido o-solfonico isomero, di nessun interesse applicativo. Al contrario, sia la separazione HPLC, condotta su una serie di colonne con fasi stazionarie differenti da un altro sperimentato anziano della tecnica, sia la spettrometria di massa tandem in triplo quadrupolo, condotta da me, si rivelarono ripetutamente incapaci di discriminare i due prodotti isomeri (v. spettri a lato). Questa incongruenza ha gettato una luce ambigua sulla verosimiglianza di misure dei livelli dell'indicatore (ancora non di impiego clinico), considerando che esse sono riferite a standard commerciali del prodotto, di disponibilità peraltro erratica e forniti privi di caratterizzazione. Soprattutto l'impossibilità di discriminare alla frammentazione unimolecolare i due isomeri (schiaffo morale nella lunga tenzone tra NMR e Massa!) mi ha condotto a esaminare i due isomeri (finalmente due minuscoli campioncini accuratamente e separatamente prodotti, di struttura certa e trattati con ogni forma di rispetto) con tutte le tecniche di spettroscopia collisionale disponibili sul nostro triplo quadrupolo, il cui terzo quadrupolo può operare sia nella modalità consueta "filtro", sia in quella di "trappola ionica lineare". A spiegare, almeno in apparenza, le incongruenze, la decomposizione unimolecolare dell'anione (specie deprotonata) appare corrispondere a quella di una coppia anione-neutro, inizialmente costituita dall'anione fenolato e dall'anidride solforica in forma neutra, generati attraverso l'unica via di frammentazione accessibile. Avviene poi una reazione di trasferimento mono-elettronico, che genera l'anione-radical dell'anidride solforica (la specie nota alla biologia dello stress ossidativo e alla scienza dell'ambiente come STAR), e nella quale l'anione fenolato si è convertito nel corrispondente radicale fenolico neutro [69]. A render conto della possibilità che la specie originata dalla ionizzazione ESI sia realmente la coppia in fase gas, e non la molecola integra dell'uno o dell'altro isomero, separatamente analizzati, vi sono alcune osservazioni della letteratura recente, secondo le quali l'elettronebulizzazione delle soluzioni è in grado di far avvenire velocemente reazioni chimiche in soluzione nelle nano-gocce prodotte. La verosimile interconversione dell'acido solfonico e dell'estere fenol-solforico a una struttura comune, fenomeno che con tutta probabilità avviene nel gradiente di pressione tra la formazione delle nano-gocce nebulizzate e la desolvatazione finale delle specie, è un'ulteriore esempio di quanto complessa, e spesso trascurata sia la reattività chimica insita nei fenomeni di ionizzazione, anche con le tecniche che amiamo gabellare per "blande" (un "assaggio" del tesoro nascosto lo ebbi con il FAB, ai miei primordi, nell'analisi di molecole della classe della fisostigmina [11]).

Tra le velleità in cerca di un guizzo di fortuna e d'entusiasmo, appare la possibilità di impiegare questa inopinata reazione nella misura dei potenziali ossidoriduttivi dei fenoli di interesse biologico quali antiossidanti naturalmente presenti negli alimenti vegetali qualificati come di valore nutraceutico. Dopo aver misurato i potenziali redox "bi-elettronici" della serie tiolica [48], questa sarebbe l'opportunità di estendere l'approccio a sistemi redox "mono-elettronici" organici, più numerosi, chimicamente eterogenei e il cui ruolo è possibile studiare solamente con indicatori sintetici quale il potere antiossidante globale esercitato nei confronti di ossidanti diversi.

Un elemento comune ad almeno i tre metodi messi a punto, per la melatonina, per i ceramidi e per i fenolo-solfati, appare essere la (peraltro nota e utilizzata) produzione di ioni-frammento nella sorgente ESI, in funzione del valore di un parametro strumentale modulabile (il cosiddetto "potenziale di desolvatazione"), legata all'avvenire di reazioni con catalisi acido-base negli ultimi stadi della desolvatazione. Misure estemporanee, e al momento ancora prive di razionalizzazione, mi hanno dimostrato che è possibile studiare questi comportamenti avvalendomi di alcuni metodi di spettroscopia energetica ("termometria ionica") messi a punto da me nel corso degli anni sui miei spettrometri, confrontando con i parametri di decomposizione nel triplo quadrupolo degli ioni organici isolati i processi che avvengono nella zona intermedia delle diverse sorgenti elettronebulizzanti, in funzione delle scelte di ingegnerizzazione adottate da produttori differenti. Questo studio, apparentemente di natura ed interesse puramente conoscitivo, va anche a vantaggio della possibilità di ottimizzare in modo razionale le condizioni strumentali di produzione degli ioni, con l'obiettivo finale di migliorare la sensibilità dei metodi analitici che impiegano la LC-MS con ionizzazione ESI.

Nel corso degli anni, avventure (non solo analitiche) di varia umanità

L'installazione "in sicurezza" di un sistema di Assorbimento Atomico (GFAAS) per la misura di metalli in traccia rappresenta un impegno organizzativo difficile da realizzare, spesso in carenza di locali dedicati e di sistemi di isolamento efficienti ("laboratorio pulito"). La misura dell'Alluminio nell'acqua e nei liquidi per dialisi peritoneale rappresentava una questione di salute pubblica di urgente interesse, ma il Laboratorio non disponeva di una struttura adeguata, per l'imminente dismissione dell'apparecchiatura. Al Chimico incaricato (che non ero io) venne l'idea di utilizzare una reazione di chelazione con 8-idrossichinolina e la formazione di un prodotto fluorescente per ovviare alla mancanza, ormai, del GFAAS. Il risultato, (di fatto una "soluzione tampone", la battuta la facemmo già noi ...) bastò a superare la crisi organizzativa, fino a che la questione passò in capo ad altri [43].



Il Centro Internazionale per la Salute Rurale (ICRH-WHO-CC) fornisce consulenza tossicologica nell'ambito delle sue attività istituzionali, in prevalenza a Enti pubblici impegnati nella tutela della salute e che si trovano nella necessità di ottenere pareri esperti sui quali fondare loro decisioni di natura tecnico-amministrativa. Un'analisi di routine dell'acqua di pozzo erogata in un gruppo di Comuni italiani fece registrare, attraverso misure in gas-massa, la presenza di un componente organico estraneo, identificato come triisopropil-fosfato (TIP) e presente nei campioni esaminati a livelli dell'ordine di 0,5-2 microgrammi /L. La sostanza "non è (era) normata", ovvero il decisore pubblico non aveva, al tempo, stabilito un valore limite specifico il superamento del quale rende l'acqua inaccettabile per l'erogazione al pubblico quale acqua potabile. Per questa ragione, l'Ente di competenza decise di avvalersi di una convenzione di servizio in essere con il Centro per chiedere una consulenza tossicologica "a parere", della cui redazione "preliminare" (e in pratica unica) io fui incaricato. Le informazioni sulla sostanza, di impiego industriale, tra l'altro quale mezzo solvente e disperdente di inchiostri e coloranti tessili (una stamperia era presente nell'area interessata, ma questo esulava dal nostro stretto mandato), erano assai scarse, e quasi nulle quelle di natura tossicologica. Il fatto che, tecnicamente, la sostanza potesse appartenere alla classe chimica degli "organofosfati" non rappresentava, per la popolazione e per i responsabili istituzionali della tutela della salute pubblica un'informazione in alcun modo rassicurante: parenti stretti di pesticidi e gas nervini! L'immediata alternativa era sospendere, in via precauzionale, l'erogazione dell'acqua di rete a parecchie decine di migliaia di abitanti, e ad ancor più idrovori animali da allevamento in un numero ben multiplo. In caso contrario, nella migliore delle ipotesi, si sarebbe trattato di far esporre la popolazione, e i suoi preziosi animali da latte e da carne, a un'ulteriore sostanza tossica, assumendosene responsabilità per il presente e per il futuro. Col pochissimo che avevo in mano, ma con le risorse bibliografiche di un grande ateneo a disposizione (provare per credere, cosa fa la differenza!), cercai di affrontare la questione in un modo che fosse condivisibile anche da coloro i quali avrebbero dovuto accettare i miei risultati e trasformarli in decisione amministrativa. Sulla base di una stima della dose assunta con l'acqua potabile (e nessun'altra via possibile, e il calcolo "si fa" così come previsto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità), cercai di capire quali livelli medi potessero essere raggiunti, in condizioni di esposizione ormai cronica, nei diversi organi (alcuni sono "grassi", altri "acquosi"), in funzione dell'unico parametro noto, il coefficiente di distribuzione "ottanolo-acqua", ma senza informazioni sul tasso biologico di smaltimento (la "clearance"), sulla quale dovevo andare pressoché "a fantasia", in assenza di informazioni e della possibilità di ottenere il dato per via sperimentale. Organo per organo, calcolai (accettando o respingendo ipotesi più o meno realistiche dei parametri) le concentrazioni attese nei verosimili tessuti-bersaglio, a composizione prevalentemente lipidica (sistema nervoso) o acquosa (muscolo, organi parenchimatosi). Ciò posto, cercai di capire che "tipo di tossicità" acuta e cronica potesse essere associato a quei livelli (risultati peraltro assai ridotti, nell'ordine nanomolare) di sostanza, perché potesse comparire una sintomatologia tossica, specialmente di natura cronica o dovuta al fenomeno di accumulo. Considerando i livelli stimati, per essere realmente pericolosa per la salute umana, la sostanza avrebbe dovuto essere assai attiva farmacologicamente, nelle modalità di reattività (bio)chimica caratteristica di quegli esteri fosforici che vedono come principale bersaglio molecolare gli enzimi esterasici. Era nota, storicamente, un'epidemia di grave neurotossicità avvenuta negli anni 1920-30 negli USA, causata dall'uso sconsiderato di un analogo, il tricresil-fosfato, come co-solvente di una preparazione farmaceutica "da banco". Al contrario, i pochissimi dati di letteratura disponibili mostravano la sussistenza di una generica tossicità e di neurotossicità periferica nell'animale da esperimento, peraltro dopo trattamento a dosi realmente elevate, ma nessuna attività anti-colinesterasica. Sulla ragione per cui il TIP non mostra alcuna attività anti-esterasica fornì qualche informazione un lavoro russo di chimica computazionale, che attribuiva all'impedimento sterico dei residui alchilici l'impossibilità della molecola del TIP di interagire con il suo bersaglio molecolare. Esito finale di questo studio [116], condotto sotto la spinta di un censimento regionale di situazioni di criticità, condusse a sollecitare l'Istituto Superiore di Sanità a definire in modo autorevole il valore limite, eventualmente omologando la sostanza, considerata apprezzabilmente "inerte", agli idrocarburi alifatici per i quali un valore limite di concentrazione totale era già stato assegnato.

Tabella II. Esito della simulazione - Dosi e concentrazioni di TIP per valori tipici di emivita biologica

t _{1/2} (giorni)	dose TIP mg/die	[TIP] _{ss} mg/L	dose TIP _{ss} (μg)	dose TIP _{ss} (μg/kg _{bw})	tempo accumulo (giorni)	acqua [TIP] _{ss} μg/L	grasso [TIP] _{ss} μg/L	acqua [TIP] nmol/L	grasso [TIP] nmol/L
1	5,4	0,18	398	5,7	74	0,2	29	0,8	130
5	5,4	0,92	1.988	28,4	370	0,9	146	4,1	652
10	5,4	1,85	3.977	56,8	740	1,9	294	8,3	1.311
30	5,4	5,54	11.930	170,4	2.221	5,6	878	24,8	3.918

peraltro assai ridotti, nell'ordine nanomolare) di sostanza, perché potesse comparire una sintomatologia tossica, specialmente di natura cronica o dovuta al fenomeno di accumulo. Considerando i livelli stimati, per essere realmente pericolosa per la salute umana, la sostanza avrebbe dovuto essere assai attiva farmacologicamente, nelle modalità di reattività (bio)chimica caratteristica di quegli esteri fosforici che vedono come principale bersaglio molecolare gli enzimi esterasici. Era nota, storicamente, un'epidemia di grave neurotossicità avvenuta negli anni 1920-30 negli USA, causata dall'uso sconsiderato di un analogo, il tricresil-fosfato, come co-solvente di una preparazione farmaceutica "da banco". Al contrario, i pochissimi dati di letteratura disponibili mostravano la sussistenza di una generica tossicità e di neurotossicità periferica nell'animale da esperimento, peraltro dopo trattamento a dosi realmente elevate, ma nessuna attività anti-colinesterasica. Sulla ragione per cui il TIP non mostra alcuna attività anti-esterasica fornì qualche informazione un lavoro russo di chimica computazionale, che attribuiva all'impedimento sterico dei residui alchilici l'impossibilità della molecola del TIP di interagire con il suo bersaglio molecolare. Esito finale di questo studio [116], condotto sotto la spinta di un censimento regionale di situazioni di criticità, condusse a sollecitare l'Istituto Superiore di Sanità a definire in modo autorevole il valore limite, eventualmente omologando la sostanza, considerata apprezzabilmente "inerte", agli idrocarburi alifatici per i quali un valore limite di concentrazione totale era già stato assegnato.

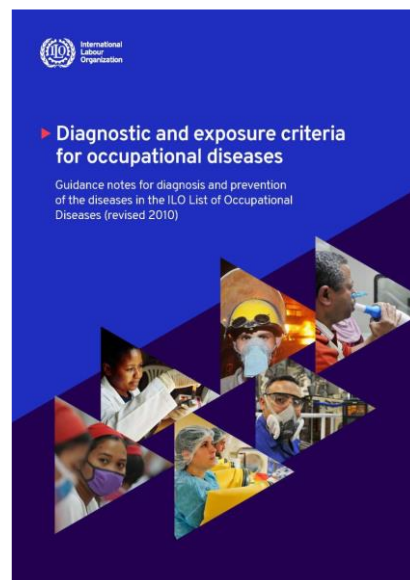
Al Laboratorio CeMOC venivano affidate le emergenze più diverse: per alcuni anni, il pericolo di reazione allergica alle sostanze più subdole (perché in apparenza innocue, o inimmaginabili le sorgenti di esposizione, e gli effetti possono essere immediati e tragici) rappresentò un oggetto di allarme in molti settori, nella Sanità come nella vita comune. L'unico modo per oggettivare la presenza di sostanze allergizzanti negli ambienti è raccogliere campioni di polvere ambientale, oppure depositata sulle superfici, e stimarne il potere allergenico con saggi bio-allergologici. La biologa che metteva a punto i saggi si rivolgeva a me sia per il campionamento, sia per la conversione delle sue misure in valutazioni igienistiche [31]. Il saggio allergologico si svolge per diluizione scalare dell'estratto, fino a che la reazione antigene-anticorpo non può più venir osservata: una classica "sigmoide", in cui la "potenza" dell'estratto, e quindi la concentrazione dell'allergene (di volta in volta, le proteine del latte di gomma dei guanti chirurgici, delle farine di panificazione, dei parassiti presenti nelle farine, del latte, presente come aerosol in alcuni laboratori alimentari, "aerolatte"), è rappresentata dal valore di inibizione 50%, misurato in condizioni di volta in volta normalizzate [84]. Un riferimento bibliografico-chiave (ora più irripetibile) nella misura dell' "aerolatte" descriveva il procedimento adottato per la verifica della conformità di prodotti alimentari "privi di latte" alla codifica rituale ebraica, secondo una regola contenuta in un testo, il Talmud, redatto e mai più cambiato tra gli anni di Costantino e quelli di Maometto. La regola rituale descritta (regola dell' "uno-in-sessanta", quale valore limite per la presenza di inaccettabili sostanze, estranee o incompatibili in un cibo ritualmente ammesso) fa riferimento alla medesima tecnica di saggio degli estratti che il farmacista-speziale e lo scienziato sperimentale adottano da quasi due secoli. Nel corso di vent'anni, mi sono domandato se quell'antica procedura sia la più remota testimonianza di analisi chimica quantitativa a noi giunta dall'Antico Mediterraneo, improvvisandomi, "ad ora incerta", storico della Chimica. Per quanto può valere la conclusione raggiunta da un dilettante curioso, vi sono, negli antichi testi, testimonianze esplicite, per il Chimico analista, di un impiego consapevole, da parte di sperimentatori dell'Egitto ellenistico, di metodi quantitativi per la ricerca dell'effetto biologico delle sostanze, per l'oggettivazione di stati di salute attraverso la misura di indicatori chimici con l'uso di reagenti e reazioni colorimetriche, della consapevolezza dell'esistenza di relazioni quantitative dose-effetto, antesignane dell'assioma paracelsiano "dosis sola facit / ut venenum sit". Il Talmud ebraico si rivela così una "capsula del tempo" nella quale ricercare le forme della cultura scientifica ellenistica dimenticata, seguendo il cammino di recente aperto per la rianalisi dei prodotti intellettuali della scienza ellenistica da parte di Lucio Russo (La Rivoluzione Dimenticata, Feltrinelli 2013). In un atto di

sconsiderato coraggio nella solitudine intellettuale, ho dato forma provvisoriamente compiuta a queste riflessioni, approfittando dell'ospitalità di una rivista fiorentina, SUBSTANTIA, recentemente costituita [172].

Nulla mi sarei atteso di meno, che essere coinvolto nell'attività delle Organizzazioni internazionali. L'International Labour Office (ILO) di Ginevra è la più antica e discreta delle grandi Organizzazioni internazionali, nata nel 1919 ai tavoli della Conferenza di Versailles, sopravvissuta a una Guerra mondiale e a una Fredda, senza mai dimenticare il mandato conferito da uomini nobili, di tutelare i diritti del Lavoro e di trasformare il conflitto "del Sangue e dell'Oro" in discussione ragionevole, non tra avversari senza mercé l'uno dell'altro, ma tra inevitabili collaboratori nel Progresso collettivo [169]. Nel 2009 viene chiesto alla Clinica del Lavoro di Milano di porre a disposizione competenze per redigere i documenti "backgrounder" per una sessione della riunione "tripartita" (questo è il metodo di lavoro di ILO) tra organizzazioni datoriali, sindacali e rappresentanti dei Governi degli oltre 170 Paesi membri. Chi ci recluta è il Segretariato di ILO: non decide nulla, è come il padron di casa di un salotto novecentesco, Quel Che Resta del Giorno; il Funzionario mi spiega che lì si fa la Legge Internazionale, la fanno i Tripartiti, ma hanno bisogno "di noi" perché le informazioni di base siano corrette e condivisibili, poi ciascuno porterà i suoi esperti in proposte e contro-proposte e "se la vedranno tra loro", sotto l'occhio vigile del padron di casa. Oggetto della riunione plenaria è ricercare nuovamente un consenso sull'ampliamento, ormai necessario dopo oltre 30 anni, della lista delle malattie professionali che le legislazioni dei Paesi membri dovranno riconoscere, indennizzare, segnalare e prevenire. Nel corso dell'ultimo decennio sono ripetutamente fallite, per il mancato accordo su questo o quel "dettaglio": ogni malattia, o agente causale, in più o in meno, significa, per una parte, miliardi di Dollari di risarcimenti e spese obbligatorie di prevenzione; per l'altra, milioni di Lavoratori inabilitati o morti; per i Governi, responsabilità ulteriori di tutela. Mi vien chiesto dapprima di verificare minuti dettagli di documenti in bozza: cos'è questo nome chimico copiato-e-incollato con i suoi tre ordini di parentesi e trattini e gli "a capo" casuali; sarà vero che la Sostanza X (solita ironia sullo scioglilingua di numeri e parole) si usa nell'Industria Y; cosa sono questi numeri in pi-pi-emme-bi-vi, e se assomigliano a questi altri nientogrammi-per-metrocubo che usa il Governo della Marzania. Sono oltre 100 documenti, 40 classi di agenti chimici, 20 cancerogeni, 40 malattie, ciascuna coi suoi agenti causali, "open items", ovvero l'esame su tutto il programma, anche degli anni scorsi. Tanto per rendere tranquillo il lavoro, l'orologio ticchetta sinistro verso la data ultima no-delay, se fallisce la Conferenza non se ne parla più per altri dieci anni; ma di questo dettaglio sei sicuro? Attento, c'è in gioco... Vuol dire, per mesi smettere di fare alcunché d'altro, essere messo in c/c (e nell'ancor più sinistra c/c-n, ufficialmente non esiste e non sai niente) di furibonde risse tra esperti, chi è un estremista e chi-è-pagato-da-chi, solo conoscenza sound, niente fughe in avanti della ricerca. Riunione preliminare prima della convocazione a Ginevra, coordinatore ben oltre la soglia della crisi di nervi: tre persone, tre trolley di monografie a stampa, due portatili a testa, backgrounder stampati in tutte le forme possibili, con la loro bibliografia raccolta, un fascicolone per argomento. Dovremo stare nei banchi in fondo a una certa sala, tra noi e il tavolo del Segretariato file di decine di nuche di Rappresentanti ed Esperti, cuffie di nulla ergonomia dolorosamente incollate alle tempie, se necessario (e lo sarà), quiz che neanche il pomeriggio in tivù, e siamo noi a dover fornire "gli aiutini da casa", in diretta mentre vien discusso quanti milioni di indennizzati in meno o in più. Sul tavolo, ogni monografia aperta alla pagina dell'indice, un pacco di strisce di carta colorate (un colore per monografia, ho saccheggiato la cartolaia di faccia alla scuola) a segnare le pagine dei principali topic; i due portatili a testa, uno aperto su PubMed (collegamento di UniMI, mai apprezzato così tanto la disponibilità di risorse bibliografiche di un'università rispetto al resto del mondo, e dire che "loro" sono le Nazioni Unite...), l'altro sulle monografie in pdf già pronte per l'immediata consultazione. La sera, congedati i convenuti alle loro diplomazie, rimango a disposizione del Segretariato che riassume i documenti e che ha bisogno che il medesimo agente chimico non sia riportato con tre nomi diversi, e che lo stesso nome non venga assegnato a tre cose. Tra il 27 e il 30 Ottobre 2009 i Tripartiti approvano la nuova Lista 2010 [170], ma non finisce qui. C'è la richiesta di trasformare l'elenco in un manuale "per la diagnosi, la notifica e la prevenzione", e l'insieme dei backgrounder nelle sue monografie costituenti. Inizia un lavoro decennale, più volte interrotto, sempre col timore che l'interruzione sia definitiva, e che le informazioni raccolte risultino, alla fine, datate. Ci si accorda su una struttura-base che integra definizioni (cos'è un elemento chimico, in termini giuridici? Come definire uno specifico composto, o una serie potenzialmente indefinita di composti, come includere, o escludere, mantenendosi all'interno della definizione accettata, che da capitolo di libro si fa articolo della Legge Internazionale?); descrizioni (linguaggio comprensibile a un non-addetto, ma se non è un addetto, cosa se ne fa?); tecnologie di produzione (ve ne sono di mitologiche, obsolete da generazioni, ma a cui la medicina del lavoro è affezionatissima); stato dell'arte (assodato!) nelle conoscenze tossicologiche e nella diagnosi clinica e di laboratorio (per questo, la preponderante maggioranza degli esperti sono medici del lavoro); interventi di prevenzione e protezione (sezione richiesta "a gran voce" dai rappresentanti tripartiti delle associazioni sindacali internazionali); valori tipici dei limiti di esposizione (differenti da Paese a Paese, e in continuo aggiornamento; senza appello vien cassata la mia proposta di affiancare, alla tabella dei valori-limite, una sezione sui metodi analitici disponibili e su quelli ufficialmente stabiliti dagli Enti di controllo dei Paesi che se ne dotano: sono l'unico Chimico del "core group", su un centinaio di esperti, tutti ampiamente di formazione medica, non c'è partita...); riferimenti bibliografici disponibili e accessibili ovunque, e il tutto in "sole" seicento pagine? [162]

Nota breve sui 15 articoli scelti per essere presentati.

Scegliere i quindici articoli da presentare quale dimostrazione delle mie capacità professionali si è rivelato, per me, una decisione gonfia di dubbi, di incertezze, e della sensazione di compiere, nei confronti degli articoli esclusi, un atto di consapevole ingiustizia. A ciascuno di essi è legata un'avventura, uno stato d'animo, l'esperienza umana della collaborazione appassionata, di compromessi conflittuali, della soddisfazione tranquilla del lavoro individuale o della sconsolata rassegnazione all'isolamento intellettuale. I migliori "agli occhi del mondo", per indicatori bibliometrici? Privilegiare gli episodi che mi vedono "condottiero", o "gregario fedele", partecipare ad imprese estemporanee con contributi richiesti e apprezzati, oppure subito come inevitabile interferenza del Chimico impiccione in *partibus infidelium*? Depurare senza indulgenza dagli articoli considerati "fuori tema"?



Se non altro, è un campione altamente disomogeneo e non-rappresentativo, scelto col solo criterio dell'escursione temporale, oppure raggruppando i pochi episodi che posso classificare come di lavoro organico, per lo più non scelto da me, e neppure da chi mi dirigeva, e soggetto al capriccio delle circostanze e delle decisioni amministrative. Nel complesso, è un articolo su sei, solo per caso approssimativamente un sesto dell'Impact Factor (32/190 circa) e del Numero di Citazioni (197 su oltre 1400-1800). Esclude, per deliberata scelta, quasi tutte le apprezzate rassegne bibliografiche, lavoro "di carta" condotto tre volte su quattro in solitaria (checheca dica la lista degli autori), "oggetto transazionale" (una psicologa fattasi tecnico di laboratorio...) che congela l'attività di ciascun laboratorio che, di volta in volta, scompare. Dei quindici, solo quattro compaiono (piazzi 6°, 9°, 10°, 12°) nella lista dei 15 con il maggior numero di citazioni. Non è un caso: tutti e quattro appartengono all'attività dell'unico Laboratorio, quello del CeMOC, per il quale era previsto, e poi smentito dai fatti, un ruolo organico in un sistema complesso di competenze che si volevano al servizio della collettività, e che era stato impiegato, ogni volta temporaneamente, "sul fronte" di una questione emergente.

- 1) F.M.Rubino: "Silylaldonitrile Derivatives for the Determination of Sugars by Gas Chromatography-Mass Spectrometry.", *Jour. Chromatogr.*, **473**, 125-33 (1989).

La prima volta "da solo"! Uno strumento "che costa quanto un appartamento", di cui aver cura. Indicazioni confuse, contraddittorie, su cosa si vuole da me. Migrare da un luogo di lavoro, con le carte rimaste. Anni dopo, un Collega sconosciuto, di là dai monti e dal mare, mi rintraccia e scrive, e mi chiede come può superare una difficoltà: sta applicando "your method" per misurare zuccheri riducenti e marcescibili nelle acque di un lago finlandese in corso di bonifica dopo un secolo abbondante di uso come cloaca di scarico della locale cartiera. (**IF rivista = 4,759; n° citazioni = 3**)

- 2) F.M.Rubino, L.Zecca: "Application of Triple-Quadrupole Tandem Mass Spectrometry to the Analysis of Pyridine-containing Derivatives of Long-Chain Fatty Acids and Alcohols.", *Jour.Chromatogr. Biomed. Appl.*, **579**, 1-12 (1992).

Sono ai comandi del primo triplo quadrupolo Finnigan TSQ-70 installato in Italia in una struttura di ricerca (leggenda narra che ve ne sia un altro, inesistente in remoti sotterranei, impiegato in occhiuti segreti ...): applicazioni senza limiti e sempre più complesse, come un adolescente che sgomma sulla ruota posteriore della motoretta rombante (mi pregio di aver preso la patente di guida quasi trentenne). Avrei potuto far molto di più di quegli esperimenti, ma allora non era possibile esportare dagli strumenti con mini-computer, i leggendari Digital PDP, i dati in forma binaria (e anche oggi, dipende ...). (**IF rivista = 2,990; n° citazioni = 7**)

- 3) A.Mosca, R.Paleari, F.M.Rubino, L.Zecca, G. De Bellis, S. Debernardi, F.Baudo, D.Cappellini, G.Fiorelli: "Hb Abruzzo (β 143(H21)His→Arg) identified by Mass Spectrometry and DNA Analysis.", *Hemoglobin*, **17**, 261-68 (1993).

Un caso di accanimento diagnostico, che rischiò di trasformare un sanissimo baby-pensionato maratoneta in un invalido cronico (venni a sapere, molto a posteriori). Il gusto del successo quasi blasé, un problema da me risolto in tre spettri – tre giorni, e pubblicato in compagnia in tre anni ... L'accoppiamento del FAB col triplo quadrupolo non è tutto il bene che si vuol dire, e occorreranno molti anni prima che peptidi e triplo quadrupolo, di un'altra generazione, possano andare d'accordo. (**IF rivista = 0,849; n° citazioni = 8**)

- 4) F.M.Rubino, L.Zecca, S.Sonnino: "Characterization of Ceramide Mixtures by Fast Atom Bombardment and Precursor and Fragment Ion Analysis Tandem Mass Spectrometry.", *Biol. Mass Spectrom.*, **23**, 82-90 (1994).

Il primo vero metodo analitico per i ceramidi in spettrometria di massa, e il mio congedo dalla Scienza Militante, o così mi sentivo. Stesse considerazioni strumentali, l'accoppiamento del FAB col triplo quadrupolo fa i capricci, e occorreranno, tra qualche anno, altre tecniche per realizzare l'unione perfetta. Però, che divertimento! Ciliegina sulla torta, la rivista "chiude" (e riaprirà col titolo attuale, ma oltreoceano). (**IF rivista = 1,982; n° citazioni = 16**)

- 5) Rubino FM, Floridia L, Tavazzani M, Fustinoni S, Giampiccolo R, Colombi A. Height Profile of some Air Quality Markers in the Urban Atmosphere Surrounding a 100m Tower Building. *Atmospheric Environment*, **32**, 3569-80 (1998).

Ricomincio daccapo: poca chimica minore e tanti numeri di cui venire a capo. Il "campo" non è il "laboratorio", doveva essere ovvio, ma così non fu. Inatteso successo di un'ipotesi peregrina, inattesa collaborazione da chi non ci si sarebbe mai atteso, e la soluzione a un rovello altrui. La "Scienza dell'Indoor" spetta però ad altri, e per noi è stata solo un'avventura. Da allora, però, guardo al Grattacielo come se fosse anche un po' mio. (**IF rivista = 3,630; n° citazioni = 18**)

- 6) Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Rubino FM, Colombi A. Measurement of Surface Contamination from Nucleoside Analogue Antineoplastic Drugs by High-Performance Liquid Chromatography in Occupational Hygiene Studies of Oncologic Hospital Departments. *J Chromatogr B*, **724** 325-334 (1999). (**IF rivista = 2,990; n° citazioni = 20**)

- 7) Rubino FM, Floridia L, Pietropaolo AM, Tavazzani M, Colombi A. Measurement of Surface Contamination from some Antineoplastic Drugs by High-Performance Liquid Chromatography for Occupational Hygiene Investigation in Hospital Departments. *La Medicina del Lavoro*, **90**(4) 572-583 (1999). (**IF rivista = 1,275; n° citazioni = 16**)

- 8) Rubino FM: "Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites." *Journal of Chromatography B*, **764** 217-54 (2001). (**IF rivista = 2,990; n° citazioni = 70**)

- 9) Rubino FM, Verduci C, Buratti M, Fustinoni S, Campo L, Omodeo-Salè E, Giglio M, Iavicoli S, Brambilla G, Colombi A. Assay of urinary α -fluoro- β -alanine by gas chromatography - mass spectrometry for the biological monitoring of occupational exposure to 5-fluorouracil in oncology nurses and pharmacy technicians. *Biomed. Chromatogr* **20** 257-66 2006 (**IF rivista = 1,902; n° citazioni = 13**)

Finalmente il piccolo Laboratorio "sperso dietro a QT8" sembra aver trovato una vocazione. Piccola storia di un problema temuto, affrontato e risolto, scienza e bricolage, cromatografia e psicologia. Metodi portatili e grandi attese, il Committente ha sempre ragione, i Lavoratori fanno domande e si attendono risposte. La soddisfazione di essere "l'esperto", fornire rassicurazioni, doversi assumere responsabilità, addirittura capire quando "è il tecnico a dover mediare", attento a non violare la propria, l'altrui etica, e la Legge. La Prevenzione è però un costo, la scelta non è una decisione tecnica, e questo è considerato un problema marginale: la tematica si affievolisce, senza neppure diventare routine.

- 10) Ghilardi G, Rubino FM, Pitton M, Massetto N, Bissi M, Bianciardi P, Samaja M, Carelli S. Evaluation of glutathionyl-haemoglobin in patients undergoing carotid endarterectomy. *J Cardiovasc Surg* (Torino) 2013 Apr 18 PMID: 23594507).

Il Collega entra con un'idea, e ne usciamo con due. Imparare a lavorare in sala operatoria, dove ti guardano strano perché non ti prendi da solo la vena... raccontini e barzellette, ma in un centesimo di secondo si fanno seri, e a quello lì, sotto i ferri può succedere qualcosa che i tuoi campioni te li sogni... Misure su un cavallo imbizzarrito, tutto da domare. Risultati inattesi, per loro rassicuranti, e buoni per un grande inizio. Però altri decidono, cambiamo presto tutti mestiere, e la pubblicazione è affrettata, giusto per mettere in salvo l'esperienza. (**IF rivista = 1,888; n° citazioni = 1**)

- 11) Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Ariano E, Alegakis A, Bogni M, Brambilla G, De Paschale G, Firmi A, Minoia C, Micoli G, Savi S, Sottani C, Somaruga C, Turci R, Vellere F, Tsatsakis A, Colosio C. Farmers' exposure to herbicides in North Italy: assessment under real-life conditions in small-size rice and corn farms. *Toxicol Lett.* 2012; 210(2):189-97. PMID: 22306369. **(IF rivista = 3,930; n° citazioni = 19)**
- 12) Mandić-Rajčević S, Rubino FM, Colosio C. Establishing health-based biological exposure limits for pesticides: A proof of principle study using mancozeb. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2020 Aug;115:104689. doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104689. PMID: 32544413 **(IF rivista = 2,890; n° citazioni = 3)**

Giusto un assaggio di cosa fa un Chimico ormai senza Laboratorio. Ancora dati altrui cui dare significato, giovani Colleghi da rassicurare, incongruenze da sciogliere con delicatezza, e come esito la proposta di un approccio inconsueto alla tutela della salute degli agricoltori, da proporre addirittura in sede normativa, e con la possibilità di estenderne l'applicazione anche alla popolazione generale.

- 13) Rubino FM. Center-of-Mass iso-Energetic Collision-Induced Decomposition in Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *Molecules.* 2020 May 10;25(9):2250. doi: 10.3390/molecules25092250. PMID: 32397650

Come resistere al lockdown. Finalmente il tempo di scrivere la sonata perfetta per Triplo Quadrupolo Solista. **(IF rivista = 4,148; n° citazioni = 1)**

- 14) Rubino FM. The Redox Potential of the β -93-Cysteine Thiol Group in Human Hemoglobin Estimated from In Vitro Oxidant Challenge Experiments. *Molecules.* 2021 Apr 26;26(9):2528. doi: 10.3390/molecules26092528. PMID: 33926119

A volte ritornano, come nel film. Una raffica di campioni, poi la pausa, e nel frattempo ancora la voglia di razionalizzare le informazioni, e di render giustizia intellettuale a un altrui esperimento la cui portata applicativa era stata sottovalutata. **(IF rivista = 4,148; n° citazioni = 1)**

- 15) Brizzolari A, Dei Cas M, Cialoni D, Marroni A, Morano C, Samaja M, Paroni R, Rubino FM. High-Throughput Griess Assay of Nitrite and Nitrate in Plasma and Red Blood Cells for Human Physiology Studies under Extreme Conditions. *Molecules.* 2021 Jul 28;26(15):4569. doi: 10.3390/molecules26154569. PMID: 34361720

Una richiesta gentile per un lavoretto da nulla, in apparenza, ma con la prospettiva di imbarco per i Tropici (io gli emoticon non li so usare, ma sarebbe proprio il caso ...). In Laboratorio possiamo simulare quasi tutto, ma non il rollio e il beccheggio. Se son rose ... **(IF rivista = 4,148; n° citazioni = 2)**

Milano, 18 Maggio 2022