

METODI DI ANALISI DEI COMPOST

Determinazioni chimiche, fisiche, biologiche
e microbiologiche

Analisi merceologica dei rifiuti



REGIONE PIEMONTE
ASSESSORATO ALL'AMBIENTE

COLLANA AMBIENTE

METODI DI ANALISI DEI COMPOST

**Determinazioni chimiche, fisiche, biologiche
e microbiologiche**

Analisi merceologica dei rifiuti

A cura di:

DIVAPRA

Dipartimento di Valorizzazione
e Protezione delle Risorse
Agro-Forestali
Settore di Chimica Agraria
Università di Torino

IPLA

Istituto per le Piant
da Legno e l'Ambiente
Torino

ARPA

Agenzia Regionale
per la Protezione
Ambientale del
Piemonte

Torino, 1998

Coordinamento e redazione:

Anna TROMBETTA	*
Enrico ACCOTTO	*
Giorgio BELFIORE	*
Giuseppe PICCONE	**
Salvatore PANTUSA	**
Pina NAPPI	****
Renzo BARBERIS	****

Hanno contribuito alla ricerca, messa a punto e stesura dei metodi:

Alessandro CIGNETTI, Mario CROSA **
Ornella ABOLLINO, Raffaele FERRARA, Roberto URSONE ***
Paola BOSCHETTI, Michele CONSIGLIO, Aldo PANZIA OGLIETTI****
Anna Maria GAFFODIO, Claudia OCCELLI, Enrica VICENZINO *****

- * Settore Smaltimento Rifiuti Solidi
Assessorato all'Ambiente - Regione Piemonte
Via Principe Amedeo, 17 - Torino
Tel. 011 / 43211 - Fax 011 / 4323961
- ** Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse
Agro-forestali (DI.VA.P.R.A.) - Università degli Studi di Torino -
Settore di Chimica Agraria
Via Leonardo Da Vinci, 44 - Grugliasco - Torino
Tel. 011 / 6708508 - Fax 011 / 4031819
- *** Istituto per le Piante da Legno e l'Ambiente (IPLA)
Settore Bioenergia
Corso Casale, 476 - Torino
Tel. 011 / 8998933 - Fax 011 / 8989333
- **** Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale del Piemonte (ARPA)
Area Ricerca e Studi
Via della Rocca, 49 - Torino
Tel. 011 / 8153222 - Fax 011 / 8153253
- ***** Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale del Piemonte (ARPA)
Dipartimento di Torino
Via S. Domenico, 22 - Torino
Tel. 011 / 5661566 - Fax 011 / 5663029

La seguente pubblicazione è stampata su carta riciclata
Stampa e Fotocomposizione - Arti Grafiche LCL Busca (CN)
© Regione Piemonte 1998

Il metodo di raccolta e di trattamento degli scarti organici si rivela come l'elemento che più condiziona, tra gli altri, l'intero panorama del sistema integrato di gestione dei rifiuti urbani.

Infatti, la raccolta differenziata degli scarti organici implica una riprogettazione complessiva del sistema integrato, un aumento della quota sottratta allo smaltimento ed una maggiore facilità nella gestione della restante parte del rifiuto; svolge inoltre una funzione di traino nei confronti di tutto il complesso delle raccolte differenziate.

In questo contesto, la conoscenza qualitativa dei materiali organici e del compost va considerata come un elemento basilare per operare una scelta puntuale ed efficace del sistema integrato di gestione dei rifiuti, consentendo un effettivo e proficuo utilizzo in agricoltura del compost di qualità.

A tal fine, l'Assessorato all'Ambiente della Regione Piemonte, nell'ambito delle attività di ricerca e di sperimentazione, ha promosso specifici studi per la messa a punto di metodologie di analisi dei compost e dei rifiuti urbani.

Le metodologie analitiche riportate in questo volume, che rappresenta una edizione aggiornata e perfezionata dell'edizione del 1992, sono il frutto di attività di ricerca promosse dall'Assessorato e dalla pluriennale esperienza nel settore degli Enti che hanno curato la redazione del testo.

Si è ritenuto in tal modo di fornire un valido contributo agli operatori pubblici e privati del settore nonché agli Istituti di ricerca ed alle Amministrazioni pubbliche addette al controllo ed alla programmazione.

L'Assessore per l'Ambiente della
Regione Piemonte
Dott. Ugo Cavallera

INDICE

INTRODUZIONE	pag. 7
PARAMETRI CHIMICI	» 9
C1. Cam ento	» 11
C2. U totale	» 15
C3. U resid	» 16
C4. Sos vola e ceneri	» 17
C5. d acquoso	» 18
C5.1 Conducibilità e salinità	» 18
C5.1.1 Conducibilità specifica per substrati	» 19
C5.2 pH	» 20
C5.3 Cloruri	» 22
C5.4 Solfati solubili	» 25
C5.5 Cationi solubili	» 27
C6. Fr one ca	» 29
C6.1 Carbonio organico totale	» 29
C6.2 Carbonio organico estraibile ed umico	» 34
C6.3 Determinazione dell'Humus totale, li acidi umici ed acidi fulvici	» 39
C7. Forme di to	» 41
C7.1 Azoto nitrico	» 41
C7.2 Azoto ammoniacale	» 45
C7.3 Azoto totale	» 48
C8. Forme di fosforo	» 50
C8.1 Fosforo totale	» 50
C8.2 Fosforo organico	» 52
C9. Capacità di scambio cationico	» 53
C10. Metalli totali	» 55
C11. Cromo esavalente	» 63
C12. Boro to	» 66
C13. Feno vo tili	» 68
C14. Policlorobif (PCB)	» 70
PARAMET ENZIMATICI	» 73
E1. Dei ogenesì	» 75
E2. Ureasi	» 77
E3. Fosfa i	» 80
PARAMETRI BIOLOGICI	» 83
B1. Il s o di fito icità	» 84
B1.1 Saggio di fitotossicità: test di germinazione	» 85
B1.2 S ggio di fitotossicità: test di accrescimento	» 87

B2. Saggio di respirazione	» 89
B3. Saggio di mineralizzazione dell'azoto	» 92
B4. Semi infestanti	» 94
PARAMETRI MICROBIOLOGICI	» 97
M1. Prelievo, trasporto, conservazione e preparazione del campione	» 97
M2. Diluizione del campione	» 98
M2.1 Per determinazioni di batteri eterotrofi aerobi	» 98
M2.2 Per determinazioni di batteri eterotrofi anaerobi	» 98
M2.3 Inoculo dei campioni contenenti un basso numero di microrganismi	» 99
M3. Batteri eterotrofi aerobi	» 100
M4. Batteri eterotrofi anerobi	» 101
M5. Cellulosolitici aerobi	» 103
M6. Cellulosolitici anerobi	» 105
M7. Attinomiceti	» 107
M8. Funghi	» 109
M9. Nitrosanti	» 111
M10. Nitrificanti	» 113
M11. Coliformi totali e coliformi fecali	» 115
M12. Streptococchi fecali	» 117
M13. Salmonelle	» 119
M14. Conteggio di colonie (diffusione in agar)	» 121
M15. Calcolo del most probable number (MPN)	» 123
PARAMETRI FISICI	» 127
F1. Densità apparente	» 128
F2. Densità reale	» 132
F3. Porosità	» 133
F4. Volume occupato dall'acqua	» 133
F5. Volume occupato dall'aria	» 134
F6. Acqua facilmente disponibile	» 134
F7. Acqua di riserva	» 134
F8. Acqua difficilmente disponibile	» 134
F9. Volume del substrato	» 136
F10. Determinazio e della granulometria	» 140
F11. Contenuto totale in plastica e vetro	» 141
F12. Determinazione del contenuto in vetro nelle frazioni granulometriche	» 143
F12.1 Metodo dell'incenerimento	» 143
F12.2 Metodo dell'acqua ossigenata	» 144
F13. Contenuto in plastica nelle frazioni granulometriche	» 145

PARAMETRI MERCEOLOGICI	»	147
AM1. Analisi merceologiche RSU ed RSA	»	148
AM1.1 Scelta del campione da sottoporre all'analisi	»	148
AM1.2 Preparazione del campione rappresentativo	»	148
AM1.3 Inquartamenti	»	148
AM1.4 Analisi merceologica del rifiuto	»	149
AM2. Determinazione del potere calorifico	»	156
CRITERI DI QUALITÀ E PARAMETRI ANALITICI DI RIFERIMENTO	»	157
Q1. Qualità dei materiali di partenza	»	157
Q2. Criteri di qualità	»	159
Q3. Impiego agricolo	»	162
Q4. Controlli e certificazione di qualità	»	164
QUADRO NORMATIVO SULLA PRODUZIONE E SULL'IMPIEGO DEL COMPOST	»	167
N1. Normativa sul compost	»	168
N1.1. Normativa comunitaria	»	168
N1.2. Normativa degli Stati Europei	»	168
N1.3. Normativa nazionale	»	171
N1.4. Le normative regionali	»	175
N2. Marchi di qualità	»	177
N2.1. La situazione europea	»	177
N2.2. La situazione italiana	»	179

INTRODUZIONE

Nella presente pubblicazione sono descritti nel dettaglio i metodi analitici sui compost, di tipo chimico, fisico, biologico e microbiologico predisposti dall'Istituto per le Pianta da Legno e l'Ambiente di Torino, dal Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agro-Forestali dell'Università di Torino e dall'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale del Piemonte.

Tali metodi sono stati messi a punto e verificati su numerosi compost prodotti a livello regionale e nazionale e consentono nel loro complesso di caratterizzarli, di valutarne le qualità e soprattutto, correlando i parametri chimici, fisici e biologici, di dare un giudizio su come è avvenuto il processo di compostaggio, sia per quanto riguarda l'efficacia della selezione dei rifiuti, sia per la qualità della trasformazione biologica e della raffinazione.

Al termine della sezione una breve interpretazione dei risultati analitici contiene l'indicazione dei limiti adottati dalla Regione Piemonte per i compost di elevata qualità e per i compost accettabili all'uso agricolo.

Una sezione della pubblicazione è inoltre dedicata ai metodi di analisi merceologica degli RSU che, pur prendendo spunto dalle metodiche del CNR, si differenziano per una più articolata determinazione delle diverse frazioni merceologiche e delle analisi chimiche e sono tesi all'individuazione dei flussi omogenei di frazioni dei rifiuti in relazione alle possibilità di smaltimento e di recupero.

Le analisi merceologiche dei rifiuti solidi urbani così articolate sono utilizzabili soprattutto in sede di progettazione della raccolta dei rifiuti e degli impianti di smaltimento, oltreché ai fini delle indagini territoriali regionali.

Un'ultima sezione del testo riguarda un'analisi critica degli aspetti legislativi a livello internazionale e nazionale sulla qualità dei compost con particolare riferimento ai limiti parametrici stabiliti dalle legislazioni vigenti.

PARAMETRI CHIMICI

I metodi di analisi chimica dei compost rappresentano il completamento e l'aggiornamento delle metodiche analitiche applicabili ai fanghi di depurazione riportate nel Bollettino Ufficiale della Regione Piemonte n. 44 del 5 novembre 1986 sotto il titolo: *Approvazione delle disposizioni tecniche del "Regolamento per lo smaltimento in agricoltura dei fanghi residuati dai processi di depurazione delle acque reflue"*.

L'attuale versione in alcune parti risulta sostanzialmente modificata. Le motivazioni di ciò sono:

- adattamento di procedure analitiche ad una matrice organica molto eterogenea per la diversa origine e natura dei rifiuti che la compongono;
- introduzione di metodi alternativi per uno stesso parametro analitico anche in funzione delle apparecchiature tecnicamente avanzate che ormai sono in dotazione a molti laboratori pubblici e privati;
- interpretazione dei parametri analitici, chimici, biologici e fisici volta a valutare le proprietà ammendanti e fertilizzanti dei compost.

Infatti mentre per i fanghi di depurazione si è posta maggiore attenzione, date le alte possibilità di inquinamento della matrice organica, ai limiti di tossicità permanente e temporanea più che alle caratteristiche fertilizzanti, nel caso dei compost si ritiene che sia opportuno puntare sulla qualità del materiale ottenuto.

E' possibile infatti ottenere compost di qualità impiegando materiali idonei ed operando con una corretta tecnica di trattamento ed un'adeguata attrezzatura impiantistica.

Positivi risultati si hanno con:

- accurata selezione e miscelazione delle materie prime;
- adeguata intensità dei processi ossidativi;
- accurati controlli di processo relativamente ai parametri chimici (pH,

rapporto C/N, indici di umificazione), fisici e biologici;

- raffinazione del compost prodotto;
- controllo della qualità del materiale ottenuto attraverso analisi chimiche, fisiche e biologiche.

Come riportato nel capitolo *Quadro normativo sulla produzione e sull'impiego del compost*, si possono impostare limiti di impiego distinti in:

- limiti di accettabilità per un impiego agricolo controllato (mediante vincoli autorizzativi e verifica degli effetti ambientali) riguardanti i cosiddetti *compost di qualità standard*;
- limiti di qualità necessari per definire un compost (*compost di qualità elevata*) come fertilizzante e/o ammendante organico liberamente utilizzabile e commerciabile alla stessa stregua dei concimi organici elencati nella legge sui fertilizzanti n. 748/84 e successive modifiche.

C 1. CAMPIONAMENTO

Il campionamento consta essenzialmente di due fasi:

- prelevamento del campione;
- preparazione del campione per l'analisi.

Prelevamento del campione

Generalità

Le principali difficoltà legate al campionamento dei compost derivano dalla natura della matrice organica e dalle tecniche di produzione.

I materiali, soprattutto se derivano dal trattamento di Rifiuti Solidi Urbani, possono essere molto eterogenei con una composizione che può variare sensibilmente in funzione delle modalità e dell'epoca di prelievo.

Il campione deve essere rappresentativo della massa. Le diverse tecniche di compostaggio (cumuli, bioreattori, ecc.) condizionano il prelievo dei campioni, specialmente se si prendono in considerazione le fasi intermedie del processo. Il prelievo stesso potrà talora risultare poco agevole e il grado di omogeneità e finezza del materiale varierà a seconda delle caratteristiche dell'impianto e del punto di prelievo.

Per tali motivi un corretto schema di campionamento dovrà essere stabilito caso per caso, tenendo tuttavia conto che i prelievi devono essere fatti nella massa del compost, campionando in egual misura sia le zone interne sia le esterne ed intermedie; lo strato più superficiale (primi 10 cm) va scartato, almeno nel caso di compostaggio in cumuli.

Criteri di campionamento

Prima di procedere al prelievo dei campioni, è utile effettuare un'ispezione preliminare allo scopo di identificare la massa da campionare e le modalità di esecuzione dell'operazione.

Al fine di ottenere un campione il più statisticamente rappresentativo possibile, oltre a raccogliere dati sulla tipologia dei rifiuti trattati e sulle caratteristiche dell'impianto di compostaggio, occorre tener conto dei seguenti elementi:

- stato fisico, eterogeneità ed eventuale stratificazione del materiale organico da campionare;
- alterazione delle proprietà chimiche, fisiche e biologiche in funzione del tempo;
- recipienti o strutture diverse (vasche, torri o altri contenitori per il compostaggio) in cui è immesso il compost;

- rapporto tra costi di analisi e valore del prodotto;
- accuratezza del metodo di analisi.

Sulla base di questi dati, della natura della matrice e dei metodi analitici impiegati, occorre con il campionamento ridurre il più possibile l'effetto della eterogeneità della matrice sulla variabilità del dato analitico.

Si ritiene che occorranza almeno 7 **sottocampioni** per ogni 200 m³ di compost.

Deve anche essere tenuto conto del numero di campioni imposti dalle normative di legge.

Procedimento

Per il prelievo è bene munirsi di vanga o sonda atta a raggiungere profondità diverse. Si opera il prelevamento in almeno 7 punti diversi secondo uno schema di campionamento casuale (random) su un reticolo bi- o tri - mensionale a maglie la cui estensione sia funzione delle dimensioni della massa da campionare. Per il prelievo i punti sono fissati secondo lo sche a riportato in ALLEGATO A. I 7 sottocampioni, ciascuno del peso di 1,5 - 2 kg, sono riuniti e accuratamente rimescolati; dalla miscela ottenuta si ricava il campione per il laboratorio o **campione composito** (quantità pari a circa 3 kg).

I sottocampioni e/o il campione composito vengono posti in doppio sacco di polietilene e o PVC; ogni sacco deve riportare le indicazioni indelebili per l'identificazione e tra i due sacchi va posto un cartellino ripetente le medesime. Entrambi i sacchi vanno accuratamente chiusi e rapidamente inviati al laboratorio. Se ciò non è possibile, il campione può essere conservato per pochi giorni in frigorifero a +4°C, altrimenti va congelato a -18°C e così mantenuto sino al momento delle analisi.

Di solito si utilizza il campione composito quando interessa dare una risposta sulla massa da campionare non essendo importante valutare le variazioni dei parametri all'interno della massa stessa oppure quando lo scarso valore intrinseco del prodotto ed i costi analitici suggeriscano che le repliche di analisi siano ridotte al minimo.

Trattamento del campione in laboratorio

Generalità

Anche in laboratorio si possono presentare problemi di campionamento e preparazione del campione, soprattutto per quelle analisi che devono essere eseguite sul campione umido. Spesso è molto difficile procedere in maniera soddisfacente alla macinazione e vagliatura di campioni umidi sia per la presenza di inerti (vetri, parti metalliche) sia per la tendenza del materiale ad impastarsi. In questi casi è bene osservare alcune precauzioni in funzione delle finalità delle analisi.

ALLEGATO A: schema di campionamento dei compost

Quando le quantità di inerti più grossolani sono elevate, è consigliabile effettuare una prevagliatura. In questi casi, però, non è possibile definirne i limiti: si scartano solamente gli inerti che hanno un diametro superiore a 2 cm, intendendo per questi i materiali sia inorganici sia organici sicuramente inalterabili nel processo di compostaggio (es. sostanze plastiche). E' necessario, pertanto, operare una selezione manuale del prodotto da analizzare, che dovrà essere rimescolato con molta accuratezza.

Procedimento

Il campione di compost (nel caso si tratti di campione refrigerato o congelato, dopo essere stato riportato a temperatura ambiente) viene accuratamente rimescolato e suddiviso in due parti di 300 - 400 g ciascuna da conservarsi in recipienti di politene a bocca larga :

- a) la prima costituisce il cosiddetto *campione umido* su cui saranno determinati direttamente: umidità totale, pH, sali solubili, azoto totale, nitrico e ammoniacale, arsenico, mercurio e selenio totali, fenoli volatili.

Data l'eterogeneità del campione umido, occorrerà porre particolare attenzione nel prelevare le necessarie aliquote per le singole analisi. Si consiglia in ogni caso di omogeneizzare accuratamente il campione (ad esempio, mediante un mulino a coltelli) e di effettuare le determinazioni almeno in doppio utilizzando il valore medio trovato come dato analitico finale.

- b) la seconda sarà utilizzata per la preparazione del **campione secco all'aria** che viene successivamente macinato e vagliato. Su questo verranno determinati l'umidità residua e tutti gli altri parametri non indicati al punto precedente.

Si pongono 100 - 200 g di compost in capsula di vetro o porcellana o altro recipiente adatto allo scopo e si essicca in stufa ad aria a 40°C.

Terminato l'essiccamento il campione viene accuratamente rimescolato e macinato.

Macinazione

Una quantità rappresentativa di campione secco (50 - 100 g) viene macinata in misura tale da poter passare interamente attraverso un vaglio con luce netta di 0,5 mm. La macinazione deve essere condotta con un'attrezzatura che non dia luogo a contaminazioni, ad esempio, a causa di rilascio di metalli. La macinazione, inoltre, deve terminare solo quando la quasi totalità del campione è passata attraverso il setaccio.

Successivamente il campione viene accuratamente rimescolato e conservato in recipiente di vetro o politene a chiusura ermetica.

In alternativa a questa procedura, il campione secco può essere preparato mediante *liofilizzazione* del materiale umido e successiva macinazione del liofilizzato al momento dell'analisi.

C 2. UMIDITA' TOTALE

Generalità

L'umidità totale viene determinata sul campione umido mediante essiccamento in stufa. La determinazione serve per conoscere il contenuto in acqua totale e nello stesso tempo per riferire i dati analitici, ottenuti sul campione umido, alla sostanza secca.

Apparecchiature

- Stufa a temperatura regolabile.

Procedimento

Si pesano 100,0 - 200,0 g di materiale fresco in capsula o altro adatto recipiente di vetro o porcellana.

Si pone in stufa a 105°C per 12 - 24 ore. Si raffredda in essiccatore e si pesa. Si ripete fino a peso costante.

Calcolo

Si calcola l'umidità totale del campione con la formula:

$$Ut \% = \frac{Pu - Ps}{Pu} \cdot 100$$

dove:

Ut = umidità totale %.

Ps = peso del campione dopo essiccamento in stufa.

Pu = peso del campione umido.

Fattore analitico F1

Il fattore analitico **F1** viene utilizzato per riportare sulla sostanza secca il dato analitico ottenuto sul campione umido:

$$F1 = \frac{100}{100 - Ut}$$

dove:

Ut = umidità totale.

C 3. UMIDITA' RESIDUA

Generalità

L'umidità residua viene determinata sul campione secco all'aria. E' necessaria per correggere il dato analitico e riferirlo alla sostanza secca.

Apparecchiature

- Stufa a temperatura regolabile.

Procedimento

Si pesano 5,000 g di materiale secco all'aria in capsula tarata.

Si pone in stufa a 105°C per 6 - 12 ore. Si raffredda in essiccatore e si pesa. Si ripete fino a peso costante. Sullo stesso campione si determinano le sostanze volatili e le ceneri mediante calcinazione.

Calcolo

Si calcola l'umidità residua del campione con la formula:

$$Ur \% = \frac{Pa - Ps}{Pa} \cdot 100$$

dove:

Ur = umidità residua %.

Ps = peso del campione dopo essiccamento in stufa.

Pa = peso del campione secco all'aria.

Fattore analitico F2

Il fattore analitico **F2** viene utilizzato per riportare sulla sostanza secca il dato analitico ottenuto sul campione secco all'aria:

$$F2 = \frac{100}{100 - Ur}$$

dove:

Ur = umidità residua.

C 4. SOSTANZE VOLATILI E CENERI

Generalità

Il campione, previamente essiccato in stufa a 105°C, viene calcinato a 650°C. La perdita in peso per calcinazione corrisponde approssimativamente al contenuto in **sostanza organica totale** del campione. Il residuo è la parte minerale o ceneri.

Apparecchiature

- Forno a muffola regolabile a 650°C.

Procedimento

La capsula nella quale è stata determinata l'umidità residua viene posta in stufa a 650°C per 4 - 6 ore. Si pesa e si ripete l'operazione fino a peso costante.

Calcolo

Il contenuto in sostanze volatili (sostanza organica totale) si ottiene dalla formula:

$$SV \% = \left(\frac{Ps - Cen}{Pu} \cdot 100 \right) \cdot F1$$

dove:

Ps = peso del campione secco a 105°C.

Cen = peso del residuo a 650°C (ceneri).

Pu = peso del campione umido.

F1 = fattore analitico per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

La differenza tra 100 e le sostanze volatili è il contenuto percentuale in ceneri.

Carbonio totale

Calcolo

Dividendo il contenuto in sostanze volatili per uno dei seguenti fattori, si ottiene approssimativamente il corrispondente valore di carbonio totale:

- **fattore 1,8** in caso di **compost maturi** ad alto grado di umificazione;

- **fattore 2,0** in caso di **compost freschi** a basso grado di umificazione.

C 5. ANALISI DELL'ESTRATTO ACQUOSO

C 5.1. CONDUCTIBILITA' E SALINITA'

Il contenuto in sali è correlato con la conducibilità elettrica della sospensione in acqua.

Apparecchiature

- Barattoli di plastica da circa 200 ml con tappo ermetico.
- Conduttimetro.

Procedimento

Si pesano 10,0 g di campione umido e si pongono in barattolo di plastica. Si aggiungono 100 ml di acqua e si agita meccanicamente per 15 minuti. Si lascia a riposo per 30'.

Misura

Se il liquido surnatante è sufficientemente limpido si misura direttamente la conducibilità. Se è molto torbido, si filtra su un filtro asciutto scartando le prime porzioni che passano.

Fattore della cella

Il fattore è il numero K' che moltiplicato per la conduttanza misurata (C) dà la conducibilità specifica (L):

$$K' = \frac{L}{C}$$

Il fattore si ricava misurando soluzioni a conducibilità nota. Nella tabella seguente sono riportate le conducibilità specifiche (in mScm^{-1} di soluzioni di KCl a varie temperature:

Temperatura	KCl		
	0,1N	0,02N	0,002N
15	10,48	2,243	0,239
20	11,67	2,501	0,266
25	12,88	2,765	0,293
30	14,12	3,031	0,321

Per i valori intermedi di temperatura si interpolano i dati della tabella.

Correzione della lettura

La conducibilità letta per il campione in esame deve essere corretta per la temperatura. Si usano i seguenti fattori:

Temperatura	f	Temperatura	f
5	1,613	20	1,112
10	1,411	25	1,000
15	1,247	30	0,907

Calcolo

La conducibilità della sospensione, ridotta a 25°C, è data dalla formula:

$$L (\text{mS/cm}) = K' \cdot C \cdot f$$

La salinità si misura indirettamente tenendo conto che una conducibilità di 1 mScm^{-1} corrisponde a circa 12,5 me/litro di sali.

$$\text{Salinità (meq/100g)} = \frac{Vl \cdot 1,25 \cdot L}{P} \cdot F1$$

dove:

Vl = volume del liquido (ml).

P = peso campione umido (g).

L = conducibilità della sospensione (mScm^{-1}).

$F1$ = fattore analitico per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Nel caso dell'estratto acquoso 10 g/100 ml, la formula diventa:

$$\text{Salinità (meq/100g)} = 12,5 \cdot L \cdot F1$$

Nota

La soluzione viene conservata per la determinazione di pH, nitrati (metodo alla brucina), fenoli volatili. Se la salinità supera i 50 meq/100g, si determinano anche i cationi solubili (per il calcolo del S.A.R.), cloruri e solfati.

C 5.1.1. CONDUCTIBILITÀ SPECIFICA PER SUBSTRATI

Generalità

La conducibilità specifica (L) di una soluzione è la conduttanza misurata tra elettrodi di 1 cm^2 di superficie posti alla distanza di 1 cm.

Procedimento

Si pesano almeno 10,0 grammi di campione tal quale e si procede ad una estrazione con acqua nel rapporto 1:5 per 4 ore, agitando saltuariamente. Si centrifuga a 5000 rpm per 10 minuti per ottenere la soluzione limpida da portare allo strumento. Si misura quindi la conduttanza (C) della soluzione.

Calcolo

Essendo C la conduttanza misurata, la conducibilità elettrica specifica a 25°C sarà:

$$L (\mu S/cm) = K \times F \times C \times D$$

dove:

K= fattore di correzione della cella.

F= fattore di correzione per la temperatura nel caso si operi a temperature diverse da 25°C.

D= fattore di diluizione.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 5.2. pH

Si determina il pH della sospensione acquosa preparata per la determinazione della conducibilità.

Apparecchiature

- pHmetro con elettrodo a vetro.

Procedimento

La misura viene effettuata direttamente sulla sospensione. E' necessario che il bulbo di vetro sia immerso nella parte torbida mentre la giunzione salina deve essere nel liquido limpido surnatante.

Interferenze

Non vi sono in genere interferenze tranne il caso di pH elevato e contemporanea presenza di forti quantità di sodio. Solo in questo caso sono necessarie correzioni opportune secondo le istruzioni che sono fornite con l'elettrodo.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 5.3. CLORURI

Metodo volumetrico

Generalità

I cloruri formano con lo ione Hg un complesso poco ionizzato che non dà la reazione con il difenilcarbazono. Solo quando Hg è in eccesso si sviluppa il colore rosa.

Apparecchiature

- Buretta da 25 ml.

Reagenti

- Acido nitrico circa 0,05 N: 4 ml di acido concentrato in 1 litro di acqua deionizzata.
- Cloruro di sodio 0,02 N: si sciolgono 1,169 g di NaCl, essiccato in stufa a 140°C per un ora, in acqua deionizzata portando a volume in matraccio da 1000 ml.
- Nitrato mercurico 0,02 N: si sciolgono 3,5 g di $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 1 litro di acido nitrico 0,05 N. Si determina il titolo con soluzione di NaCl 0,02 N.
- Indicatore: si sciolgono 0,5 g di difenilcarbazono in 100 ml di alcool a 95°. Si aggiungono 0,05 g di blu di bromofenolo.

Procedimento

Si impiega l'estratto acquoso preparato per la misura della conducibilità. Si filtra scartando le prime porzioni prelevando poi una parte aliquota contenente non più di 15 mg di Cl^- . Si aggiunge acqua deionizzata fino ad un volume di circa 20 ml e 0,5 ml di indicatore. Si aggiunge acido nitrico 0,05 N lentamente e agitando fino al viraggio al giallo, poi ancora 5 - 6 gocce. Si titola poi con nitrato mercurico fino al colore rosa persistente.

Calcolo

$$\text{Cl}^- (\text{mg} / \text{kg}) = \frac{V_a \cdot N \cdot 35,453 \cdot 10000}{V_e} \cdot F1$$

dove:

V_a = ml di soluzione di $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 0,02 impiegati nella titolazione.

V_e = ml di estratto acquoso 1 : 10 titolati.

N = normalità della soluzione di $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$.

35,453 = peso equivalente di Cl^- .

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Metodo potenziometrico

Generalità

I normali metodi di determinazione dei cloruri si basano in genere su titolazioni manuali di estratti acquosi con ioni Ag^+ o Hg^{2+} , utilizzando adatti indicatori. Tuttavia, quando gli estratti sono ricchi di sostanza organica, la percezione del punto di viraggio può essere difficile.

Il ricorso alla titolazione potenziometrica si rivela in questo caso di grande utilità, specialmente se si può operare in automatico.

Apparecchiature

- Titolatore automatico corredato di buretta da 10 ml e da 1 ml.
- Elettrodo di Ag metallico. Viene rivestito con AgCl tenendolo immerso in una soluzione satura del sale.
- Elettrodo di riferimento Hg/ Hg_2SO_4 saturo. Viene riempito con una soluzione satura di K_2SO_4 . L'elettrodo a calomelano è sconsigliabile per la diffusione di cloruri dal setto e il pericolo di occlusione del medesimo.

Reagenti

- Argento nitrato 0,050 N: si sciolgono 8,494 g di AgNO_3 in acqua deionizzata, portando a volume in matraccio da 1000 ml. La soluzione viene standardizzata con aliquote (5-10 ml) della soluzione di NaCl, operando come indicato più avanti per la titolazione dell'estratto (senza l'aggiunta di acido). La soluzione viene conservata in bottiglie di vetro scuro.
- Sodio cloruro soluzione standard 0,050 N: si sciolgono 2,922 g di NaCl, essiccato in stufa a 140 °C per 1 ora, in acqua deionizzata portando a volume in matraccio da 1000 ml.
- Acido solforico 18 N: in un matraccio da 1000 ml, contenente ca. 400 ml di acqua deionizzata, si introducono cautamente 500 ml di H_2SO_4 conc. ($d = 1,84$), si agita e si porta a volume dopo raffreddamento.

Procedimento

50 ml dell'estratto acquoso preparato per la determinazione della conducibilità, sono centrifugati per 10 minuti a 3000 rpm e successivamente filtrati.

Titolazione

Si preleva un'aliquota esatta dell'estratto (10-25 ml) e si trasferisce in beaker (o altro recipiente analogo in dotazione all'apparecchiatura).

Si aggiungono 1 ml di H_2SO_4 18 N, circa 30 ml di H_2O deionizzata e si fa partire la titolazione potenziometrica.

Si utilizza in generale una buretta automatica da 1 ml; per campioni con alto contenuto di cloruri è conveniente impiegare la buretta da 10 ml.

A parte si esegue la prova in bianco con acqua deionizzata.

Calcolo

Il contenuto di cloruri in mg / kg si calcola con la seguente formula:

$$\text{Cl}^- (\text{mg/kg}) = \frac{[(V_a - V_b) \cdot N \cdot 35,453] \cdot 10000}{V_e} \cdot F_1$$

dove:

V_a = ml di AgNO_3 0,050 N impiegati per il campione.

V_b = ml di AgNO_3 0,050 N impiegati per il bianco.

N = normalità della soluzione di AgNO_3 .

35,453 = peso equivalente di Cl^- .

V_e = ml di estratto acquoso 1 : 10 titolati.

F_1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Note

La titolazione potenziometrica con buretta da 1 ml permette di utilizzare piccole quantità di estratto.

Nelle condizioni fissate si è in grado di determinare quantità di cloruri pari a 0,05 mg/l (0,002 me/l).

Abbassando il titolo di AgNO_3 (ad es. 0,01N) il punto di equivalenza diviene difficile da individuare nelle varie matrici, mentre aumentando il rapporto campione/ H_2O crescono le interferenze.

Per concentrazioni molto basse di cloruri è preferibile ricorrere al metodo delle aggiunte.

A valori di pH > 10 è possibile un' interferenza dovuta ad ammoniaca libera, anche se difficile a verificarsi dato che molti composti hanno pH in acqua inferiori a tale valore. L'aggiunta di H_2SO_4 elimina l'inconveniente.

La possibile interferenza da solfuri solubili, da un punto di vista generale, può essere considerata trascurabile. In caso di presenza di solfuri si consiglia di effettuare l'analisi sul campione secco all'aria.

Riferimenti bibliografici

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1989). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 17th edition.

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 5.4. SOLFATI SOLUBILI

Generalità

Il cromato di bario reagisce in ambiente acido con ioni solfato per dare solfato di bario insolubile. Rendendo alcalino l'ambiente si insolubilizza il cromato di bario mentre restano in soluzione gli ioni cromato liberati dalla reazione precedente.

Apparecchiature

- Spettrofotometro o colorimetro atto a misure nel visibile (410 nm).

Reagenti

- Cromato di bario circa 0,1 N: si sciolgono 12 g di BaCrO_4 in circa 600 ml di acqua e 130 ml di acido cloridrico concentrato ($d = 1,18$ circa). Si porta il volume a 1000 ml.

- Soluzione standard di solfato: si sciolgono 1,479 g di solfato sodico anidro, seccato in stufa a 105°C , in acqua deionizzata portando il volume a 1000 ml. La soluzione contiene 1 mg/ml di SO_4^{2-} (1000 ppm).

- Ammoniaca circa 5 N: si portano 330 ml di ammoniaca concentrata ($d = 0,89$ circa) a 1000 ml.

Procedimento

Si impiegano 10 ml della soluzione preparata per la conducibilità che si pongono in un matraccio tarato da 100 ml contenente 5 ml della soluzione di cromato e 30 ml di acqua deionizzata.

Si lascia a riposo per alcune ore e poi si alcalinizza con 2 ml di ammoniaca 5 N (il colore deve passare dal giallo - arancio al giallo). Si porta a volume lasciando sedimentare per alcune ore.

Si filtra (o si centrifuga) una porzione di soluzione che si legge allo spettrofotometro.

Per la costruzione della curva di taratura si preparano soluzioni standard diluite (100 o 10 ppm) da cui vengono prelevate aliquote (1, 2, 3, ecc. ml) che vengono poste in singoli matracci tarati da 100 ml e trattate come il campione.

Calcolo

$$\text{SO}_4^{2-} (\text{mg/kg}) = A \cdot 100 \cdot F_1$$

dove:

A = mg/l di SO_4^{2-} misurati.

F_1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Interferenze

Le sostanze riducenti solubili possono ridurre lo ione cromato. Si ovvia in parte all'inconveniente riducendo l'acidità della soluzione di cromato con l'aggiunta di 1 ml di ammoniaca (in questo caso il cromato sarà poi precipitato con 1 ml di ammoniaca e non 2 ml). E' possibile anche l'ossidazione preliminare della soluzione con H_2O_2 facendo poi bollire bene prima dell'aggiunta di cromato. In questo modo si dosano come solfati anche gli eventuali solfiti o altri composti solforati.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 5.5. CATIONI SOLUBILI

Potassio solubile

Il K viene determinato mediante spettrofotometria di Assorbimento Atomico dopo opportuna diluizione della soluzione impiegata per la misura della conducibilità.

Apparecchiature

- Spettrofotometro ad assorbimento atomico con lampada al K.

Procedimento

Si diluisce la soluzione impiegata per la misura della conducibilità fino ad avere una lettura che sia nel campo di taratura dello strumento e si misura direttamente.

Si migliora la linearità e la precisione aggiungendo alla soluzione in esame ed agli standard un eccesso di NaCl o LiCl.

Calcolo

$$K \text{ mg/kg} = A \cdot D \cdot 10 \cdot F1$$

dove:

A = mg/l misurati.

D = fattore di diluizione.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Sodio solubile

Il metodo è analogo a quello indicato per il potassio solubile, naturalmente impiegando la lampada al sodio. Come soppressori di ionizzazione si usano KCl o LiCl. Occorre tener conto che la concentrazione di Na è generalmente molto più elevata di quella di K ed occorre perciò una diluizione maggiore.

Calcio solubile

Il metodo è analogo a quello del potassio ovviamente con la lampada al calcio. Le interferenze chimiche sono sopprese o con l'impiego del bruciatore a protossido d'azoto oppure con soluzioni di La o Sr secondo il metodo standard dello strumento impiegato.

Magnesio solubile

Si usa lo stesso metodo impiegato per il calcio. Generalmente le concen-

trazioni di Mg sono minori di quelle di Ca, ma la sensibilità più elevata permette quasi sempre la misura nella stessa soluzione diluita impiegata per il calcio.

S.A.R. dell'estratto acquoso

La determinazione del S.A.R. (*Sodium Adsorption Ratio*) è riferita all'estratto acquoso ottenuto per la misura della conducibilità.

Le concentrazioni espresse in me/100g corrispondono a quelle del liquido espresse in me/litro.

Calcolo

$$S.A.R. = \frac{Na^+}{\sqrt{[Ca^{2+} + Mg^{2+}] \cdot 1/2}}$$

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 6. FRAZIONE ORGANICA

La sostanza organica nei compost può essere determinata con metodologie analitiche diverse. Si distinguono in tale caratterizzazione la determinazione del carbonio di origine biologica (TOC) ed il frazionamento ed analisi delle sostanze umiche.

Il TOC esprime la quantità di carbonio totale di origine biologica determinata per ossidazione con agenti chimici della sostanza organica.

L'estrazione, il frazionamento e l'analisi delle sostanze umiche (TEC, HA+FA, NH, humus totale, acidi umici e acidi fulvici) nonché i loro indici, ricavati dal rapporto di alcune frazioni su altre, permettono di dare un giudizio non solo quantitativo ma anche qualitativo sullo stato della sostanza organica.

Di seguito vengono riportati i due metodi comunemente impiegati per l'estrazione e la determinazione delle sostanze umiche. Il primo è quello che deve essere obbligatoriamente eseguito sul prodotto finito in quanto è il metodo di analisi ufficiale, per cui il compost per potere essere utilizzato deve necessariamente essere sottoposto ad analisi delle sostanze umiche secondo tale metodologia.

Il secondo, viene proposto con lo scopo di fornire una metodologia analitica di semplice esecuzione, quindi routinaria, che integra ed in alcuni casi permette di facilitare la lettura delle analisi e la formulazione di un giudizio sulla qualità dei compost. In particolare il secondo metodo si presta alla valutazione dei compost e dei processi di compostaggio nei quali la frazione lignocellulosica superi in volume il 35% del materiale totale avviato al compostaggio o del compost finito.

Le differenze sostanziali nei due metodi sono nella diversa aggressività dell'agente estraente, più forte il primo più blando il secondo, e nella purificazione che nel primo metodo si opera a carico della frazione fulvica. Gli indici che da questi due metodi si ottengono sono diversi ma in ambedue i casi rispondono all'esigenza di individuare lo stato di maturità del materiale.

C 6.1. CARBONIO ORGANICO TOTALE (TOC)

Generalità

Il metodo utilizza il dicromato in ambiente acido e a caldo come specie ossidante nei confronti della sostanza organica. E' richiesto un elevato grado di standardizzazione e quindi occorre operare in condizioni perfettamente definite.

Reagenti

- Acido solforico concentrato (96 %), $d = 1,84$.
- Potassio dicromato 2 N: in un matraccio da 500 ml si trasferiscono quantitativamente 49,032 g di $K_2Cr_2O_7$ polverizzato ed essiccato a 130-140 °C per 1 ora. Completato il trasferimento, si scioglie e si porta a volume.
- Solfato ferroso 0,2 N: in un matraccio tarato da 500 ml si trasferiscono 27,802 g di $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, si aggiungono 50 ml di acqua, si scioglie rapidamente e si aggiungono subito 10 ml di H_2SO_4 conc., portando a volume dopo raffreddamento con H_2O . La soluzione è instabile e il titolo deve essere verificato di volta in volta per ciascuna serie di determinazioni.
- 4-difenilammina solfonato di bario, indicatore: in matraccio da 100 ml si sciolgono 0,2 g di sale in ca. 50 ml di H_2O ; si porta, poi, a volume.
- Acqua distillata o deionizzata esente da cloruri e impurezze organiche.

Apparecchiature

- Palloni in vetro pyrex tipo "Duran" da 250 ml con collo normalizzato 24 / 32.
- Refrigerante a bolle (n. 6 bolle, h 53 cm) con attacco per i palloni.
- Mantello riscaldante di potenza elevata, atto a far raggiungere l'ebollizione il più rapidamente possibile.
- Cronometro.
- Titolatore automatico corredato di elettrodi di platino e calomelano (titolazioni redox) o, in alternativa, spettrofotometro UV - Visibile.

Procedimento

Si pesano 0,200 g di campione secco all'aria e macinato e si trasferisce in pallone.

Si accende il mantello riscaldante alla massima potenza e si apre l'acqua del refrigerante.

Si aggiungono 20 ml esatti di $K_2Cr_2O_7$ 2 N e si introducono goccia a goccia, con la buretta, 26 ml di acido solforico concentrato, agitando di tanto in tanto.

Si asciuga il pallone e lo si pone sul mantello già caldo connettendolo al refrigerante. Da quando il campione inizia a bollire vivacemente si fa partire il cronometro (agitare bene e con cautela più volte prima e durante l'ebollizione). Il refrigerante deve assicurare un riflusso perfetto.

Trascorsi 10' si spegne e si raffredda, aggiungendo dall'alto con cautela H_2O sino a 200 ml di volume complessivo.

Si trasferisce quantitativamente il tutto in matraccio da 250 ml, portando a volume dopo raffreddamento con H_2O (soluzione A).

Contemporaneamente si effettuano 2 prove in bianco.

Interferenze

Le principali interferenze del metodo sono dovute alla presenza di cloruri (vedi nota).

Misura

a) Titolazione manuale

Si titola con $FeSO_4$ 0,2 N un'aliquota di 25 ml della soluzione A. L'indicatore consigliato è il 4-difenilammina solfonato di Ba (vedi anche punto b).

b) Titolazione con titolatore automatico

Si carica la buretta del titolatore automatico con la soluzione di solfato ferroso.

Si prelevano 25 ml di soluzione A, si trasferiscono in becher da 50 ml, senza aggiungere H_2O , e si fa partire la titolazione.

Prove in bianco:

a) prova in bianco 1 (soluzione B1): ha lo scopo di determinare l'esatto titolo della soluzione di $FeSO_4$.

In un matraccio da 250 ml si introducono 20 ml esatti di potassio dicromato 2 N e si aggiungono 150 ml di acqua deionizzata; si aggiungono goccia a goccia, agitando, 26 ml esatti di H_2SO_4 conc.; raggiunta la temperatura ambiente si porta a volume.

Si prelevano 25 ml e si titolano procedendo come per il campione.

b) prova in bianco 2 (soluzione B2): si titolano 25 ml di soluzione acida di potassio dicromato trattata come il campione (ossidazione a caldo e diluizione al volume di 250 ml); la prova viene eseguita in doppio e ha lo scopo di correggere l'errore dovuto alla decomposizione del potassio dicromato.

Calcolo

Il % di C organico totale (TOC) viene calcolato con la seguente formula:

$$TOC \% = \frac{[N \cdot (B2 - A)] \cdot 3 \cdot 10 \cdot 100}{P \cdot 1000} \cdot F2$$

dove:

B1 = ml di FeSO_4 impiegati per la prova in bianco n. 1.

B2 = ml di FeSO_4 impiegati per la prova in bianco n.2 (valore medio); i singoli valori non devono differire di più di 0,2 ml.

A = ml di FeSO_4 utilizzati per il campione.

N = normalità della soluzione di FeSO_4 calcolata dalla prova in bianco 1 = $4 / B1$.

P = peso del campione in grammi.

3 = peso equivalente del carbonio.

10 = fattore per riportare i 25 ml titolati ai 250 ml totali.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

La formula si abbrevia come segue:

$$\text{TOC } \% = \frac{N \cdot (B2 - A) \cdot 3}{P} \cdot F2$$

c) misura colorimetrica

Il carbonio organico viene determinato per via colorimetrica direttamente nella soluzione A, utilizzando l'assorbimento dato dal Cr (III) in soluzione acida a 585 nm. I valori di assorbanza sono direttamente proporzionali alla quantità di carbonio presente nel campione.

La curva di calibrazione viene ottenuta da standard di glucosio (previamente essiccato per 2 h a 105 °C), seguendo la procedura di attacco e la diluizione descritte per il campione.

Gli standard di glucosio sono compresi tra g 0,050 e g 0,250 corrispondenti rispettivamente a g 0,020 e g 0,100 di carbonio.

Le letture di assorbanza sono effettuate con riferimento a H_2O deionizzata tralasciando la prova in bianco 1 (soluzione B1), mentre vengono corretti i valori dei campioni detraendo la media delle assorbanze della prova in bianco 2 (soluzione B2). La misura colorimetrica deve essere effettuata non oltre le 24 ore dal termine dell'estrazione. Può essere necessaria una filtrazione (non su cellulosa) o una centrifugazione prima della misura.

Il metodo colorimetrico offre i seguenti vantaggi:

- a) minore precisione richiesta nel titolo del potassio dicromato;
- b) minore accuratezza richiesta nelle aggiunte del medesimo;
- b) eliminazione dell' impiego della soluzione di solfato ferroso;

c) eliminazione della prova in bianco 1;

d) rapidità di misura;

e) proporzionalità diretta della misura rispetto all'analita;

f) minori passaggi operativi.

Calcolo

$$\text{TOC } \% = \frac{A \cdot 100}{P} \cdot F2$$

dove:

A = g di carbonio misurati.

P = peso del campione in grammi.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

NOTA

* Nel caso di interferenza da cloruri, essi sono determinati a parte e il dato del TOC viene corretto come segue:

$$\text{TOCe } \% = \text{TOC } \% - 0,086 \cdot \text{Cl } \%$$

dove:

TOCe = concentrazione effettiva di carbonio organico totale;

TOC = concentrazione di carbonio organico totale determinata secondo la metodologia descritta;

Cl % = concentrazione di ione cloruro determinata a parte (vedi)

0,086 = rapporto tra la massa di un atomo di carbonio e quattro atomi di cloro.

Riferimenti bibliografici

- NELSON D. W., SOMMERS L. E. (1982). *Methods of soil analysis. Part 2*. Agronomy, 9, 539-579.

- MINISTERO AGRICOLTURA E FORESTE (1989). *Decreto ministeriale 19/7/1989. Approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi per i fertilizzanti. Supplemento n.1"*. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana 23/8/1989, 40-47.

- CIAVATTA C., VITTORI ANTISARI L., SEQUI P. (1989). *Determination of organic carbon in soils and fertilizers*. Commun. in Soil Sci. Plant anal. 20, 759-773.

C6.2. CARBONIO ORGANICO ESTRAIBILE (TEC) E CARBONIO UMICO (HA + FA)

Generalità

Con questo metodo vengono valutate le forme di carbonio estraibili con soluzione di sodio idrossido e sodio pirofosfato 0,1 M. Dall'estratto vengono successivamente separate e determinate le forme di carbonio umico.

Le misure di carbonio negli estratti vengono effettuate per via ossidimetrica secondo le procedure indicate nel metodo del carbonio organico totale (TOC).

Reagenti

- Soluzione estraente di sodio idrossido e sodio pirofosfato 0,1 M: si sciolgono 44,6 g di $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ e 4 g di NaOH in matraccio tarato da 1000 ml e si porta a volume.
- Azoto gassoso.
- Acido solforico al 50 %.
- Acido solforico soluzione 0,005 M: si portano 2,8 ml. di H_2SO_4 al 50% a 1000 ml.
- Polivinilpirrolidone resina insolubile (crosslinked: tipo cod. 85648/7 Aldrich, West Germany; oppure SIGMA cod. P-6755).
- Sodio idrossido soluzione 0,1 M.
- Solfato ferroso 0,4 N per la determinazione di C nella frazione HA + FA: in un matraccio tarato da 500 ml si trasferiscono 55,604 g di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, si aggiungono 50 ml di acqua, si scioglie rapidamente e si aggiungono subito 10 ml di H_2SO_4 conc., portando a volume dopo raffreddamento con H_2O . La soluzione è instabile e il titolo deve essere verificato di volta in volta per ciascuna serie di determinazioni.

Apparecchiature

a) Estrazione del carbonio organico

- Agitatore a scosse in bagno d'acqua termoregolabile a 65°C (agitatore tipo Dubnoff).
- Centrifuga.
- Tubi da centrifuga da 150 ml.
- Unità filtrante per filtri a membrana con relativa pompa per vuoto.
- Filtri da 0,8 micron in acetato di cellulosa o equivalenti (non di cellulosa).

b) Frazionamento del carbonio umico

- Centrifuga.
- Tubi da centrifuga da 50 ml.
- Siringhe ipodermiche in plastica da 10 ml.
- Lana di vetro in fibre.

Procedimento

a) Carbonio organico estraibile

Si pesano 2,000 g di campione, secco all'aria e macinato, in beuta da 250 ml con tappo a vite. Si aggiungono 100 ml di soluzione estraente, si insuffla azoto per 1 minuto, si chiude ermeticamente e si pone in agitatore a scosse (regolato a 65°C e a 80 scosse al minuto) per 48 ore.

Trascorso il periodo di estrazione, la beuta viene raffreddata con ghiaccio e successivamente il contenuto è travasato in tubo da centrifuga da 150 ml.

Si centrifuga a 3000 - 3500 rpm per 20 minuti, quindi si filtra il surnatante sui filtri in acetato di cellulosa da 0,8 micron. Il filtrato viene raccolto in recipiente asciutto; si insuffla azoto per 1 minuto e si chiude ermeticamente. I campioni possono essere conservati in frigo a 4°C solo per pochi giorni.

Nell'estratto viene determinato il carbonio organico estraibile (TEC) prelevando un'aliquota 10 ml ed operando secondo le procedure indicate nel metodo del carbonio organico totale (TOC).

La prova in bianco n. 2 (soluzione B2) è effettuata sulla soluzione estraente: sodio idrossido e sodio pirofosfato 0,1 M.

b) Frazionamento del carbonio umico

- **Preparazione del polivinilpirrolidone (PVP):** si introducono 50 g di polvere di polivinilpirrolidone insolubile in beuta da 1000 ml. Si aggiunge energicamente acqua di rubinetto e si agita molto accuratamente la miscela. Si lascia decantare per 15 minuti e si scartano le frazioni più fini. Si ripete l'operazione per due volte. Successivamente si lava per due volte con acqua deionizzata scartando sempre la frazione più fine in sospensione. Si aggiunge alla soluzione di H_2SO_4 0,005 M al fine di acidificare la resina. Il PVP così preparato può essere conservato a temperatura ambiente in recipiente chiuso con l'avvertenza di mantenerlo sempre ricoperto di soluzione.

- **Preparazione delle colonnine:** sono costituite da siringhe ipodermiche in plastica da 10 ml eliminando l'ago. Alla base della siringa viene posto uno strato di circa 0,5 cm di fibre di lana di vetro opportunamente pressato per evitare la fuoriuscita di PVP. Le siringhe vengono fissate su supporto rigido in posizione verticale e non devono essere mosse dopo averle caricate con resina.

Il PVP viene caricato versando la sospensione acida e lasciando sedimentare. L'operazione si interrompe quando il volume riempito raggiunge circa i 10 ml facendo attenzione a non far andare a secco il PVP dopo la preparazione. La colonnina viene chiusa alle sommità con lana di vetro.

Procedimento

25 ml dell'estratto soda - pirofosfato (estratto totale = ET) si pongono in tubo da centrifuga da 50 ml; si aggiungono circa 0,5 ml di H_2SO_4 al 50 % fino a $pH < 2$. Si chiude il tubo, si agita accuratamente e si lascia riposare per qualche minuto. Poi si centrifuga a 3000 - 3500 rpm per 20 minuti.

Il surmatante viene versato nella colonnina riempita di PVP preparata come precedentemente descritto. L'eluato viene scartato e la colonnina viene lavata 5 volte con porzioni di 5 ml di H_2SO_4 0,005 M. Terminati i lavaggi, si aggiunge lentamente dalla sommità NaOH 0,1 M per rimuovere il materiale adsorbito. Sono sufficienti 3 - 4 ml di NaOH per far migrare gli FA (= acidi fulvici di colore giallo - rossastro) all'estremità della colonnina. Al di sotto di questa si inserisce ora il tubo da centrifuga contenente la corrispondente frazione di HA (= acidi umici) sotto forma di precipitato e si lava con 20 - 25 ml (o più a seconda delle necessità) di NaOH 0,1 M.

Si travasa la soluzione contenente gli HA (solubilizzatisi in ambiente basico) e gli FA (provenienti dalla colonnina) in matraccio da 50 ml e si porta a volume con NaOH 0,1 M.

Nella soluzione contenente la frazione HA + FA viene determinato il carbonio organico prelevando aliquote contenenti quantità di carbonio comprese tra 5 e 25 mg di C e comunque non superiori a 10 ml. Per prelievi inferiori a 10 ml si riporta al volume con soluzione estraente o acqua deionizzata.

Si aggiungono 5 ml di $K_2Cr_2O_7$ 2 N e 20 ml di H_2SO_4 conc. e poi si procede con la digestione a caldo secondo le indicazioni del metodo per il carbonio organico totale (TOC). Dopo raffreddamento e aggiunta di acqua fino a circa 200 ml, si titola direttamente, senza ulteriore diluizione, la soluzione con $FeSO_4$ 0,4 N.

La prova in bianco n. 2 (soluzione B2) è effettuata sulla soluzione di NaOH 0,1 M.

Calcolo

Il contenuto di carbonio organico estraibile (TEC) e di carbonio umico e fulvico (HA + FA) viene calcolato dalla relazione:

$$TEC \% \text{ oppure } (HA+FA) \% = \frac{(B2 - A) \cdot N \cdot 3}{P} \cdot F2$$

dove:

B1 = ml di $FeSO_4$ impiegati per la prova in bianco n. 1.

B2 = ml di soluzione di $FeSO_4$ impiegati per la prova in bianco 2.

A = ml di $FeSO_4$ consumati il campione.

N = normalità della soluzione di $FeSO_4$ calcolata dalla prova in bianco 1 (B1): $4 / B1$ (vedi TOC).

3 = peso equivalente del carbonio.

P = peso del campione in grammi.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Parametri di umificazione

Per il calcolo dei parametri di umificazione occorrono i seguenti dati:

- carbonio organico totale (TOC);

- carbonio organico dell'estratto in soda-pirofosfato (TEC);

- carbonio organico umificato (HA + FA).

- carbonio organico non umificato: $NH = TEC - (HA + FA)$.

Il calcolo si esegue nel modo seguente:

- *Grado di umificazione (DH %)*: percentuale di carbonio organico umico presente nell'estratto rispetto al carbonio organico estraibile:

$$DH \% = \frac{(HA + FA)}{TEC} \cdot 100$$

- *Tasso di umificazione (HR %)*: percentuale di carbonio umico presente nell'estratto rispetto al carbonio organico totale del campione:

$$HR \% = \frac{(HA + FA)}{TOC} \cdot 100$$

- *Indice di umificazione (HI)*: rapporto tra il carbonio non umico e il carbonio umico presente nell'estratto:

$$HI = \frac{NH}{(HA + FA)}$$

Riferimenti bibliografici

- MINISTERO AGRICOLTURA E FORESTE (1991). *Approvazione dei Metodi ufficiali di analisi per i fertilizzanti. Supplemento n. 2. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n.29, 4/2/1991, 31 - 39.*

C 6.3. DETERMINAZIONE DELL'HUMUS TOTALE, DEGLI ACIDI UMICI ED ACIDI FULVICI

Generalità

L'estrazione delle sostanze umiche viene effettuata con pirofosfato di sodio 0.05 M tamponato a pH 9 (forza ionica 0.5 M); una tripla estrazione è da considerarsi esaustiva. La determinazione del carbonio umico viene effettuata con il metodo del bicromato di potassio.

Reagenti

- Sale di Mohr 0.5 N: si sciolgono 196.1 g di $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \times 6 H_2O$ in 500 ml di H_2O con 20 ml di H_2SO_4 concentrato in un matraccio da 1000 ml e si porta a volume;
- Indicatore o-fenantrolina: si sciolgono 1.5 g di 1,1 o-fenantrolina e 0,7 g di $FeSO_2 \times 7 H_2O$ in 10 ml di H_2O ; si filtra e si raccoglie il filtrato in un flacone di vetro scuro;
- Pirofosfato di sodio 0,05 M: si sciolgono 22,303 g di $Na_4P_2O_7 \times 10 H_2O$ in 900 ml di H_2O ; si porta a pH 9 con H_3PO_4 diluito. Si trasferisce in matraccio da 1000 ml e si porta a volume;
- Bicromato di potassio 1 N: in un matraccio da 1000 ml contenente 500 ml di H_2O si sciolgono 49,035 g di $K_2Cr_2O_7$ e si porta a volume.

Humus totale

Procedimento

In una beuta contenente 100 ml di estraente (pirofosfato di sodio 0,05 M) viene introdotto 1,000 g di campione.

Il campione viene sottoposto ad agitazione per 14 ore (una notte) quindi si centrifuga ed il surnatante viene accantonato.

Il residuo viene sospeso nuovamente nel reattivo estraente e si ripete per due volte l'estrazione con le stesse modalità.

Al termine i tre estratti vengono riuniti per procedere alla determinazione del carbonio umico. Allo scopo si prelevano 20 ml che vengono posti in un pallone da 250 ml, si aggiungono 10 ml di bicromato 1 N e 20 ml di H_2SO_4 concentrato. Si scalda all'ebollizione con ricadere per 2 ore. Al termine, dopo aver diluito la soluzione con 100-150 ml di H_2O distillata, il bicromato in eccesso viene titolato a freddo con sale di Mohr 0,5 N in presenza di indicatore o-fenantrolina (2 gocce) fino a viraggio da verde a rosso persistente. Contemporaneamente si eseguono 2 prove in bianco.

Calcolo

$$C \text{ (mg)} = (\text{ml Mohr bianco} - \text{ml Mohr campione}) \times 4 \times (12,011/32)$$

Nel caso della metodica descritta:

$$C_{\text{umico totale}} (\%) = C \text{ (mg)} \times (300(100) / (20(1000)) = C \text{ (mg)} \times 1,5$$

$$\text{Humus } \% = C_{\text{umico totale}} (\%) \times 1,726$$

Acidi umici ed acidi fulvici

Per separare gli acidi umici da quelli fulvici si sfrutta la loro diversa solubilità in ambiente acido per acido solforico (pH circa 1): gli acidi umici precipitano mentre i fulvici rimangono in soluzione.

Procedimento

In un matraccio da 50 ml vengono introdotti 40 ml di estratto e 4 ml di H_2SO_4 concentrato; si lascia raffreddare e si porta a volume. Dopo circa 2 ore si travasa in cuvetta e si centrifuga per 5 minuti a 5000 rpm.

Su 25 ml del surnatante si determina il carbonio fulvico mediante ossidazione con bicromato e titolazione dell'eccesso di ossidante con sale di Mohr, usando come indicatore o-fenantrolina fino a viraggio dal verde al rosso persistente. L'ossidazione viene condotta a caldo per 2 ore (con ricadere).

Calcolo

$$C_{\text{fulvico}} \text{ (mg)} = (\text{ml Mohr bianco} - \text{ml Mohr campione}) \times 4 \times (12,011/32)$$

$$C_{\text{fulvico}} (\%) = C \text{ (mg)} \times (300 \times 100 \times 50) / (25 \times 1000 \times 40) = C \text{ (mg)} \times 1,5$$

La percentuale di acidi fulvici sulla sostanza umica totale sarà:

$$\text{AF} (\%) = C_{\text{fulvico}} (\%) / C_{\text{umico totale}} (\%) \times 100$$

La percentuale di acidi umici risulta:

$$\text{AU} (\%) = 100 - \text{AF} (\%).$$

Riferimenti bibliografici

- A.A.V.V. (1984). *Metodi Analitici: Fertilizzanti organici, Compost, Fanghi degli impianti di depurazione, Rifiuti organici, Substrati in fermentazione metanica, Biogas* - IPLA.
- ROLETTI E., R. BARBERIS e V. ZELANO (1982). *Gel filtration and absorption spectroscopic investigations on humic substances from organic fertilizers*. Plant and soil, 66, 383-390.
- ROLETTI E., R. BARBERIS, M. CONSIGLIO e R. JODICE (1985). *Chemical parameters for evaluating compost maturity*. BioCycle, 26 n°2 46-47.

C 7. FORME DI AZOTO

C 7.1. AZOTO NITRICO

L'azoto nitrico può essere ridotto, congiuntamente o meno all'azoto nitroso, a ione ammonio che viene separato per distillazione in corrente di vapore e titolato; in alternativa si impiega la reazione colorimetrica dell'azoto nitrico con brucina.

Metodo per distillazione

Generalità

I nitrati e i nitriti sono ridotti ad azoto ammoniacale con lega di Devarda. Contemporaneamente viene dosato l'azoto ammoniacale. Per la determinazione dei soli nitrati si eliminano i nitriti con acido solfamminico che li decompone ad azoto gassoso.

Apparecchiature

- Distillatore per azoto in corrente di vapore con relativi tubi o palloni Kjeldahl.

Reagenti

- Cloruro di potassio 1 N: si sciolgono 74,56 g di KCl in un matraccio tarato da 1000 ml e si porta a volume con H_2O deionizzata
- Lega di Devarda in polvere.
- Acido bórico: soluzione acquosa 1 %.
- Magnesio ossido.
- Acido solfamminico: soluzione acquosa 2 %.
- Soluzione di acido solforico 0,0357 N (N/28 esatta): 35,7 ml di soluzione 0,1 N esatta, prelevati con buretta, sono portati a 100 ml in un matraccio tarato.
- Indicatore: 0,1 g di rosso metile e 0,2 g di verde di bromocresolo si sciolgono in 100 ml di alcool al 95 %.

Procedimento

a) Determinazione dell'azoto nitrico insieme ad azoto nitroso

5,00 g di campione umido, pesati in tubo da centrifuga, sono trattati con 50 ml di KCl 1N, si agita per 60' e si centrifuga a 4000 rpm per 15'.

Si pone in tubo o pallone da distillazione un'aliquota di 5 - 10 ml di

estratto. Si aggiunge circa 1 g di MgO, si diluisce a circa 80 ml e si separa l'azoto ammoniacale distillando per 4 - 5' e raccogliendo il distillato in 20 ml di soluzione di acido borico contenente 2 gocce di indicatore (Sol. 1). Questa soluzione viene utilizzata per il dosaggio dello ione ammonio.

Si prepara una seconda aliquota di 20 ml di soluzione di acido borico con indicatore (Sol. 2) e in essa viene immerso la canna di raccolta del distillato. Si apre, poi, con cautela il tubo o pallone dove è stata effettuata la distillazione dell'azoto ammoniacale e si introducono rapidamente 0,5 g di lega di Devarda. Si applica immediatamente il tubo all'apparecchio di distillazione e si lascia digerire per 2 - 3'. Si distilla poi per 3 - 5' e il distillato viene raccolto nella soluzione 2.

La sol. 1 e la sol. 2 sono titolate separatamente con H_2SO_4 0,0357 N (N/28 esatto). La titolazione può anche essere eseguita per via potenziometrica.

Nella sol. 1 viene dosato l'azoto ammoniacale, nella sol. 2 l'azoto nitrico e nitroso.

Calcolo

Per il dosaggio dell'azoto nitroso - nitrico deve essere detratto il valore dell'azoto ammoniacale:

$$N \text{ amm. (mg/kg)} = \frac{A \cdot N \cdot 14 \cdot 1000 \cdot D}{P} \cdot F1$$

$$N \text{ nitr. (mg/kg)} = \left[\left(\frac{B \cdot N \cdot 14 \cdot 1000 \cdot D}{P} \right) - N \text{ amm.} \right] \cdot F1$$

dove:

A = ml di H_2SO_4 N/28 impiegati nella titolazione della sol. 1.

B = ml di H_2SO_4 N/28 impiegati nella titolazione della sol. 2.

N = titolo della soluzione di acido solforico N/28.

D = fattore di diluizione.

N amm. = azoto ammoniacale in mg/kg determinato nella sol. 1.

P = peso del campione umido in grammi.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

b) Determinazione dell'azoto nitrico senza azoto nitroso

Si procede come al punto precedente con l'avvertenza di aggiungere 1 ml di soluzione di acido solfammonico, prima dell'aggiunta della lega di Devarda,

agitando per alcuni secondi. In modo analogo sono eseguite distillazione, titolazione e calcolo.

Metodo colorimetrico

Generalità

La reazione fra nitrati e brucina deve essere effettuata in condizioni standardizzate di temperatura e di acidità.

Apparecchiature

- Spettrofotometro o colorimetro per misure nel visibile (410 nm).

Reagenti

- Soluzione di brucina-acido solfanilico: si sciolgono 1,0 g di solfato di brucina e 0,1 g di acido solfanilico in circa 70 ml di acqua calda. Si aggiungono 3 ml di HCl concentrato, si raffredda e si porta il volume a 100 ml. Si conserva al buio.

- Soluzione standard di nitrato di potassio: 0,7218 g/litro di KNO_3 corrispondente a 100 mg/litro di N.

- Soluzioni standard diluite: si preparano dalla precedente delle soluzioni contenenti da 0,1 a 0,5 mg/litro di azoto.

- Acido solforico: si aggiungono 500 ml di acido solforico concentrato ($d = 1,84$) a 75 ml di acqua.

Procedimento

Si impiegano 2 ml dell'estratto acquoso che è stato preparato per la conducibilità. Se si presume che l'N nitrico superi le 50 ppm, si diluisce opportunamente prelevando 2 ml del diluito. Si pone il campione in un beaker da 50 ml con 1 ml di brucina. In un altro beaker si pongono 10 ml di H_2SO_4 e si travasa rapidamente il contenuto del primo beaker nel secondo. Si travasa più volte il contenuto da un beaker all'altro per rimescolare e si lascia poi riposare al buio per 10 minuti. Con lo stesso procedimento si aggiungono 10 ml di acqua deionizzata lasciando poi al buio per 30 minuti.

Si misura allo spettrofotometro a 410 nm: Si costruisce in parallelo la curva di taratura impiegando 2 ml delle soluzioni diluite ottenute dalla soluzione standard concentrata.

Calcolo

$$N \text{ mg/kg} = \frac{A \cdot D \cdot 5000}{P} \cdot F1$$

dove:

A = mg/l di azoto misurato.

D = fattore di diluizione.

P = peso del campione umido.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Interferenze

Il metodo è sensibile a grandi quantità di ossidanti.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 7.2. AZOTO AMMONIACALE

Metodo per distillazione

Si distilla l'ammoniaca che si forma trattando il campione con una base debole.

Apparecchiature

- Distillatore per azoto in corrente di vapore con relativi tubi o palloni Kjeldahl.

Reagenti

- Soluzione cloruro di potassio 1 N: si sciolgono 74,56 g di KCl in un matraccio tarato da 1000 ml e si porta a volume con H₂O deionizzata
- Acido solforico soluzione 0,0357 N (N/28 esatta): 35,7 ml di soluzione 0,1 N esatta, prelevati con buretta, sono portati a 100 ml in un matraccio tarato.
- Ossido di magnesio.
- Indicatore: 0,1 g di rosso metile e 0,2 g di verde di bromocresolo si sciolgono in 100 ml di alcool al 95 %.

Procedimento

5,00 g di campione umido, pesati in tubo da centrifuga, sono trattati con 50 ml di KCl 1N, si agita per 60' e si centrifuga a 4000 rpm per 15'.

Si pone in tubo o pallone da distillazione un'aliquota di 5 - 10 ml di estratto. Si aggiunge circa 1 g di MgO, si diluisce a circa 80 ml e si separa l'azoto ammoniacale distillando per 4 - 5' e raccogliendo il distillato in 20 ml di soluzione di acido borico contenente 2 gocce di indicatore.

La soluzione è titolata con H₂SO₄ 0,0357 N (N/28 esatto). La titolazione può anche essere eseguita per via potenziometrica.

Calcolo

$$N \text{ amm. (mg/kg)} = \frac{A \cdot N \cdot 14 \cdot 1000 \cdot D}{P} \cdot F1$$

dove:

A = ml di H₂SO₄ N/28 impiegati nella titolazione.

D = fattore di diluizione

N = titolo della soluzione di acido solforico N/28.

P = peso del campione umido in grammi.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Metodo colorimetrico: Nessler

Generalità

Il reattivo di Nessler in ambiente alcalino reagisce con l'ammoniaca formando un fine precipitato, stabile in sospensione (a basse concentrazioni) per un tempo sufficiente alla misura colorimetrica.

Reagenti

- Soluzione cloruro di potassio 1 N: si sciolgono 74,56 g di KCl in un matraccio tarato da 1000 ml e si porta a volume con H₂O deionizzata.
- Reattivo di Nessler: si sciolgono 100 g di HgI₂ e 70 g di KI in una piccola quantità di acqua deionizzata e si aggiunge la miscela, lentamente e sotto agitazione, a una soluzione fredda di 160 g di NaOH in H₂O. Si diluisce ad 1 litro e si conserva in un recipiente di vetro scuro.
- Soluzione standard di ammonio : si sciolgono 3,819 g di NH₄Cl essiccato in stufa a 105 °C in acqua deionizzata, portando a volume ad 1 litro. La soluzione contiene 1000 ppm di azoto ammoniacale.
- Sale di Rochelle soluzione: si sciolgono 50 g di di potassio sodio tartrato tetraidrato, KNaC₄H₄O₆·4H₂O, in 100 ml di acqua deionizzata. E' opportuno rimuovere le tracce di ammonio presenti facendo bollire per 30' la soluzione, diluendo a 100 ml dopo raffreddamento.

Procedimento

2,00 g di campione umido, pesati in tubo da centrifuga, sono trattati con 50 ml di KCl 1N, si agita per 60' e si centrifuga a 4000 rpm per 15'. Si pongono 10 ml di surnatante in matraccio da 500 ml e si porta a volume con acqua deionizzata.

5 ml di estratto in KCl, previamente diluito se necessario, vengono trasferiti in matraccio da 50 ml, portando a volume. E' necessario usare matracci con almeno 2 ml di volume utile al di sopra del segno di riferimento. Alternativamente si possono usare tubi graduati di volume opportuno.

Si aggiungono 0,05 ml (1 goccia) della soluzione di sale di Rochelle e 1 ml di reattivo di Nessler, si tappa e si agita. Contemporaneamente si preparano un bianco ed una serie di standard, trattandoli esattamente come il campione (linearità sino a 2 ppm). Dopo 10' si misura l'assorbanza a 420 nm. La serie di standard va preparata ogni volta.

Calcolo

$$N \text{ amm. mg/kg} = \frac{A \cdot D \cdot 2500}{P} \cdot F1$$

dove:

A = mg/l di azoto misurato.

D = fattore di diluizione.

P = peso del campione umido.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Riferimenti bibliografici

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1989). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 17th edition.
- MARCKZENKO Z.(1976). *Spectrophotometric determination of elements*. Wiley.
- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 7.3. AZOTO TOTALE

Generalità

La sostanza organica viene decomposta con acido solforico in presenza di catalizzatore. Si distilla l'ammoniaca che si raccoglie su una soluzione di acido bórico. Si titola poi con acido solforico in presenza di indicatore.

Apparecchiature

- Tubi per l'attacco oppure palloni Kjeldahl.
- Distillatore per azoto in corrente di vapore con relativi tubi o palloni Kjeldhal.

Reagenti

- Acido solforico concentrato.
- Catalizzatore al selenio polvere (Miscela selenica): si trovano in commercio miscele già pronte.
- Acido solforico 0,1 N: se occorre una soluzione più diluita, è preferibile impiegare l'acido 0,0357 N (N/28) che si ottiene per diluizione della soluzione 0,1 N.
- NaOH circa 40 %.
- Indicatore: 0,1 g di rosso metile e 0,2 g di verde di bromocresolo si sciolgono in 100 ml di alcol a 95 %.
- Acido bórico soluzione: circa 1 % in acqua.

Procedimento

Mineralizzazione

Si introducono nel tubo o nel pallone Kjeldhal 2,00 g di campione umido e si aggiungono 25 ml di acido solforico e 0,5 g di catalizzatore. Si collega con l'aspiratore e si scalda cautamente per evitare schiumeggiamenti; si alza poi la temperatura e si mantiene all'ebollizione fino a quando il liquido diviene incolore e il residuo sia bianco-grigiastro; poi ancora mezz'ora di ebollizione.

Si raffredda e si diluisce con poca acqua scaldando con cautela per sciogliere i solfati.

Distillazione

Si collega il tubo o il pallone Kjeldahl all'apparecchio per la distillazione.

Si distilla dopo aver basificato con NaOH (ne occorrono 30 - 40 ml se si distilla tutto il liquido proveniente dall'attacco) raccogliendo il distillato in 20 ml di acido bórico contenente 2 gocce di indicatore.

Titolazione

Si titola con H_2SO_4 0,1 N fino a viraggio dal verde al grigio - viola.

Calcolo

$$N \% = \left(\frac{A \cdot T \cdot 14}{P \cdot 10} \right) \cdot F1$$

dove:

A = ml di acido di acido solforico 0,1 o 0,0357 N impiegati nella titolazione.

T = normalità della soluzione di acido solforico 0,1 o 0,0357 N.

P = peso del campione umido in grammi.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Nota

* Sottraendo dal valore del totale l'azoto in forma ammoniacale determinato come al punto 7.2, si ottiene l'azoto organico totale:

$$N \text{ org. } \% = N_{\text{tot.}} - \% N \text{ amm. } \%$$

C 8. FORME DI FOSFORO

C 8.1. FOSFORO TOTALE

L'attacco con acido nitrico-perclorico permette di portare in soluzione i fosfati e la successiva evaporazione insolubilizza l'eventuale silice. La soluzione acida viene trattata con molibdato ammonico e acido ascorbico in presenza di ione antimonile come catalizzatore ottenendo una colorazione blu la cui intensità è proporzionale alla concentrazione dei fosfati in un ampio campo di concentrazioni.

Apparecchiature

- Spettrofotometro o colorimetro per misure a 650 nm.
- Recipienti per l'attacco: tubi di vetro a fondo piano con diametro 5 cm circa e altezza di 17 cm con giunto smerigliato per adattare una canna a ricadere.
- Fornetto a piastra con fori adatti ai suddetti tubi.

Reagenti

- Acido nitrico concentrato ($d = 1,40$ circa).
- Acido perclorico 60 % circa.
- Acido solforico 8 N circa: 225 ml di acido solforico concentrato si versano con cautela in circa 600 ml di acqua deionizzata. Si raffredda e si porta a 1 litro.
- Molibdato ammonico soluzione: si sciolgono 14,4 g di molibdato ammonico in 500 ml di acqua scaldando leggermente; a parte si sciolgono 0,3 g di tartrato di potassio e antimonile in 100 ml di acqua. Si uniscono le due soluzioni e si porta a volume di 1 litro.
- Acido ascorbico soluzione: 1,6 g di acido in 100 ml di acqua.
- Soluzione standard: si sciolgono 1,1493 g di fosfato di sodio biidrato portando il volume a 1000 ml. La soluzione contiene 200 mg/litro di P.
- Soluzione standard diluita: 20 ml della soluzione precedente vengono diluiti a 1000 ml. La soluzione contiene 4 mg/litro di P.

Procedimento

Si pesano 0,200 g di campione secco all'aria e macinato, si trattano con 5 ml di acido nitrico e 3 ml di acido perclorico. Si riscalda all'ebollizione e, ad attacco ultimato, si toglie la canna a ricadere lasciando bollire il liquido fino ad eliminazione dell'acido nitrico (il volume si riduce a circa 1/3 e si svolgono fumi bianchi pesanti di acido perclorico). Si riscalda ancora finché

il liquido sia incolore o appena giallo ed il residuo non abbia più alterazioni visibili. Si raffredda, si diluisce e si travasa decantando in un matraccio tarato da 500 ml. Si lava il residuo raccogliendo le acque di lavaggio nel matraccio e si porta a volume. Si prelevano 10 ml che si trasferiscono in un matraccio da 100 ml per lo sviluppo del colore.

Curva di taratura

Si impiega la soluzione standard diluita di cui si prelevano 0,5, 10, 20, 25 ml in altrettanti matracci da 100 ml diluendo a circa 70 ml. Si aggiungono, agitando dopo ogni aggiunta, 5 ml di H_2SO_4 8 N, 5 ml di molibdato, 5 ml di acido ascorbico. Si porta a volume, si lascia riposare 15 minuti e si misura allo spettrofotometro (650 nm). La curva di taratura deve essere visibilmente rettilinea.

Misura dei campioni

La soluzione è diluita a circa 70 ml e trattata come gli standard.

Interferenze

L'interferenza dovuta al Si è annullata perché la silice si insolubilizza con l'evaporazione a fumi bianchi; le altre interferenze sono trascurabili.

Calcolo

$$P \% = (A \cdot 0,25) \cdot F2$$

dove:

A = mg di P misurati nella soluzione finale.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 8.2. FOSFORO ORGANICO

Generalità

Il metodo consiste nell'estrazione con acido cloridrico concentrato di due porzioni omogenee e corrispondenti dello stesso campione, la prima trattata e la seconda non trattata a 240°C. Sull'estratto si misura il contenuto di fosforo inorganico e la differenza di contenuto tra il campione trattato termicamente e quello non trattato corrisponde al tenore in fosforo organico.

Reagenti

- Acido cloridrico concentrato.
- Acido cloridrico soluzione 0,5 N.
- Ammonio idrossido soluzione 6 N: 385 ml di ammoniaca concentrata (d=0,89) si portano a 1000 ml.
- Reagenti per la misura colorimetrica: vedi Fosforo totale.

Procedimento

Si pesano 0,500 g di campione secco all'aria e macinato in capsula di porcellana e si trattano per 1 ora in muffola preriscaldata a 240°C.

Dopo raffreddamento si trasferisce quantitativamente il campione in tubo da centrifuga da 50 ml. In un altro tubo da centrifuga si pone una quantità corrispondente di campione non trattato.

Alle due frazioni di campione si aggiungono 5 ml di acido cloridrico concentrato e si riscalda per 10 minuti in bagno termostatico a 70°C. Si aggiungono altri 5 ml di acido cloridrico concentrato e si lascia reagire per un'ora a temperatura ambiente.

Subito dopo si aggiungono 50 ml di acqua, si agita, si centrifuga e il surnatante, eventualmente dopo filtrazione, si travasa in matraccio da 500 ml. Si lava il residuo una volta aggiungendo le acque di lavaggio alla soluzione e si porta a volume.

Si procede poi alla misura colorimetrica come indicato per il metodo del fosforo totale.

Calcolo

$$P \% = P \% \text{ campione trattato} - P \% \text{ campione non trattato}$$

Riferimenti bibliografici

- LEGG J.O., BLACK C.A. (1955). *Soil Sci. Am. Proc.*, 19, 139
- SOCIETA' ITALIANA DELLA SCIENZA DEL SUOLO (1985). *Metodi normalizzati di analisi del suolo*. EDA - Bologna

C 9. CAPACITA' DI SCAMBIO CATIONICO

Generalità

La capacità di scambio cationico dei compost è correlata con il grado di maturazione. Si impiega come scambiante una soluzione di acido cloridrico e vengono valutati gli idrogenioni che hanno saturato il complesso di scambio.

Reagenti

- Acido cloridrico soluzione 0,05 N.
- Bario acetato soluzione 1 N portata a pH 7 con acido acetico.
- Sodio idrossido soluzione 0,05 N.

Apparecchiature

- Filtri in vetro tipo 3G3.
- Apparato per filtrazione sotto vuoto.
- Apparato per titolazione potenziometrica

Procedimento

Si pongono 0,200 g di campione secco all'aria e macinato sul filtro di vetro 3G3 collegato ad un tubo di gomma munito di pinza. Si aggiungono 25 ml di HCl 0,05 N e si lascia in riposo per 20 minuti agitando ad intermittenza con bacchetta di vetro. Si apre poi la pinza e si filtra mediante aspirazione. Si aggiungono altri 25 ml di HCl 0,05 e si filtra nuovamente.

Si lava poi il campione con acqua fino ad eliminazione dei cloruri (generalmente sono sufficienti 150 ml di acqua). Filtrato e acque di lavaggio derivanti dal trattamento con HCl sono scartati.

Si chiude la pinza e si versano nel filtro 25 ml di soluzione di bario acetato 1N a pH 7 e si lascia in riposo per una notte.

Si filtra e dopo filtrazione si aggiungono altri 25 ml di soluzione di bario acetato, si filtra e si lava accuratamente con acqua (circa 150 ml).

Si uniscono filtrato e acque di lavaggio, derivanti dal trattamento con acetato di bario, in matraccio da 200 ml, si porta a volume e si agita accuratamente.

Si prelevano 25 ml della soluzione e si titolano per via potenziometrica con sodio idrossido 0,05 N. Parallelamente viene eseguita una prova in bianco su una stessa aliquota di soluzione di bario acetato (preparata come il campione).

Calcolo

La differenza tra le due titolazioni corrisponde agli idrogenioni scambiati e rilasciati dal campione a loro volta correlati al valore di capacità di scambio cationico.

$$\text{C.S.C. meq/100g} = \left(\frac{0,05 \cdot (A - B) \cdot 8}{P} \cdot 100 \right) \cdot F2$$

dove:

A = ml di soluzione di sodio idrossido 0,05 N impiegati per titolare il campione.

B = ml di soluzione di sodio idrossido 0,05 N impiegati per titolare la prova in bianco.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Riferimenti bibliografici

- HARADA Y., INOKO A. (1980). *The measurement of the cation-exchange capacity of composts for estimation of degree of maturity*. Soil Sci. Plant Nutr., 26 (1), 127 - 134.

C 10. METALLI TOTALI

Generalità

In realtà si dovrebbe parlare di metalli solubili in acido nitrico concentrato a caldo, ma il valore ottenuto è tuttavia assai prossimo al contenuto totale.

Si porta in soluzione il campione con acido nitrico e si misura direttamente mediante spettrofotometria di Assorbimento Atomico dopo opportuna diluizione.

La digestione del campione può essere eseguita mediante due modalità:

- *metodo normale*: attacco in tubo munito di canna a ricadere con riscaldamento su piastra riscaldante;

- *metodo microonde*: attacco in speciali recipienti di teflon sotto pressione e riscaldamento mediante forno a microonde.

In entrambi i casi le misure sono eseguite mediante spettrofotometria di Assorbimento Atomico operando, a seconda del metallo in esame e delle concentrazioni presenti nel campione, con fiamma, fornello di grafite (HGA), apparato per idruri (MHS).

Metodo normale

Apparecchiature

- Spettrofotometro ad Assorbimento Atomico con lampada specifica semplice o multielemento.
- Recipienti per l'attacco: vedere fosforo totale.
- Fornello a piastra: vedere fosforo totale.
- Filtri Whatman n. 41.
- Recipienti in plastica per le soluzioni diluite.

Reagenti

- Acido nitrico concentrato: il prodotto commerciale è generalmente sufficientemente puro ma occorre controllarlo con una prova in bianco.
- Acido nitrico soluzione diluita 1 : 2.
- Soluzioni standard di metallo (1000 ppm): sono disponibili in commercio.
- Soluzioni standard diluite: si preparano con opportune diluizioni dalla soluzione precedente. Le soluzioni più diluite (10 ppm o meno) vanno preparate di volta in volta.

Procedimento

Si pesa 1,000 g di campione secco all'aria e macinato e si introduce nel tubo per l'attacco. Si aggiungono 10 ml di acido nitrico concentrato, si chiude con la canna a ricadere e si scalda sulla piastra, dapprima moderatamente per evitare schiumeggiamenti, poi all'ebollizione per 3 - 4 ore.

Si travasa in un matraccio tarato da 100 ml filtrando su filtro Whatman n.41 e si lava con acqua acidulata per acido nitrico diluito fino a portare a volume.

Si preleva un'aliquota della soluzione che sarà diluita opportunamente in modo che la concentrazione del metallo cada nel campo di taratura dello strumento.

Misura allo spettrofotometro

Si misurano le soluzioni standard costruendo la curva di taratura e da questa si ricava la concentrazione della soluzione in esame.

Calcolo

$$Me \text{ mg/kg} = (A \cdot D \cdot 100) \cdot F2$$

dove:

Me = metallo in esame.

A = mg/l di metallo misurati.

D = fattore di diluizione.

F2 = fattore analitico per riportare il dato sulla sostanza secca.

Metodo microonde

I principali vantaggi del trattamento con microonde sono:

- riduzione dei tempi di mineralizzazione;
- applicabilità ad un ampio spettro di matrici organiche ed inorganiche;
- sensibile contenimento delle perdite di sostanze volatili;
- notevole flessibilità operativa;
- alti recuperi analitici.

Apparecchiature

- Spettrofotometro ad Assorbimento Atomico con lampada specifica semplice o multielemento.
- Forno a microonde con magnetron di almeno 500 W di potenza dotato di:
 - sistema di diffusione omogenea delle microonde nella camera di attacco;

- giostra portacampioni rotante;
- sistema di aspirazione dei vapori acidi;
- sistema computerizzato per la programmazione delle modalità di attacco dei campioni;
- chiusura a tenuta dei recipienti per l'attacco.

- Recipienti di teflon muniti di chiusura a tenuta della capacità di 120 ml resistenti ad alte pressione e muniti di valvola di sicurezza.
- Filtri Whatman n. 41.
- Recipienti in plastica per le soluzioni diluite.

Reagenti

(vedi metodo classico)

Procedimento

Si pone 1,000 g di campione secco all'aria e macinato nel recipiente di teflon. Si aggiungono 10 ml di acido nitrico concentrato, si agita cautamente e si chiude ermeticamente il recipiente.

Si pone in forno a microonde programmato come segue:

- primo step: 10 minuti al 40 % di potenza;
- secondo step: 5 minuti di raffreddamento;
- terzo step: 10 minuti al 40 % di potenza;
- quarto step: 10 minuti al 50 % di potenza.

Dopo raffreddamento si apre il recipiente e si aggiungono cautamente circa 20 ml di acqua, si agita e si travasa quantitativamente in matraccio tarato da 100 ml procedendo analogamente come indicato nel metodo classico.

Potassio totale

Si misura direttamente alla fiamma previa diluizione del campione. Si migliora la linearità e la precisione aggiungendo alla soluzione in esame ed agli standard un eccesso di NaCl o LiCl.

- *Soluzione standard*: 1000 ppm.
- *Condizioni di misura*: bruciatore ad aria - acetilene; fiamma ossidante.
- *Interferenze*: praticamente assenti.

Sodio totale

Si misura direttamente alla fiamma previa diluizione del campione; bisogna tener conto che la concentrazione di Na è generalmente molto più elevata di quella di K ed occorre perciò una diluizione maggiore. Si migliora

la linearità e la precisione aggiungendo alla soluzione in esame ed agli standard un eccesso di NaCl o LiCl.

- *Soluzione standard:* 1000 ppm.
- *Condizioni di misura:* bruciatore ad aria - acetilene; fiamma ossidante.
- *Interferenze:* praticamente assenti.

Calcio totale

Si misura direttamente alla fiamma previa diluizione del campione; le interferenze chimiche sono sopresse o con l'impiego del bruciatore a protossido d'azoto oppure con soluzioni di La o Sr secondo il metodo standard allegato allo strumento impiegato.

- *Soluzione standard:* 1000 ppm.
- *Condizioni di misura:* bruciatore aria - acetilene; fiamma ossidante; oppure bruciatore protossido di azoto - acetilene; fiamma ossidante.
- *Interferenze:* eliminabili con gli accorgimenti di cui sopra.

Magnesio totale

Si misura direttamente alla fiamma previa diluizione del campione in modo analogo al calcio; generalmente le concentrazioni di Mg sono minori di quelle di Ca, ma la sensibilità più elevata permette quasi sempre la misura nella stessa soluzione diluita impiegata per il calcio.

- *Soluzione standard:* 1000 ppm.
- *Condizioni di misura:* bruciatore aria - acetilene; fiamma ossidante; oppure bruciatore protossido di azoto - acetilene; fiamma ossidante.
- *Interferenze:* eliminabili come per il Ca.

Cadmio totale

Trattandosi generalmente di basse concentrazioni, è necessario usare il fornello di grafite.

- *Soluzione standard:* 1000 ppm
- *Condizioni di misura:* dipendono dall'apparecchio impiegato. Non è generalmente necessario usare il metodo delle aggiunte; si opera di regola con 20 µl della soluzione senza ulteriori diluizioni.
- *Interferenze e limitazioni:* il punto critico del metodo di misura è la bassa temperatura di incenerimento necessaria per evitare perdite del metallo. Si può aumentare la temperatura in presenza di solfato ammonico.

Cromo totale

In alcuni campioni il Cr può essere presente sotto forma di ossidi o di sali pressochè insolubili. Con il metodo proposto non si dosano i componenti suddetti che, d'altra parte, sono inerti anche nel confronto del suolo e dei vegetali.

- *Condizioni di misura:* con il bruciatore a protossido d'azoto si possono misurare soluzioni 0,2 - 5 ppm di Cr. Si può impiegare la fiamma acetilene - aria con maggior sensibilità ma più interferenze.
- *Soluzione standard:* 1000 ppm.
- *Interferenze e limitazioni:* Fe e Ni interferiscono se si usa la fiamma acetilene - aria. Le interferenze sono maggiori se la fiamma è riducente.

Mercurio totale

Data la volatilità del mercurio e dei suoi sali è necessario impiegare il campione umido e durante l'attacco acido a caldo con il metodo normale occorre evitare ogni riscaldamento della canna a ricadere.

- *Tecnica di misura:* accessorio per la riduzione del Mercurio (MHS).
- *Reagenti specifici:*
 - . Acido nitrico soluzione 1,5 %: diluire a 1 litro 16,4 ml di acido concentrato (65%).
 - . Sodio boroidruro soluzione: si prepara secondo le indicazioni dell'apparecchio. In genere si usa la soluzione al 3 % in NaOH all'1%.
- *Soluzione standard:* 1000 ppm .
- *Condizioni di misura:* gli apparecchi in uso hanno rendimenti molto diversi tra loro. Con un apparecchio di normali prestazioni si può analizzare 1 ml della soluzione che viene diluito con HNO₃ 1,5% ottenendo buoni risultati fino a 0,1 ng di Hg corrispondenti a 0,01 ppm nel campione. Le soluzioni standard devono essere misurate nelle stesse condizioni di acidità e con lo stesso volume del campione.
- *Interferenze e limitazioni:* i metalli come Au, Ag e altri che si riducono facilmente e danno amalgame stabili con il mercurio possono rallentare lo svolgimento dei vapori. Nel caso si sospetti questa interferenza occorre operare con soluzioni standard contenenti simili quantità di metalli interferenti.

Nichel totale

- *Soluzione standard:* 1000 ppm

- *Condizioni di misura:* fiamma aria - acetilene; si possono misurare direttamente soluzioni contenenti da 0,1 a 10 mg / l corrispondenti a campioni con 10 - 1000 mg / Kg di Ni.
- *Interferenze e limitazioni:* sono possibili interferenze quando si usano lampade multielementi.

Piombo totale

Si impiega la fiamma aria - acetilene oppure per basse concentrazioni il fornello di grafite (HGA). In entrambi i casi occorre utilizzare il correttore di fondo (misure in assorbimento - background).

- *Soluzione standard:* 1000 ppm
- *Condizioni di misura:* si possono misurare direttamente alla fiamma soluzioni con più di 0,4 mg/l corrispondenti a 40 ppm di Pb nel campione. Per concentrazioni minori occorrono soluzioni più concentrate oppure si impiega il fornello di grafite (HGA).
- *Interferenze:* praticamente assenti.

Rame totale

- *Soluzione standard :* 1000 ppm.
- *Condizioni di misura:* fiamma aria - acetilene; si possono misurare direttamente soluzioni con 0,1 - 10 mg / l corrispondenti a 10 - 1000 mg / kg di Cu nel campione.
- *Interferenze:* non vi sono interferenze apprezzabili.

Zinco totale

- *Soluzione standard:* 1000 ppm.
- *Condizioni di misura:* fiamma aria - acetilene; si possono misurare direttamente soluzioni con 0,02 - 1 mg / l corrispondenti a campioni con 2 - 100 mg/kg di Zn. Generalmente i valori sono più elevati ed occorre perciò diluire la soluzione prima della misura.
- *Interferenze e limitazioni:* alle concentrazioni normalmente presenti non si hanno apprezzabili interferenze. Con acqua deionizzata si hanno spesso prove in bianco elevate. Occorre sempre controllare la purezza l'acqua impiegata per preparare le soluzioni.

Arsenico totale

- Si utilizza l'apparecchio per gli idruri volatili (MHS).
- *Reagenti specifici:*

. Sodio boridruro soluzione: si prepara secondo le indicazioni dell'apparecchio. In genere si usa una soluzione al 3 % in NaOH all'1 %.

. Acido cloridrico soluzione 1,5 %: 35 ml di acido concentrato (36 %) sono portati a 1000 ml con acqua deionizzata.

- *Soluzione standard:* 1000 ppm.

. Soluzioni diluite: si preparano dalla precedente usando come diluente l'acido cloridrico 1,5 %.

- *Condizioni di misura e preparazione del campione:* la solubilizzazione viene effettuata operando sul campione fresco. Occorre evitare che la canna a ricadere si riscaldi eccessivamente per evitare perdite di composti volatili.

Si preleva la quantità opportuna della soluzione portata a volume (con un apparecchio di normali prestazioni basta 1 ml) e si diluisce con HCl 1,5 % procedendo secondo le istruzioni dell'apparecchio. Le soluzioni standard devono essere misurate nelle stesse condizioni di acidità e con lo stesso volume del campione.

- *Interferenze:* non vi sono interferenze apprezzabili.

Selenio totale

(vedi arsenico totale).

- *Condizioni di misura:* si impiega la stessa soluzione preparata per la determinazione dell'As. La misura viene effettuata con le stesse modalità impiegando 1 ml di soluzione.

- *Interferenze:* non vi sono interferenze apprezzabili.

Osservazioni e precauzioni riguardanti l'analisi di Hg, As e Se (sistema MHS o metodo degli idruri)

Preparare la soluzione di NaBH_4 al 3% in NaOH all'1% di volta in volta per ciascuna serie di determinazioni. Filtrare eventualmente su carta.

Gli standard vanno preparati 10 volte più concentrati diluendo opportunamente le soluzioni madri. Gli standard possono contenere tutti e tre gli elementi insieme.

La diluizione finale degli standard viene effettuata nel recipiente di misura, prelevando 1 ml di standard ed aggiungendovi H_2O deionizzata e HCl dil. o HNO_3 dil. in maniera tale da riprodurre l'acidità dei campioni sino a 10 ml esatti complessivi.

Per As e Se, occorre riscaldare la cella di quarzo almeno 15' prima dell'inizio delle misure.

Concentrazioni consigliate per gli standard:

Per Hg : 0,025, 0,05, 0,10 mg/l, pari nella soluzione finale sottoposta a misura ad effettivi 0,0025, 0,005, 0,010 mg/l.

Per As e Se si possono seguire indicativamente gli stessi valori.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

- PICCONE G. *et al.* (1988). *Applicazione del forno a microonde alla determinazione degli elementi totali del terreno*. Atti Convegno "Giornate di studio sull'analisi del suolo", Verona 19-21 settembre 1988, 133 - 157.

C 11. CROMO ESAVALENTE

Generalità

Il metodo descrive le modalità operative per determinare il contenuto di cromo esavalente (Cr VI), estraibile dai compost in determinate condizioni. Il cromo VI solubile viene estratto dal campione a pH 7,5 - 8,0 sotto gas inerte. Il cromo VI ossida la 1,5-difenilcarbazide a 1,5-difenilcarbazone per dare un complesso rosso-violetto che può essere misurato per via spettrofotometrica a 540 nm. Il contenuto viene espresso come cromo VI in mg/kg di s.s.. In alcuni casi gli estratti ottenuti dai compost sono fortemente colorati con possibilità di interferenza nella misura colorimetrica.

Apparecchiature

- Agitatore meccanico adatto.
- Beute a tappo smerigliato da 250 ml.
- Tubo di gorgogliamento e flussimetro.
- pH-metro con elettrodo a vetro.
- Membrane filtranti, porosità 0,45 μm (teflon o nylon) con relativo imbuto filtrante.
- Spettrofotometro UV-visibile

Reagenti

- Soluzione tampone per l'estrazione: 22,8 g di potassio monoidrogenofosfato ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) disciolti in 1000 ml di H_2O . Il pH della soluzione dovrà essere eventualmente corretto con acido fosforico sino a rientrare nell'intervallo $8,0 \pm 0,1$.
- Soluzione di difenilcarbazide: 1,0 g di 1,5-difenilcarbazide viene disciolto in 100 ml di acetone e la soluzione viene acidificata con una goccia di acido acetico glaciale. Questa soluzione deve essere custodita in bottiglia di vetro scuro e conservata al buio alla temperatura di 4°C (stabilità per circa 14 giorni).
- Soluzione di acido fosforico: 700 ml di acido ortofosforico ($d = 1,71 \text{ g/ml}$) vengono diluiti con acqua deionizzata a 1000 ml.
- Soluzione standard di cromo VI (1000 ppm): 2,829 g di potassio dicromato ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), seccato in stufa a 102 °C per 16 ore circa, vengono disciolti in acqua deionizzata e portati al volume di 1000 ml.
- Soluzione standard diluita di cromo VI (1 ppm): si prepara per diluizione della soluzione standard 1000 ppm.

- Gas argon oppure azoto esenti da ossigeno.

Procedimento

Preparazione della soluzione analitica

Pesare 2,000 g di campione, secco all'aria, in beuta da 250 ml; aggiungere 100 ml della soluzione tampone e allontanare tutto l'ossigeno facendo gorgogliare argon (oppure azoto) nella beuta per 5 minuti (flusso 50 ml/min). Si rimuove il tubo di gorgogliamento e si tappa immediatamente con tappo di politene o teflon.

Il cromo VI viene estratto con agitazione per un periodo di $3 \text{ h} \pm 5 \text{ min}$ con agitatore meccanico. Dopo 3 ore di estrazione il pH della soluzione viene controllato; dovrà essere compreso tra 7,5 - 8,0. Se il pH della soluzione non rientra nell'intervallo, la procedura deve essere ripetuta variando a seconda dei casi il peso del campione da estrarre.

Immediatamente dopo il completamento dell'estrazione, il contenuto della beuta viene filtrato attraverso la membrana filtrante in recipiente di vetro con tappo in teflon.

Misura colorimetrica

10 ml della soluzione ottenuta vengono pipettati in matraccio tarato da 50 ml. Il contenuto viene diluito con acqua a circa $\frac{3}{4}$ del volume, addizionato di 1 ml di soluzione di difenilcarbazide e, dopo agitazione, acidificato con 1 ml di acido fosforico e si porta quindi a volume. Dopo accurata agitazione si lascia in riposo per $15 \pm 5 \text{ min}$. Si misura infine l'assorbanza a 540 nm contro un bianco allestito come descritto successivamente. L'assorbanza ottenuta viene indicata come E_1 .

Un'altra aliquota di 10 ml della soluzione viene pipettata in un matraccio da 50 ml e trattata come sopra descritto, ma omettendo l'aggiunta della difenilcarbazide. L'assorbanza di quest'ultima soluzione viene indicata come E_2 .

Preparazione del bianco

Si riempie con acqua per circa $\frac{3}{4}$ un matraccio tarato da 50 ml; si introducono quindi 1 ml di soluzione di difenilcarbazide e 1 ml di acido fosforico portando quindi a volume. Questa soluzione deve essere custodita in luogo fresco e buio.

Curva di taratura

Si prelevano a partire dalla soluzione standard diluita di cromo VI le aliquote necessarie per la curva di calibrazione e precisamente: 0,5/1,0/3,0/5,0/8,0/10,0/15,0/20,0 ml.

Calcolo

$$\text{Cr}^{\text{VI}} \text{ mg/kg} = [(E_1 - E_2) \times V \times D / P] \times F_2$$

dove

Cr^{VI} = Cromo VI solubile nel compost in mg/kg riferito alla sostanza secca.

E_1 = Assorbanza della soluzione campione.

E_2 = Assorbanza della soluzione campione senza difenilcarbazide.

V = Volume della soluzione sottoposta a misura colorimetrica.

D = Fattore di diluizione.

P = Peso del campione.

F_2 = Fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Riferimenti bibliografici

- PALUMBO G. (1995). *Cuoio - Determinazione del contenuto di Cromo VI (IUC 18)*. Cuoio Pelli Materie Concianti, 71 maggio-giugno 1995.

C 12. BORO TOTALE

Generalità

La sostanza organica viene distrutta per incenerimento. La volatilizzazione dei composti del B è impedita dalla presenza di forti quantità di CaO aggiunto prima dell' essiccamento.

Il B viene dosato colorimetricamente.

Apparecchiature

- Colorimetro o spettrofotometro atto a misure nel visibile (410 nm).
- Crogioli di platino (si possono impiegare crogioli di quarzo o di porcellana controllando con prove in bianco che non cedano B).
- Tubi tarati da 10 ml.
- Matracci tarati da 20 ml.

Reagenti

- Acido solforico 2 N circa: 56 ml di acido solforico concentrato ($d = 1,84$) sono portati a 1 litro con acqua deionizzata.
- Ossido di calcio in polvere.
- Soluzione di azometina H: si sciolgono 0,9 g di azometina H e 2 g di acido ascorbico in 100 ml di acqua. La soluzione si può conservare per alcuni giorni in frigorifero.
- Soluzione complessante: sciogliere 250 g di acetato d'ammonio e 125 ml di acido acetico glaciale in 500 di acqua. Aggiungere 6,7 g di EDTA (sale sodico).
- Soluzione standard di B: sciogliere 0,5715 g di acido borico in un matraccio da 1000 ml e portare a volume con acqua deionizzata. La soluzione contiene 100 mg/litro di B.
- Soluzioni diluite: si preparano dalla precedente delle soluzioni contenenti da 0,5 a 5 mg/litro di B.

Procedimento

Si pesano nel crogiolo 1,000 g di campione secco all'aria e 0,1 g di ossido di calcio inumidendo leggermente. Si evapora a secco e si calcina alzando gradualmente la temperatura fino a 600°C che si mantiene per 1 ora.

Si riprende con 10 ml di acido solforico 2 N aggiunto poco alla volta scaldando leggermente e travasando il liquido in un matraccio tarato da 20 ml. Si lava con acqua il residuo portando a volume. Dopo aver agitato

accuratamente si lascia riposare e si prelevano 2 ml di liquido limpido che si introducono in un tubo da 10 ml. Si aggiunge 1 ml di acqua.

La curva di taratura viene tracciata impiegando le soluzioni standard diluite delle quali si prelevano 2 ml in altrettanti tubi da 10 diluendo poi con 1 ml di acido solforico 2 N.

A tutti i tubi si aggiungono 4 ml di complessante e 2 ml di azometina H lasciando poi a riposo per 2 ore. Si porta a volume e si misura allo spettrofotometro a 410 nm usando come "bianco" una prova con 2 ml di acqua, 1 di acido solforico 2 N e tutti i reagenti.

Interferenze

Il complessante EDTA-acetato maschera generalmente l'effetto di Cu, Fe e Al.

Calcolo

$$B \text{ mg / kg} = (A \cdot 20).$$

dove:

A = concentrazione misurata in mg/l.

F2 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre 1986, n. 44.

C 13. FENOLI VOLATILI

Generalità

I fenoli volatili sono separati mediante distillazione in corrente di vapore. Il dosaggio viene eseguito colorimetricamente con 4-amminoantipirina in presenza di ferricianuro. Il colore giallo è estraibile con cloroformio.

Apparecchiature

- Apparecchio per distillazione in corrente di vapore con palloni (o tubi) della capacità di 250 - 300 ml.
- Imbuti separatori da 250 ml.
- Spettrofotometro o colorimetro atto a misure nel visibile (460 nm).

Reagenti

- Cloroformio: è più adatto se esente da alcol.
- 4-amminoantipirina: soluzione acquosa al 2 % . Si conserva al riparo dalla luce in recipienti ben chiusi.
- Solfato di sodio anidro.
- Soluzione standard di fenolo: 1 g di fenolo in 1000 ml di cloroformio.
- Soluzione standard diluita: 5 ml della soluzione precedente diluiti con cloroformio a 500 ml.
- Acido fosforico: soluzione acquosa al 15 % circa.
- Solfato di rame: soluzione acquosa al 10 % di $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.
- Potassio ferricianuro soluzione: sciogliere 2,0 g di $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ in acqua e diluire a 100 ml; se necessario filtrare. La soluzione deve essere conservata in bottiglia di vetro scuro.
- Soluzione di tampone: sciogliere in acqua 34 g di NH_4Cl , 234 ml di NH_3 conc. (d = 0,91), 200 g di potassio - sodio tartrato e diluire a 1 litro.

Procedimento

Si pesano direttamente nel tubo 5,0 g - 10,0 g di campione umido . Si aggiungono, agitando accuratamente, 50 ml di acqua, 1 - 2 ml di H_3PO_4 (fino ad avere un pH 4) e 5 ml di solfato di rame.

Si distilla in corrente di vapore fino ad ottenere un volume di distillato di circa 100 ml. Si porta a pH = 10 con la soluzione tampone e si trasferisce nell'imbuto separatore aggiungendo poi 3 ml di 4-amminoantipirina e 10 ml di ferricianuro. Si agita accuratamente e si lascia a riposo per 3 minuti.

Si estrae con cloroformio utilizzando tre porzioni rispettivamente di 20-15-5 ml e raccogliendo gli estratti in un matraccio da 50 ml. Si porta a volume

con cloroformio e si aggiunge un pizzico di solfato di sodio agitando bene per eliminare le gocce d'acqua che possono essere trascinate dal cloroformio.

Si lascia a riposo per 5 minuti e si misura una porzione con lo spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 460 nm.

La curva di taratura si ottiene impiegando quantità variabili della soluzione diluita che vengono poste in imbuto separatore, diluite a circa 100 ml e trattate come il campione.

Interferenze e limitazioni del metodo

I fenoli sono facilmente ossidabili da parte di vari composti. Anche i riducenti possono interferire , ma la causa più comune di perdita di composti fenolici è dovuta alla presenza di microrganismi che li distruggono. L'analisi va effettuata a non più di 3 - 4 ore dal prelievo.

Calcolo

$$\text{Fenoli (mg/kg)} = \left(\frac{A \cdot 1000}{P} \right) \cdot F1$$

dove:

A = mg/l di fenolo misurati.

P = peso del campione umido.

F1 = fattore per riportare il dato analitico sulla sostanza secca.

Nota

La misura è empirica perchè prende come riferimento il fenolo mentre nel campione vi sono altri fenoli che danno intensità di colore diverse.

Riferimenti bibliografici

- REGIONE PIEMONTE (1986). *Disposizioni tecniche del Regolamento per lo Smaltimento in agricoltura dei fanghi di depurazione*. Bollettino Ufficiale Regione Piemonte, 5 novembre, 1986 n. 44.

C 14. POLICLOROBIFENILI (PCB)

Generalità

I PCB vengono estratti con solventi dalla matrice essiccata a 40°C ed omogeneizzata. L'estratto viene sottoposto a purificazione ed analizzato per via gascromatografica.

Apparecchiature

- Gascromatografo capillare con iniettore split - splitless equipaggiato con colonna capillare con liquido di ripartizione per composti apolari (SE 30, OV1, DB1 o similari) e rivelatore a cattura di elettroni.

Attrezzature e vetreria

- agitatore alternativo.
- centrifuga.
- evaporatore rotante.
- provettoni Sovirel da 100 ml.
- imbuto separatori da 500 ml a forma cilindrica.
- colonne in vetro di diametro 12 mm con setto poroso.
- palloni da 250 ml con collo normalizzato 29/32.

Reagenti

- acetone.
- n-esano.
- acido solforico 1 N: 28 ml di H₂SO₄ concentrato (d= 1,84) sono portati a 1000 ml con acqua deionizzata.
- Florisil 60/80 Mesh.
- Sodio solfato anidro.
- Standard di miscele di Aroclor.

Procedimento

Estrazione

Aliquote di 5,00 - 10,00 g di campione secco all'aria vengono poste in provettone Sovirel, mescolate con 50 ml di acetone, agitate per 15' su agitatore meccanico e centrifugate fino a soddisfacente precipitazione della fase solida (5' a 4000 giri). L'acetone surnatante viene prelevato e posto in

imbuto separatore. Si ripete l'operazione per tre volte unendo le tre fasi acetoniche.

Purificazione

La purificazione consta di due fasi:

Separazione liquido/liquido

L'acetone contenente gli analiti estratti, posto in imbuto separatore, viene addizionato di 300 ml di acqua e di 25 ml di H₂SO₄ 1 N; si provvede ad una separazione liquido/liquido con 50 ml di n-esano per 3 volte.

Le fasi esaniche, riunite in pallone da 250 ml con collo normalizzato 29/32, vengono concentrate su evaporatore rotante al volume di 4 - 5 ml e purificate su colonna.

Passaggio su colonna di Florisil

Il concentrato proveniente dalla fase 1 viene purificato per cromatografia su colonna di Florisil. Si impiegano colonne in vetro con diametro di 12 mm dotate di setto poroso di Gooch riempite con 3 g di Florisil 80/100 Mesh condizionato in stufa a 250° C per 3 ore; una piccola quantità di solfato sodico posto in testa alla colonna ha scopo di eliminare eventuali tracce di acqua. Si eluisce con 40 ml di n-esano e l'eluato, concentrato a volume noto (1, 2 ml) su evaporatore rotante, viene sottoposto all'analisi strumentale.

Analisi strumentale

La determinazione strumentale viene effettuata con gascromatografo capillare sopra descritto.

Condizioni operative

Le seguenti condizioni operative consentono la separazione e l'identificazione delle "impronte" Aroclor dal 1232 al 1262:

- temperatura della colonna: programmata multirampa da 170°C a 280° C.
- carrier: H₂ a 1.5 ml/min.
- iniettore: con splittaggio in rapporto 1 : 80.
- temperatura dell' iniettore: 270° C.
- gas di make up: N₂ a 40 ml/min.
- rivelatore: ECD₆₃Ni a 350°C.
- soglia di rilevazione: 10 pg di decaclorobifenile (DCBF).

Prove di recupero

Le singole fasi analitiche vengono verificate tramite aggiunta di standard noti di miscele Arochlor (1232 - 1260)

Il recupero complessivo, nelle condizioni sopra riportate, è superiore al 95%.

Identificazione

Viene effettuata tramite il confronto dei tempi di ritenzione relativi di alcuni congeneri tipici delle miscele impiegate nelle tarature con quello di uno standard interno (decaclorobifenile).

Quantificazione

Si effettua per somma delle aree dei composti identificati con riferimento ad un fattore di risposta ricavato in modo analogo con la tecnica dello standard esterno. La risposta del rivelatore viene controllata periodicamente con l'introduzione di uno standard.

Riferimenti bibliografici

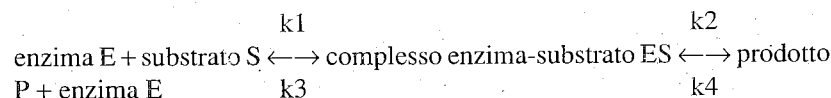
- ARMOUR J.A.(1972). *Gas chromatography data for polychlorinated biphenyl components in six arochors*. J. Chrom., 72, 275 - 282.
- COLIN S.C., ALWIN R.F. (1986). *Background levels of polychlorinated biphenyls in british soils*. Chemosphere, 15, 4, 499 - 508.
- EDULFEE G.M. (1987). *PCB concentrations in soil from central and southern wales*. Chemosphere, 16, 8/9, 1583 - 1598.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1984). *Organochlorine pesticides and PCBs - Method 608*. Fed. Reg., 49, (209), 89 - 104.
- HERNANDEZ F.H. et al. (1987). *Sulfuric acid cleanup and KOH-ethanol treatment for confirmation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: application to waste-water samples*. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 727 - 733.
- MATTSSON P.E., NYGREN S. (1976). *Gas chromatographic determination of polychlorinated biphenyls and some chlorinated pesticides in sewage sludges using a glass capillary column*. J. Chrom., 124, 265 - 275.
- MITCHELL D. ERICKSON (1986). *Analytical chemistry of PCBs*. Butterworth Publishers, New York.

PARAMETRI ENZIMATICI

Gli enzimi sono catalizzatori organici o biocatalizzatori di reazioni biochimiche e sono prodotti dalle cellule dei microrganismi. La loro funzione può essere svolta sia all'interno delle cellule stesse (enzimi intracellulari) sia al di fuori di esse (enzimi extracellulari). Chimicamente sono delle proteine semplici o proteine coniugate con altri gruppi chimici; vengono denominati *coenzimi* i gruppi chimici costituiti da molecole organiche a basso peso molecolare e *cofattori* i gruppi chimici costituiti da metalli. In entrambi i casi la parte proteica viene chiamata apoenzima. Il peso molecolare degli enzimi può variare da 10.000 a 1.000.000.

Gli enzimi vengono classificati in base al tipo di reazione chimica che catalizzano ed identificati mediante due nomi: un nome comune o di lavoro e un nome sistematico; esiste inoltre anche un numero di identificazione.

La maggior parte delle reazioni catalizzate dagli enzimi può essere sintetizzata nella seguente reazione:



o meglio $E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow EZ \leftrightarrow EP \leftrightarrow E + P$

dove E = enzima; P = prodotto; EZ = complesso nello stato di transizione; EP = complesso enzima-prodotto; k_j = costanti di velocità di reazione.

Il meccanismo d'azione degli enzimi si realizza mediante l'attivazione del substrato resa possibile da un'elevata affinità chimica (elettronica) per aree specifiche dell'enzima, chiamate *siti attivi*.

Numerose sono le condizioni che influenzano l'attività dell'enzima: la concentrazione dell'enzima (entro certi limiti esiste una relazione lineare tra la concentrazione e la quantità di attività enzimatica), la concentrazione del substrato (vale la correlazione precedente), il pH (esiste un range di pH, specifico per ogni enzima, nel quale si evidenzia la massima attività enzimatica), la temperatura (generalmente le temperature che favoriscono le più elevate attività sono quelle comprese tra i 30 e 50°C).

L'attività degli enzimi può essere inibita da diversi agenti chimici. Tale inibizione può essere irreversibile, quando vengono modificati o distrutti uno o più gruppi funzionali dell'enzima, o reversibile, a sua volta distinta in competitiva e non competitiva in relazione all'inversione dell'inibizione dovuta all'aumentata concentrazione del substrato.

Gli enzimi possono essere denominati *costitutivi*, se sono prodotti in modo continuativo dalla cellula, oppure *inducibili*, se prodotti in risposta ad un particolare substrato. La misura dell'attività enzimatica richiede la conoscenza di numerosi fattori quali ad esempio la natura della reazione catalizzata, i cofattori ed i coenzimi richiesti, la concentrazione nel substrato dei cofattori o dei coenzimi, il pH e la temperatura ottimale.

La messa a punto delle metodologie enzimatiche ha riguardato in particolare gli enzimi legati alla valutazione della maturità e stabilità dei composti al fine di un loro corretto utilizzo in agricoltura. In particolare sia per il biochimismo dei materiali organici sia per quello dei terreni cui essi vengono addizionati, sono stati considerati tre enzimi: la deidrogenasi, l'ureasi e la fosfatasi.

Procedimento relativo all'analisi delle attività enzimatiche

E 1. DEIDROGENASI

Generalità

La deidrogenasi catalizza le reazioni di ossido-riduzione nelle quali l'ossigeno è l'accettore finale dell'idrogeno, solitamente attraverso trasportatori intermedi. La deidrogenasi è composta da un protide semplice e da un coenzima di attività ossido-riduttiva.

Nell'ossidazione biologica i microrganismi, prevalentemente batteri, compiono la loro opera con l'ausilio di vari enzimi, tra cui le deidrogenasi; queste, catalizzano l'ossidazione dei substrati e dei metaboliti intermedi, mediante il trasferimento di elettroni o di atomi di idrogeno, tramite catene enzimatiche e citocromi, fino all'ossigeno molecolare (IRSA-CNR, 1981). Il significato di tale trasporto consiste nell'abbassamento graduale del potenziale di ossidoriduzione. La combinazione dell'idrogeno con l'ossigeno libera per mole 68.36 kcal.

L'attività deidrogenasica risulta comunemente accettata come indice dell'attività microbiologica e, più in generale, metabolica dei composti organici (LENHARD *et al.* 1964); viene considerata come una misura indiretta della carica microbica, anche in virtù della sua localizzazione intracellulare (SOLDATINI *et al.* 1981).

La degradazione delle sostanze organiche è il risultato delle ossidazioni biologiche che avvengono ad opera dei microrganismi. La misura quantitativa dell'entità di tale ossidazione fornisce quindi in modo indiretto una misura delle capacità degradative della biomassa. La determinazione dell'attività deidrogenasica è una misura che si affianca a quella tradizionale della richiesta di ossigeno e a quella più sofisticata realizzata tramite l'assunzione di carbonio marcato.

Principio

Il metodo consiste nel sostituire l'ossigeno, quale accettore finale dell'idrogeno nella ossidazione biologica, con un altro accettore chimico che riducendosi porta alla formazione di un composto di facile determinazione analitica.

In questo metodo l'ossidazione avviene in presenza di cloruro di trifeniltetrazolio (TTC), che si comporta come accettore di idrogeno e si trasforma in trifenilformazano (TF) un composto colorato in rosso.

La determinazione si effettua aggiungendo un eccesso di substrato (glucosio) ad una aliquota di miscela aerata, in presenza di TTC. Dopo un

adeguato periodo di tempo si misura l'intensità del colore sviluppato che viene paragonata ad una retta di taratura eseguita con solo TF. Tale metodo è stato ampiamente utilizzato nella caratterizzazione dei fanghi attivi e di altri materiali organici da vari autori.

Interferenze

La produzione di TF è influenzata dalla presenza di ossigeno disciolto nel mezzo nel quale si esegue la prova: per eliminare questa interferenza si può procedere alla eliminazione dell'ossigeno mediante aggiunta di sodio solfito e cobalto cloruro.

Campionamento e conservazione

Il campionamento va effettuato con estrema rapidità utilizzando vetreria pulita. Occorre inoltre procedere nel più breve tempo possibile all'esecuzione del test, per evitare che processi biochimici portino a modificazioni della composizione del campione.

Reagenti

- Soluzione tampone: sciogliere 6.06 g di tris (idrossimetil) aminometano in circa 950 ml di acqua distillata, portare a pH 8.4 con acido cloridrico 4 M quindi portare a volume di 1 l avendo cura di ricontrollare il pH.
- Reagente misto TTC-glucosio: sciogliere 0.2 g di TTC e 1.5 g di glucosio anidro in 100 ml di acqua distillata mantenuta al buio a 2°C. la soluzione si conserva inalterata per una settimana.
- Alcool etilico assoluto.
- Trifenilformazano (TF) standard 0.002 M : sciogliere 0.3 g di TF in 500 ml di alcool etilico; 0.5, 1, 1.5, 2 e 3 ml del campione di questa soluzione vengono diluiti in 50 ml di alcool etilico, per avere delle soluzioni finali di 1, 2, 3, 4 e 6 µM TF /50ml.

Apparecchiature

Centrifuga da laboratorio e spettrofotometro o colorimetro adatto per misure di assorbanza a 490 nm.

Procedimento

Pipettare 2.5 ml di tris-buffer in ogni provetta.

Aggiungere 2.5 ml di compost di cui deve essere nota la concentrazione dei solidi sospesi volatili (VS).

Porre in bagno termostatico e portare a 37°C il più rapidamente possibile.

Aggiungere 0.5 ml di acqua distillata ai bianchi e 0.5 ml di reagente TTC-glucosio nelle altre provette.

Lasciare le provette a 37°C esattamente per 15' dopo l'aggiunta del reagente.

Dopo 15' interrompere la reazione aggiungendo 19.5 ml di alcool etilico.

Agitare ogni provetta e centrifugare a 6000 rpm per circa 5'.

Misurare l'assorbanza del supernatante a 490 nm per mezzo di uno spettrofotometro, azzerando con il bianco.

Calcolare le micromoli di TF prodotte, che indicano l'attività deidrogenasica.

Calcolo

Dall'assorbanza del campione si risale alle micromoli di TF prodotte per grammo di solidi sospesi volatili. Detta F la pendenza della retta di taratura, ottenuta dal rapporto tra concentrazione e assorbanza, l'attività deidrogenasica viene data dalla formula:

$$\text{Attività deidrogenasica} = \frac{\text{ABS}}{2.25 \text{ VSS}} \times F \times 1000$$

µM TF g⁻¹ VSS

E 2. UREASI

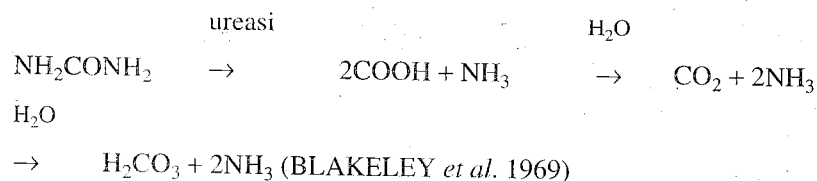
Generalità

L'ureasi catalizza la reazione di idrolisi dell'urea in ammoniaca ed anidride carbonica. Riveste un ruolo importante nel terreno in quanto è l'unico enzima capace di demolire l'urea addizionata come fertilizzante; si presume inoltre che nel terreno sia protetto dai colloidi e dalle sostanze umiche. Entra in gioco nella demolizione delle proteine quale ultimo anello della degradazione.

Pochi studi sono stati effettuati sull'attività di questo enzima nei compost. Emerge comunque una evidente correlazione tra la sua attività e la quantità di materiale fresco e quindi può essere utilizzata come indice per valutare l'andamento della trasformazione della materia organica nel corso del processo (SOLDATINI *et al.* 1981).

Principio

L'ureasi, urea amidoidrolasi (sigla di classificazione enzimatica: E.C.3.5.1.5.), interviene nell'idrolisi del legame C-N non peptidico in amidi lineari. Più semplicemente, catalizza l'idrolisi dell'urea in CO_2 e NH_3 secondo la reazione:



Il metodo consiste nell'aggiunta di substrato e nella determinazione dell'ammoniaca prodotta dopo incubazione termostata a 37°C per 1 ora.

Reagenti

- Soluzione tampone: tris-acido maleico 0,2 M pH 6,7:
 - a) 24,2 g di Tri (idrossimetil) aminometano + 23,2 g di acido maleico vengono sciolti in acqua deionizzata, si porta a volume di 1 l;
 - b) idrossido di sodio 0,2 M (8 g/l).
- Per ottenere un pH di 6,7 si prelevano 50 ml della soluzione a e si aggiungono circa 43 ml della soluzione b portando il tutto a 200 ml.
- Urea 10%: 10 g di urea sono sciolti in circa 70 ml d'acqua deionizzata e portati a 100 ml.
- Solfato d'argento : si pesano 1,446 g di solfato d'argento in 1 l ottenendo una concentrazione di 1000 ppm che aggiunti alla soluzione tamponata forniscono mediamente un valore di circa 100 ppm presenti nel campione.
- Ipoclorito di sodio: utilizzato per la reazione colorimetrica nella determinazione dell'azoto ammoniacale sviluppatosi come prodotto di reazione dell'attività enzimatica. Contiene il 5% di cloro attivo. (2,5 g di NaOH + 4,2 ml di ipoclorito di sodio / 500 ml).
- Fenolo-nitroprussiato di sodio: utilizzato come reattivo colorimetrico nella determinazione dell'azoto ammoniacale. (5g di fenolo + 25 mg di nitroprussiato di sodio / 500 ml d'acqua deionizzata).
- Cloruro di potassio 2 N utilizzato come scambiatore acido per lo ione ammonio. (148 g/l d'acqua deionizzata).
- Toluene: utilizzato per inibire la carica microbica del campione. Viene usato il prodotto tal quale.

Apparecchiature

- Agitatore a scosse in bagno d'acqua termoregolabile a 37°C (agitatore tipo Dubnoff).
- Centrifuga.
- Cuvette da 50 ml per centrifuga.
- Provette da 10 ml con tappo.
- Normale vetreria da laboratorio.

Procedimento

Il metodo utilizzato per la determinazione dell'attività (BONMATI *et al.* 1985) è stato leggermente modificato per quel che concerne il tampone ed il tempo di incubazione.

2 g di campione fresco vengono posti in una cuvetta da 50 ml da centrifuga. Si aggiungono 4 ml di soluzione tampone a pH 6,7, 0,5 ml di toluene e 1 ml di urea al 10%. Si procede all'incubazione del campione nel bagno termostato per 60' alla temperatura di 37°C. Al termine dell'incubazione si blocca la reazione enzimatica con 1 ml di soluzione di solfato d'argento.

Contemporaneamente si procede all'analisi dei bianchi (tanti quanti sono i campioni) variando i tempi di aggiunta dell'urea; nei campioni si aggiunge all'inizio dei 60' mentre nei bianchi alla fine.

Si procede all'estrazione dello ione ammonio con 10 ml di KCl 2 N, agitando per 5' e centrifugando a 3000 rpm per 5'.

Dal surnatante si preleva 1 ml diluendolo in 50 ml d'acqua deionizzata. Da questa si prelevano 0,5-1 ml per la reazione colorimetrica.

Reazione colorimetrica

Il metodo colorimetrico utilizza la reazione del fenolo-ipoclorito con formazione di un indofenolo, che in ambiente alcalino ed in presenza di nitroprussiato sodico, come catalizzatore, assume una colorazione blu la cui intensità è proporzionale alla concentrazione dell'azoto ammoniacale. Il metodo permette di valutare l'azoto ammoniacale sia libero che disciolto (NH_3 e NH_4^+) in concentrazioni superiori a 0,05 ppm. Vi possono essere interferenze dovute a rame, zinco e sali di ferro se presenti in concentrazioni 100 volte superiori a quella dell'ammoniaca.

0,5-1 ml di surnatante sono posti in provette da 10 ml. Si aggiungono 2,5 ml di fenolonitroprussiato, 2,5 ml di ipoclorito e si porta al volume con acqua deionizzata, si lascia sviluppare il colore per 30' al buio ed a temperatura ambiente e si legge allo spettrofotometro a 650 nm.

Calcolo

La differenza fra le letture del campione e del bianco fornisce la misura dell'attività ureasica espressa in micromoli di azoto ammoniacale per grammo di campione secco per ora.

$$\mu\text{M N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1} = \frac{\text{ppm D}}{\text{P PM}} \quad \text{F1}$$

ppm = concentrazione.

D = Fattore di diluizione.

P = Peso.

F1 = Fattore per riportare il dato alla sostanza secca a 105°C.

PM = peso molecolare di NH_3

Nel contempo si prepara la curva di taratura dello strumento, utilizzando un sale d'ammonio come standard. Si preparano standard successivi a concentrazione crescenti.

E 3. FOSFATASI

Generalità

Il nome generico di fosfatasi comprende un ampio gruppo di enzimi che catalizza l'idrolisi di esteri ed anidridi dell'acido fosforico.

All'attività enzimatica è legata la mobilitazione del fosforo della sostanza organica (SOLDATINI *et al.* 1981). Tale attività sembra essere un possibile indice dell'evoluzione della sostanza organica in funzione della presenza di microflora attiva. La determinazione della sua attività viene eseguita utilizzando come substrato di reazione una sostanza non presente naturalmente nel campione e rilevando per via spettrofotometrica il suo prodotto di reazione (EIVAZI, TABATABAI 1977 ; CERVELLI *et al.* 1973; TABATABAI, BREMNER 1969).

Reagenti

- Soluzione tampone 0.2 M pH 6.5:
 - a) 24.2 g di Tri(idrossimetil)aminometano + 23.2 g di acido maleico sono sciolti in acqua deionizzata portando il volume ad 1 l.
 - b) idrossido di sodio 0.2 M (0.8 g/l).

Per ottenere un pH 6.5 si prelevano 50 ml della soluzione a e si aggiungono circa 37 ml della soluzione b portando a 200 ml.

- NaOH 1 N (40 g/l).
- CaCl_2 1M.
- p-nitrofenolfosfato sale disodico 0.115 M (0.8536 g/20 ml) da conservare al buio.
- p-nitrofenolo, soluzioni standard.
- Toluene reagente puro.

Apparecchiature

- Agitatore alternativo in bagno d'acqua termoregolabile a 37°C (agitatore tipo Dubnoff).
- Centrifuga.
- Cuvette da 50 ml per centrifuga.
- Provette da 10 ml con tappo.
- Normale vetreria da laboratorio.

Procedimento

1,000 g di campione fresco viene posto in una cuvetta da 50 ml da centrifuga. Si aggiungono 3 ml di soluzione tampone, 0.5 ml di toluene e 1 ml di p-nitrofenolfosfato. Si procede all'incubazione del campione nel bagno termostato per 60' alla temperatura di 37°C. Al termine dell'incubazione si blocca la reazione con 4 ml di soda 1 N e 1 ml di CaCl_2 1 M si centrifuga e si preleva un'aliquota del filtrato portando a volume noto adatto per la lettura strumentale.

Contemporaneamente si procede all'analisi dei bianchi (tanti quanti sono i campioni) variando i tempi di aggiunta del substrato; in questi il substrato viene aggiunto al termine dei 60'.

Determinazione colorimetrica

Curva di taratura: si costruiscono due curve di taratura di cui una senza campione e l'altra in presenza di campione per valutare l'adsorbimento del p-nitrofenolo prodotto.

Le curve vengono costruite in un range compreso fra 0 e 50 ug di p-nitrofenolo.

Il metodo sfrutta la colorazione gialla del p-nitrofenolo in ambiente basico (aggiunta di soda); l'aggiunta del CaCl_2 è dovuta alla necessità di

evitare la dispersione della frazione minerale e la solubilizzazione della frazione organica che potrebbero influire sulla reazione colorimetrica.

La lettura viene eseguita a 398 nm. L'attività viene espressa in μM di PNF che si sviluppa da 1 g di campione in 1 ora d'incubazione

$$\mu\text{M PNFg}^{-1} \text{ h}^{-1} = \frac{\text{ppm D}}{\text{P PM(PNF)}} \quad \text{F1}$$

ppm = concentrazione

D = fattore di diluizione

P = peso del campione secco

PM(PNF) = peso molecolare del p-nitrofenolo

F1 = fattore per riportare il dato sul secco a 105°C.

Riferimenti bibliografici

- BREMNER J.M., MULVANEY R.L. (1978). *Urease activity in Soils*. Soil Enzymes, 5: 149-187.
- BURNS R.G., PUKITE A.H., MC LAREN A.D. (1972). *Concerning the location and persistence of soil urease*. 36: 305-311.
- CERVELLI S., NANNIPIERI P., CECCANTI B., SEQUI P. (1973). *Michaelis constant of soil acid phosphatase*. Soil Biology and Biochemistry, Vol.V, 841-845.
- DIXON N.E., GAZZOLA C., BLAKELEY R.L., ZERNER B. (1975). *Jack bean urease (EC 3.5.1.5.). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel*. F. Am. Chem. Soc. 97: 4131-4133
- EIVAZI F., TABATABAI M.A. (1977). *Phosphatases in soils*. Soil Biology and Biochemistry. Vol.9, 167-172
- GORIN G., CHIN C.C. (1965). *Urease. IV. Its reaction with N-ethylmaleimide and with silver ion*. Biochim. Biophys. Acta, 99: 418-426.
- SOLDATINI G.F., RIFFALDI R., LEVI-MINZI R., ANGUILLES L. (1981). *Attività deidrogenasica, fosfatase ed ureasica in fanghi di depurazione*. Agrochimica, Vol.XXV, 2: 183-190.
- TABATABAI M.A., BREMNER J.M. (1969). *Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity*. Soil Biology and Biochemistry, Vol.1: 301-307.
- TABATABAI M.A., BREMNER J.M. (1970). *Assay of urease activity in soils*. Soil Biology and Biochemistry. n.4: 479-487.

PARAMETRI BIOLOGICI

Per la valutazione della qualità dei rifiuti, o dei prodotti derivanti dalla loro trasformazione, sono state riportate, nel capitolo C, le metodologie più idonee per l'ottenimento di un materiale rappresentativo da portare all'analisi e le determinazioni più significative per la sua valutazione analitica.

In realtà, però, l'analisi chimica, pur contenendo un bagaglio informativo fondamentale per la conoscenza delle singole sostanze che compongono il materiale in esame, non è sufficiente da sola per valutarne la stabilità e la maturità.

E' ampiamente noto infatti che la stabilità di un materiale organico risulta strettamente dipendente dalla mineralizzazione delle sostanze organiche in esso contenute e dalla sintesi di composti umici e che entrambe le fasi avvengono per via microbiologica.

I parametri biologici risultano, pertanto, di importanza rilevante poiché danno indicazioni dirette delle attività biologiche, reali o potenziali, dei materiali e forniscono un giudizio complessivo sulla loro stabilità e maturità.

Di seguito vengono riportate alcune metodologie biologiche, messe a punto dall'IPLA, nell'ambito della sperimentazione sull'utilizzo agricolo dei compost derivanti da rifiuti organici.

Per il campionamento si fa riferimento al capitolo C1. Il campione composito, ottenuto dalla miscela dei diversi sottocampioni, deve risultare pari a 3-5 kg e deve essere conservato in frigorifero a +4°C sino al momento delle determinazioni analitiche da effettuare nel minor tempo possibile.

B1. IL SAGGIO DI FITOTOSSICITÀ

L'utilizzo in agricoltura di materiali organici insufficientemente stabilizzati rischia di influenzare negativamente lo sviluppo delle colture, in quanto la presenza di sostanza organica fresca causa sovente una riduzione nella crescita. Questo fenomeno può essere attribuito a diversi fattori:

- sostanze fitotossiche presenti nei materiali di partenza ed insufficientemente degradate quali tannini, acidi grassi, fenoli ...
- un elevato rapporto carbonio/azoto che comporta una competizione per l'azoto tra i microrganismi del suolo e le radici, denominata "fame di azoto" delle colture;
- anossia per le radici dovuta ad un notevole consumo di ossigeno da parte dei microrganismi metabolizzatori della sostanza organica;
- tossicità metabolica.

A questo proposito occorre ricordare che nelle prime fasi della decomposizione della sostanza organica, in corrispondenza dell'intensa moltiplicazione microbica, vengono prodotti metaboliti che possono risultare tossici per le piante. Queste sostanze, che vengono denominate con il termine generale di "fitotossine", si accumulano nella prima fase della biossidazione e sono progressivamente metabolizzate dai microrganismi nel corso della evoluzione dei materiali sottoposti a compostaggio. In seguito, la presenza di fitotossine si riscontra principalmente in corrispondenza del rinnovo delle popolazioni microbiche e diminuisce parallelamente alla diminuzione dell'intensità della degradazione della sostanza organica (Zucconi).

Sotto il profilo analitico, poichè la fitotossicità può essere dovuta ad un insieme di fattori la cui determinazione chimica risulta complessa, impegnativa e non sempre esaustiva, sono stati presi in considerazione test biologici in grado di valutare la fitotossicità in senso complessivo.

La metodologia messa a punto si compone di due prove: la prima valuta la germinazione e la seconda l'accrescimento di una pianta test (*Lepidium sativum*).

B1.1 SAGGIO DI FITOTOSSICITÀ: TEST DI GERMINAZIONE

Principio

Preparazione dell'estratto acquoso del campione. Valutazione della germinazione dei semi di una pianta test (*Lepidium sativum*).

Materiali

- Capsule Petri ø 90 mm.
- Carta da filtro extrarapida ø 80 mm.
- Membrane sterilizzanti (con pori di 0,8 µm di diametro).
- Semi di *Lepidium sativum*.
- Apparato per filtrazione sotto pressione.

Procedimento

Il campione (200 g) viene portato a tenore di umidità dell'85% e lasciato in contatto per due ore con l'acqua aggiunta; l'estratto acquoso viene ottenuto per centrifugazione a 6000 rpm, per 15', e per filtrazione sotto pressione a 3,5 atm con membrana sterilizzante. L'estratto acquoso viene diluito con acqua distillata fino ad ottenere una concentrazione dell'estratto pari al 75% ed al 50%. Dalle due concentrazioni vengono prelevati rispettivamente 5 ml e posti in 5 capsule Petri contenenti carta bibula in ragione di 1 ml per capsula. Il testimone è costituito da 5 capsule Petri, contenenti carta bibula, ad ognuna delle quali viene aggiunto 1 ml di acqua distillata.

In ogni capsula vengono disposti 10 semi di *Lepidium* fatti precedentemente rigonfiare in acqua distillata per 1 h.

Le capsule vengono messe ad incubare in termostato per 24 ore a 27 °C.

Al termine della incubazione la germinazione viene interrotta mediante aggiunta di alcool etilico (0,5 ml per piastra).

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine delle 24 ore si contano i semi germinati e si misura la lunghezza radicale.

Per le due concentrazioni considerate si calcola l'indice di germinazione mediante la seguente formula:

$$I_g (50 \text{ o } 75\%) \% = \frac{G_c \cdot L_c}{G_t \cdot L_t} \cdot 100$$

G_c = n° medio semi germinati - campione

G_t = n° medio semi germinati - testimone

L_c = lunghezza radicale media - campione

L_t = lunghezza radicale media - testimone

e si effettua la media aritmetica tra i valori ottenuti alle concentrazioni di 50% e di 75%

$$I_g \% = \frac{I_{g50\%} + I_{g75\%}}{2}$$

Riferimenti bibliografici

- NAPPI P. e M. CONSIGLIO (1986). *Saggi di fitotossicità: risultati delle ricerche per l'elaborazione di una metodologia*. Atti del Simposio "Fanghi di depurazione in agricoltura". Torino, 19-20 novembre 1986.
- NAPPI P., E. VICENZINO e R. BARBERIS (1990). *Criteri per la valutazione della qualità dei composti*. Acqua Aria, 3, 261-268.
- ZUCCONIF. (1983). *Processi di biostabilizzazione della sostanza organica durante il compostaggio*. Atti del Simposio "Recupero biologico ed utilizzazione agricola dei rifiuti urbani". Napoli, 11-14 ottobre 1983, 379-406.

B1.2 SAGGIO DI FITOTOSSICITÀ: TEST DI ACCRESCIMENTO

Principio

Valutazione dell'accrescimento di una pianta test (*Lepidium sativum*) sul campione in esame miscelato ad un substrato di base costituito da sabbia e torba.

Materiali

- Contenitori tondi da 2 litri.
- Torba bionda basicata a pH 6,5 con calce idrata.
- Sabbia silicea.
- Argilla espansa.
- Perlite.
- Semi di *Lepidium sativum*.

Procedimento

Si prepara un substrato di base miscelando sabbia silicea e torba bionda in rapporto 1:1 in volume. Al substrato di base viene aggiunto il campione, senza ulteriore disidratazione, in due dosi: 75 e 150 grammi di sostanza secca/litro di substrato; per ogni dose vengono effettuate tre ripetizioni.

Le diverse miscele così ottenute vengono poste in vasi da 2 litri contenenti sul fondo uno strato (1 cm) di argilla espansa in modo da garantire il drenaggio.

Inoltre, per assicurare la germinazione dei semi, in modo da rilevare la tossicità solo sullo sviluppo vegetativo, si copre la miscela con uno strato di 1 cm di sabbia.

Viene quindi effettuata una semina utilizzando un numero di semi/vaso tale da garantire la germinazione di almeno 100 semi. I semi vengono poi ricoperti con uno strato di perlite di circa 1 centimetro.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine dello sviluppo vegetativo (21 giorni) le piantine vengono tagliate al colletto per determinare la produzione. I dati della produzione, calcolati sul peso secco, vengono espressi come produzione media delle tre ripetizioni, riferita al testimone (costituito da sabbia e torba 1:1 in volume) non concimato considerato uguale a 100. Si ottiene così l'indice di accrescimento calcolando il G_m alle dosi di 75 e di 150 g/l con la seguente formula:

$$G_m(75 \text{ o } 150 \text{ g/l}) \% = \frac{G_c}{G_t} \cdot 100$$

G_c = produzione media del campione

G_t = produzione media del testimone

ed effettuando la media tra i valori di G_m ottenuti alle dosi di 75 e 150 g/l

$$G_m\% = \frac{G_m75g/l + G_m150g/l}{2}$$

Riferimenti bibliografici

- NAPPI P. e M. CONSIGLIO (1986). *Saggi di fitotossicità: risultati delle ricerche per l'elaborazione di una metodologia*. Atti del Simposio "Fanghi di depurazione in agricoltura". Torino, 19-20 novembre 1986.
- NAPPI P., E. VICENZINO e R. BARBERIS (1990). *Criteri per la valutazione della qualità dei compost*. Acqua Aria, 3, 261-268.

B2. SAGGIO DI RESPIRAZIONE

Tra i parametri biologici, la misura dell'attività respiratoria di un compost è senz'altro un parametro importante per la valutazione della stabilità; in quanto i microrganismi aerobi, nell'utilizzare quale fonte di energia e di nutrimento le sostanze organiche del substrato, consumano ossigeno ed emettono anidride carbonica.

Il metabolismo è più intenso nel caso in cui i composti organici risultino facilmente biodegradabili, mentre è più lento in presenza di sostanze organiche a più elevata complessità molecolare e strutturale, quali le sostanze umiche presenti nel compost maturo.

Pertanto la misura della biodegradabilità delle sostanze organiche presenti nel materiale è un indice del grado di evoluzione del prodotto ovvero della sua stabilità.

Il saggio respirometrico valuta la stabilità della sostanza organica mediante la determinazione della sua frazione più facilmente degradabile; rispetto ad altri metodi il presente permette di calcolare la velocità delle trasformazioni determinabile solo attraverso un controllo continuo del consumo di ossigeno che consente di valutare il periodo di massima velocità di degradazione.

In tal modo il saggio consente di esprimere un giudizio non solo sulla quantità di sostanza organica più facilmente degradabile ma anche sulla capacità biologica del materiale in esame intesa come presenza ed attività dei microrganismi.

Il metodo di seguito riportato, messo a punto dall'IPLA sulla base del metodo Nicolardot, consiste nel determinare la velocità del consumo dell'ossigeno da parte di un materiale posto in un contenitore sigillato.

Apparecchiature e reagenti

- Contenitore a chiusura ermetica dotato di trasduttore di depressione.
- Strumento per la misura della depressione dovuta al consumo di ossigeno e per il calcolo automatico del massimo consumo nell'unità di tempo; dotato inoltre di sensore di temperatura per la compensazione delle variazioni della temperatura ambiente ai fini del calcolo automatico.
- NaOH 2N.

Procedimento

Uniformare il contenuto di umidità portandolo ad un valore pari all'80% dell'umidità del campione (in % sul tal quale) alla massima capacità di ritenzione idrica (vedi cap. F4) e determinare quindi tale umidità (U_r).

1 kg di campione all'80% della massima capacità di ritenzione idrica è posto in un recipiente graduato della capacità di 5 litri. In un altro recipiente da 500 ml si introducono 250 ml di soda 2N ed entrambi vengono posti all'interno di un sistema chiuso di 22 litri.

Possono essere utilizzati contenitori di volume più piccolo riducendo in proporzione le quantità del campione in esame e di soda. Si consiglia di non utilizzare contenitori di volume tale che portino ad usare campioni non significativi (al di sotto di 1/2 kg).

La CO₂ prodotta dalla respirazione microbica viene assorbita dalla soda per cui nell'interno del sistema chiuso si crea una depressione rilevata da un trasduttore e misurata dallo strumento collegato al sistema chiuso.

Prima dell'inizio della misura, il campione deve rimanere nel contenitore aperto finché non si abbia la certezza di un'avvenuta compensazione termica tra il campione ed il mezzo circostante.

La prova viene condotta ad una temperatura di circa 20°C per un periodo di incubazione del campione mediamente di 3 giorni. Poiché è possibile calcolare la velocità del consumo di O₂, il saggio può avere una durata maggiore o minore a seconda del grado di stabilità. E' preferibile impostare le acquisizioni delle misure ad intervalli di tempo di 1 ora al fine di rilevare più correttamente repentine variazioni della depressione.

Lettura ed espressione dei risultati

Il consumo di ossigeno viene calcolato mediante la seguente formula:

$$Q = V \cdot \frac{DPM}{76} \cdot \frac{32}{24,04} \cdot \frac{1000}{VSg} \cdot \frac{1000}{t}$$

Dove

Q = mg di O₂/kg di VS/h espressi sul secco.

V(litri) = V_{contenitore} - (V_{compost} + V_{NaOH}).

DPM = depressione che si rileva alla massima pendenza della curva DPM/t (cm).

$$VSg = VS \cdot \frac{100 - Ur}{100} \cdot \frac{P}{100}$$

dove: VSg (g) = solidi volatili del campione in grammi sul secco a 105°C.

VS (%) = solidi volatili sul secco a 105° C.

Ur (%) = umidità del campione all'80% della massima capacità di ritenzione idrica.

P (g) = peso in grammi del campione utilizzato.

t = intervallo di tempo tra la fine della fase di latenza e la depressione massima ottenuta (in ore). L'intervallo di tempo minimo considerato deve essere di sei ore.

24,04 = Volume (in litri) di una mole di O₂ a 20° C ed a 76 cm di Hg.

32 = peso di una mole di O₂ (in grammi).

Riferimenti bibliografici

- NAPPI P., E. VICENZINO e R. BARBERIS (1990). *Criteri per la valutazione della qualità dei compost*. Acqua Aria, 3, 261-268.
- NICOLARDOT B., J.C. GERMON, R. CHAUSSOD and R. CATROUX (1982). *Une technique simple pour déterminer la maturité des composts urbains*. Compost Information, 10, 2° semestre.

B3. SAGGIO DI MINERALIZZAZIONE DELL'AZOTO

L'azoto contenuto nei compost e nei materiali organici si trova sotto forma organica (aminoacidi, proteine, enzimi,...) e minerale (nitriti, nitrati, ammonio); le varie forme di azoto sono in equilibrio dinamico tra di loro; ciò sta a significare che, nei materiali in condizione di stabilità, un'aliquota di azoto legato alla sostanza organica viene mineralizzata e resa disponibile per l'assorbimento; contemporaneamente, anche se in misura minore, una parte di azoto minerale viene riorganizzata in azoto organico.

Il saggio di mineralizzazione dell'azoto valuta la stabilità dei materiali organici in funzione dell'equilibrio esistente tra l'azoto organico e quello minerale durante un periodo di incubazione in condizioni di aerobiosi. Se i materiali risultano sufficientemente stabili le diverse forme di azoto rimangono in equilibrio tra di loro e non si riscontrano variazioni rilevanti durante il periodo di incubazione.

Alcuni studi hanno dimostrato che un materiale sottoposto ad un processo di compostaggio, nei primi stadi di trasformazione, presenta un alto tasso di mineralizzazione, evidenziando pertanto un alto quantitativo di sostanze azotate facilmente biodegradabili. Nel corso del compostaggio, il tasso di mineralizzazione diminuisce notevolmente, per cui il saggio di mineralizzazione dell'azoto organico può essere considerato un parametro efficace per la valutazione delle sostanze azotate facilmente biodegradabili, e quindi correlato negativamente alla stabilità.

Materiali

- beute da 250 ml con tappo di cotone
- sabbia di quarzo
- KCl 2N
- MgO
- Leva di Devarda: Cu 50%, Al 45%, Zn 5%
- H₂SO₄ N/140 e N/28
- catalizzatore per azoto
- acido fosforico

Procedimento

In beute da 250 ml si introducono circa 10 g di campione fresco e 10 g di sabbia silicea lavata ed asciugata; con una spatola si miscela il tutto. La sabbia serve ad assicurare una sufficiente penetrazione dell'aria all'interno del materiale prevenendo l'instaurarsi di processi anossici.

Le beute vengono chiuse con tappi di cotone, pesate e poste in termostato a 30°C; ogni 3-4 giorni si controlla, per via ponderale, che al loro interno vi sia una umidità complessiva corrispondente ad un'umidità del 60% riferita al solo campione, ed eventualmente si reintegra l'acqua evaporata.

L'incubazione dura 10 giorni.

All'inizio dell'incubazione (T₀) vengono determinati l'azoto totale e l'azoto minerale contenuti nel materiale:

- Azoto totale: digestione riducente a caldo di 1-2 g di campione fresco con 15 ml di acido fosforico e miscela di catalizzatori (selenio, solfato di rame e di potassio); distillazione dell'ammoniaca dopo basificazione con NaOH, titolazione volumetrica con H₂SO₄N/28;
- Azoto minerale: dissoluzione di 4-5 g di campione fresco in 30 ml di KCl 2N, agitazione meccanica per 60', riduzione di nitriti a nitrati con 0,15 g di lega di Devarda, distillazione dell'ammoniaca dopo basificazione con 0,2 g di MgO, titolazione volumetrica con H₂SO₄N/140.

Alla fine dell'incubazione (T₁) si determina, con la metodica precedente, l'azoto minerale, dopo aver trasferito il campione dalle beute ai provettoni da distillazione.

Espressione dei risultati

L'indice di mineralizzazione dell'azoto (IMA) viene calcolato, in valore assoluto, mediante la seguente formula:

$$\text{IMA (\%)} = \frac{N_{\text{min}}(T_1) - N_{\text{min}}(T_0)}{N_{\text{tot}}(T_0)} \cdot 100$$

Riferimenti bibliografici

- NAPPI P., E. VICENZINO e R. BARBERIS. (1990). *Criteri per la valutazione della qualità dei compost*. Acqua Aria, 3, 261-268.

B4. SEMI INFESTANTI

La valutazione dei semi infestanti viene effettuata attraverso l'impiego dei saggi biochimici di germinazione, in cui la vitalità del seme viene evidenziata dall'uso di determinate sostanze che, agendo su cellule viventi, cioè in grado di svolgere un regolare metabolismo, danno luogo a particolari reazioni.

In tal modo è possibile valutare la germinabilità dei semi stessi senza attendere che essi manifestino le modificazioni morfologiche conseguenti alla fase di attivazione biochimica della germinazione. E' intuitiva la validità di tale principio specialmente nello studio della facoltà germinativa dei semi di piante il cui tempo di germinazione sia molto lungo.

Le sostanze usate nei saggi biochimici sono numerose e ognuna si basa su di una particolare reazione; ad esempio i coloranti anilini, il dinitrobenzene ed i sali di selenio e di tellurio.

Ma il metodo che ha dimostrato la maggior validità è quello che prevede l'uso dei sali di tetrazolo (bromuro e cloruro di 2, 3, 5 - trifenil tetrazolo).

Circa il meccanismo biochimico dei suddetti sali, la colorazione rossa avviene soltanto dopo la riduzione del sale di tetrazolo a trifenilformazano ad opera di enzimi deidrogenanti che prendono l'idrogeno del substrato combinandolo con l'ossigeno. Il tetrazolo agisce nell'ultima fase, sostituendosi all'ossigeno e dando luogo al formazano il quale ha una tipica colorazione rossa. Solo cellule in grado di metabolizzare e quindi di respirare assumono pertanto la suddetta colorazione.

Apparecchiature e reagenti

- Setacci con maglie di diversa luce sovrapposti in relazione alla misura dei semi più piccoli.

- Soluzione acquosa di 2, 3, 5 trifenil tetrazolo cloruro a pH 6,5 - 7,5.

Può essere necessario tamponare la soluzione per ottenere un corretto intervallo di pH. La soluzione tampone è ottenuta nel seguente modo: si preparano due soluzioni

Soluzione 1 - sciogliere 9,078 g di KH_2PO_4 in 1000 ml di acqua

Soluzione 2 - sciogliere 9,472 g di Na_2HPO_4 in 1000 ml di acqua.

Si mescolano 2 parti della soluzione 1 con 3 parti della soluzione 2.

Nella soluzione finale si scioglie il quantitativo necessario del sale di tetrazolo per ottenere la concentrazione richiesta (0,5 - 1%).

Procedimento

50g di compost vengono immersi in acqua per qualche minuto per disciogliere agevolmente gli aggregati. Successivamente il campione viene sottoposto a lavaggio in acqua corrente utilizzando i setacci metallici.

Al termine del lavaggio, sul residuo trattenuto da ciascun setaccio, asciugato in corrente di aria, si effettua manualmente la separazione dei semi con l'ausilio di una lente di ingrandimento.

Si immergono i semi in acqua e si lasciano fino a che siano completamente imbibiti; generalmente per un periodo di 18-22 ore a temperatura ambiente (20°C) in assenza di luce. Per i semi di alcune specie particolarmente fragili, che tendono a frantumarsi se immersi direttamente in acqua, è possibile effettuare l'imbibizione ponendo i semi su di un foglio di carta da filtro oppure tra due fogli. Si immergono i semi nella soluzione di tetrazolo precedentemente preparata allo 0,5 o all'1%, a 30°C, al buio, (perchè la luce potrebbe portare ad una riduzione del sale di tetrazolo), per un periodo di tempo che varia dal tipo di seme (da 4h a 24h).

Si valuta la colorazione mediante l'impiego del binoculare, dopo aver lavato con acqua distillata i semi trattati con soluzione di tetrazolo.

Si considerano vitali quei semi che presentano una colorazione rossa sulla totalità o su di una parte della superficie.

Note

Durante l'imbibizione, alcuni semi producono una mucillagine vischiosa che ostacola la successiva preparazione. La mucillagine deve essere ridotta asciugando la superficie del seme oppure strofinando i semi con un tessuto o con un foglio di carta.

Per alcuni semi duri, caratteristici delle leguminose e dei semi dormienti frequenti nei cereali, è necessario, prima della colorazione, mettere allo scoperto i tessuti interni al fine di consentire una migliore penetrazione della soluzione di tetrazolo e facilitare pertanto la colorazione e la valutazione della vitalità.

Per questi semi, la cui presenza è evidenziata dal loro mancato rigonfiamento dopo che sono stati posti a contatto con l'acqua, la valutazione può agevolmente effettuarsi attraverso la asportazione di parte del tegumento seminale in corrispondenza della radichetta per far sì che la soluzione di tetrazolo venga a contatto con i tessuti vitali.

I semi più piccoli, difficili da maneggiare, dopo essere stati inumiditi possono essere riposti su di una striscia di carta piegata o arrotolata ed immersi nella soluzione di tetrazolo.

Riferimenti bibliografici

- ANON. (1985) *International rules for seed testing*. Seed science and technology - 13, 2, 464-483.

- MACCHIA, M., (1981) - *Validità per alcune specie erbacee, del metodo analitico della germinabilità del seme con i sali di tetrazolo* - Sementi elette, 27, 5.

PARAMETRI MICROBIOLOGICI

M 1. PRELIEVO, TRASPORTO, CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I risultati dell'analisi microbiologica sono profondamente influenzati dalle modalità di prelievo, trasporto, conservazione e preparazione del campione.

Agli effetti dell'attendibilità dei dati ottenuti è importante che si rispettino le seguenti condizioni fondamentali relative al prelievo del campione:

- il campione deve risultare rappresentativo dell'intera massa di materiale;
- il campione da sottoporre ad analisi deve risultare omogeneo;
- nel corso delle differenti operazioni, devono essere rispettate rigorose condizioni di asepsi.

La rappresentatività del campione è assicurata effettuando diversi prelievi (vedi capitolo C1)

Il campione definitivo viene introdotto in un recipiente sterilizzato a chiusura ermetica.

Per la valutazione dei microrganismi aerobi ed anaerobi facoltativi i recipienti non dovranno essere riempiti completamente per consentire un'adeguata omogeneizzazione del campione prima dell'esame. Per la valutazione invece dei microrganismi anaerobi i recipienti, con chiusura a perfetta tenuta, dovranno essere riempiti completamente per ridurre al minimo il contatto con l'O₂ atmosferico.

Durante il prelievo dovranno essere rispettate rigorose condizioni di asepsi al fine di evitare inquinamenti; a tale scopo è indispensabile utilizzare strumenti e recipienti sicuramente sterili.

L'analisi microbiologica deve essere effettuata nel minor tempo possibile; in linea generale i campioni non devono essere conservati per più di 24h. Durante il trasporto e la conservazione i campioni devono essere mantenuti ad una temperatura compresa tra 0 e + 4 °C.

Nel caso in cui il campione risulti costituito da particelle di dimensioni superiori a 2 mm, si rende indispensabile l'operazione di omogeneizzazione.

Allo scopo si utilizza un mulino in grado di macinare piccole quantità di materiale (in presenza di campioni aventi un elevato tenore di umidità, non deve essere inserito alcun tipo di griglia).

Tutte le superfici del mulino che vengono a contatto con il campione devono essere preventivamente sterilizzate.

M 2. DILUIZIONE DEL CAMPIONE

La diluizione del campione è condotta in maniera diversa a seconda che si vogliano effettuare determinazioni di microrganismi aerobi o anaerobi: per questi ultimi è opportuno rispettare condizioni di anaerobiosi.

L'operazione è comunque effettuata secondo la tecnica delle diluizioni successive in base 10 ed il livello di diluizione è funzione del presunto carico microbico del campione.

M 2.1 PER DETERMINAZIONI DI BATTERI ETERTROFI AEROBI

La prima diluizione (10^{-1}) viene effettuata in soluzione di pirofosfato di sodio 0,1% per disperdere i colloidi organici ed inorganici presenti nel campione; le restanti diluizioni sono effettuate in soluzione fisiologica.

Materiali

- Beuta da 250 ml contenente un'ancoretta magnetica
- Tubi da batteriologia
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Soluzione disperdente: pirofosfato di sodio 0,1 % in acqua - $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$
- Soluzione fisiologica: cloruro di sodio 0,9 % in acqua - NaCl

Procedimento

Si introducono 10 g di campione nella beuta da 250 ml contenente 90 ml di soluzione disperdente, precedentemente sterilizzata in autoclave a 121°C per 15'; si agita con agitatore magnetico. A partire da questa sospensione, che costituisce la diluizione 10^{-1} , si effettuano le successive diluizioni trasferendo 1 ml delle sospensioni progressivamente ottenute nei tubi contenenti 9 ml di soluzione fisiologica, sterilizzati a 121°C per 15 minuti.

M 2.2 PER DETERMINAZIONI DI BATTERI ETERTROFI ANAEROBI

Si segue lo stesso procedimento indicato in M 2.1, sostituendo la soluzione disperdente e la soluzione fisiologica con:

Soluzione riducente di Aranki

Tryptone - Soya Broth (in polvere)	g	30,0
Carbonato di sodio - Na_2CO_3	g	0,42
Cisteina cloridrato	g	0,5
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Sterilizzare a 115°C per 20 minuti.

M 2.3 INOCULO DI CAMPIONI CONTENENTI UN BASSO NUMERO DI MICRORGANISMI

Nel caso in cui si presuma di riscontrare un basso numero di microrganismi, che possono sfuggire al conteggio con la tecnica delle diluizioni in base 10, si rende necessario seguire una diversa metodologia al fine di prelevare ed inoculare una quantità più elevata di campione.

Materiali

- 1 beuta da 1000 ml
- 5 beute da 300 ml
- 5 tubi di batteriologia
- Substrato colturale relativo alla determinazione microbica che si intende effettuare

Procedimento

Il substrato colturale relativo alla determinazione da effettuare viene ripartito nel seguente modo: 500 ml nella beuta da 1000, 100 ml in ciascuna delle 5 beute da 300 ml e 10 ml in ognuno dei 5 tubi da batteriologia.

Tutte le beute ed i tubi vengono sterilizzati in autoclave a 121°C per 15'; successivamente vengono posti in termostato e mantenuti alla temperatura prescelta per la determinazione analitica.

Si introducono nella beuta da 1000 ml 50 g di campione, in ogni beuta da 300 ml 10 g di campione ed in ogni tubo da batteriologia se ne introduce 1 g. Tutte le operazioni devono essere effettuate in rigorose condizioni di asepsi.

Le beute ed i tubi inoculati vengono messi ad incubare alla temperatura prescelta e per il tempo necessario alla determinazione analitica.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine del periodo di incubazione si registra il numero di beute e di tubi positivi, eventualmente effettuando le opportune prove di conferma. Il numero più probabile (MPN) di microrganismi presenti in 100 g di campione è ricavato dalla tabella statistica di McCrady (vedi capitolo M 15).

M 3. BATTERI ETEROTROFI AEROBI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina di un'aliquota delle varie diluizioni in substrato colturale agarizzato.
- Incubazione a differenti temperature per la determinazione della microflora mesofila e della microflora termofila.
- Conteggio delle colonie.

Materiali

- Piastre Petri in plastica sterili
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Substrato colturale: *Plate Count Agar (PCA)*

Triptone	g	5,0
Estratto di lievito	g	2,5
Glucosio	g	1,0
Agar	g	15,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Sterilizzare a 121 °C per 15 minuti.

Procedimento

Si inoculano per diffusione le piastre predisposte (3 per ciascuna diluizione) con 1 ml delle diluizioni del campione in esame, preparate secondo la metodologia descritta in M 2.

Il substrato colturale sterile, precedentemente sciolto e mantenuto a circa 45 °C, viene distribuito nelle piastre secondo la metodologia descritta in M 14.

Le piastre vengono poste ad incubare per 5 giorni a 28°C (microflora mesofila) oppure a 48°C (microflora termofila).

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine del periodo di incubazione, si conta il numero di colonie secondo le modalità previste in M 14 e si esprimono i risultati ottenuti come ufc/g.

M 4. BATTERI ETEROTROFI ANAEROBI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina del terreno colturale (liquido o agarizzato) con un'aliquota delle varie diluizioni.
- Ricerca della diluizione limite che determina lo sviluppo microbico nel terreno colturale (liquido) o conteggio delle colonie (su terreno agarizzato).

Materiali

- Tubi da batteriologia oppure piastre Petri in plastica sterili
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Substrato colturale liquido: *Fluid Thioglycolate medium*

Estratto di lievito	g	5,0
Triptone	g	15,0
Destrosio	g	5,5
Sodio tioglicolato	g	0,5
Sodio cloruro - NaCl	g	2,5
L - cistina	g	0,5
Resazurina	g	0,001
Agar	g	0,5
Acqua	q. b. a ml	1000

Distribuire nei tubi circa 7 ml di substrato e sterilizzare a 121 °C per 15 minuti.

oppure

- Substrato colturale agarizzato: *Todd Hewitt Broth* agarizzato al 14 ‰

Infuso di bue	g	10,0
Triptone	g	20,0
Destrosio	g	2,0
Sodio bicarbonato - NaHCO ₃	g	2,0
Sodio cloruro - NaCl	g	2,0
Sodio fosfato monoacido	g	0,4
Agar	g	14,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Sterilizzare a 115 °C per 20 minuti.

- Sistema per anaerobiosi (giara + generatore di H₂/CO₂)

Procedimento

A. Substrato colturale liquido: da ciascuna delle diluizioni del campione in esame, preparate secondo la metodologia descritta in M 2, si prelevano 3 ml e si distribuiscono in 3 tubi contenenti il terreno colturale liquido sterile, in ragione di 1 ml per tubo, effettuando in tal modo 3 repliche per ciascuna diluizione. I tubi di terreno colturale vanno preventivamente sottoposti ad un trattamento di pre-riduzione mediante riscaldamento a 100°C per 10' e successivo rapido raffreddamento.

I tubi inoculati vengono posti ad incubare a 28°C (microflora mesofila) oppure a 48°C (microflora termofila) per 15 giorni. Non è necessario l'uso della giara per anaerobiosi.

B. Substrato colturale agarizzato: da ciascuna delle diluizioni del campione in esame, preparate secondo la metodologia descritta in M 2, si prelevano 3 ml e si inoculano per diffusione 3 piastre, ciascuna con 1 ml di sospensione. Il substrato colturale sterile, precedentemente sciolto e mantenuto a circa 45 °C, viene distribuito nelle piastre secondo la metodologia descritta in M 14.

Le piastre inoculate vengono poste ad incubare a 28° C (microflora mesofila) oppure a 48°C (microflora termofila) per 5 giorni, in condizioni di anaerobiosi.

Lettura ed espressione dei risultati

A. Substrato colturale liquido: si osserva per ciascuna diluizione il numero di tubi positivi (torbidità del substrato). Si ricava il numero più probabile (MPN) di microrganismi dalle tabelle statistiche di McCrady (capitolo M 15).

B. Substrato colturale agarizzato: si conta il numero di colonie secondo le modalità previste in M 14 e si esprimono i risultati ottenuti come ufc/g.

M 5. CELLULOSOLITICI AEROBI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina del substrato colturale liquido in cui la cellulosa sia la sola fonte di carbonio, con una aliquota delle varie diluizioni.
- Ricerca della diluizione limite che determina lo sviluppo microbico nel substrato colturale.

Materiali

- Tubi da batteriologia
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Estratto di Humus: sospendere il compost maturo in acqua in rapporto 1/10 e mescolare accuratamente in palloni di vetro. Autoclavare a 121°C per 1 ora, filtrare a caldo su carta da filtro e ripartire l'estratto in flaconi. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. L'estratto ottenuto deve essere limpido ed ambrato.
- Estratto di terra: scegliere un terreno coltivato a pH neutro o subacido in buono stato pedologico e produttivo. Si raccomanda di usare sempre il medesimo terreno, una volta scelto. Prelevare la quantità di terra necessaria, a 5-25 cm di profondità, diluire con acqua in rapporto 1/1 e mescolare accuratamente in palloni di vetro. Autoclavare a 121°C per 1 ora, filtrare a caldo su filtri (carta Whatman n° 4). Il pH deve essere circa neutro. Ripartire l'estratto in flaconi. Sterilizzare in autoclave a 121° per 15 minuti. L'estratto ottenuto deve essere limpido ed ambrato.

- Soluzione salina di Winogradsky:

Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	5,0
Solfato di magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	g	2,5
Cloruro di sodio - NaCl	g	2,5
Solfato di ferro - $Fe_2(SO_4)_3$	g	0,05
Solfato di manganese - $MnSO_4 \cdot H_2O$	g	0,05
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

- Substrato di coltura:

Bicarbonato di sodio - $NaHCO_3$	g	0,25
Potassio fosfato monobasico - KH_2PO_4	g	1,50
Solfato di magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	g	1,0
Ammonio fosfato bibasico - $(NH_4)_2HPO_4$	g	0,5
Estratto di humus o estratto di terra	ml	10,0
Soluzione salina di Winogradsky	ml	50,0
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 6,5-6,6; in caso contrario si corregge con KOH al 10%.

In ogni tubo da batteriologia si introduce una striscia di carta da filtro Whatman n° 1 di dimensioni 1 x 7 cm ed il substrato di coltura in ragione di 7 ml per ciascun tubo.

Si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

Procedimento

Da ciascuna delle diluizioni del campione, preparate secondo la metodologia descritta nel capitolo M 2, si prelevano 3 ml con una pipetta graduata da 5 ml e si distribuiscono in 3 tubi contenenti il substrato colturale sterile, in ragione di 1 ml per ciascun tubo; si effettuano in tal modo 3 ripetizioni per ogni diluizione, per un totale di 30 tubi per ogni campione.

I tubi inoculati vengono messi ad incubare in termostato per 15 giorni alla temperatura di 28 °C (cellulosolitici mesofili) o di 48 °C (cellulosolitici termofili).

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine dei 15 giorni di incubazione si registra, per ciascuna diluizione, il numero di tubi positivi: si considerano positivi quei tubi ove la presenza di cellulosolitici si manifesta con tacche pigmentate sulla carta, sovente confluenti al livello del menisco. Nei casi più evidenti se l'attacco è intenso, la carta si degrada in modo totale o parziale a questo livello; se è meno intenso occorre effettuare una leggera agitazione per notare una certa disgregazione della carta nella parte inferiore.

Il numero più probabile (MPN) di cellulosolitici aerobi presenti nel campione è ricavato dalle tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15).

M 6. CELLULOSOLITICI ANAEROBI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina del substrato colturale liquido con un' aliquota delle varie diluizioni.
- Ricerca della diluizione limite che determina lo sviluppo microbico nel substrato colturale.

Materiali

- Tubi da batteriologia
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Sistema per anaerobiosi (giara + generatore H₂/CO₂)
- Estratto di Humus o di terra: vedi capitolo M 5
- *Soluzione salina di Winogradsky:*

Potassio fosfato bibasico - K ₂ HPO ₄	g	5,0
Solfato di magnesio - MgSO ₄ · 7H ₂ O	g	2,5
Cloruro di sodio - NaCl	g	2,5
Cloruro di ferro - FeCl ₃ · 6H ₂ O	g	0,05
Solfato di manganese - MnSO ₄ · H ₂ O	g	0,05
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

- Substrato di coltura:

Bicarbonato di sodio - NaHCO ₃	g	0,25
Potassio fosfato monobasico - KH ₂ PO ₄	g	1,5
Cloruro di magnesio - MgCl ₂ · 6H ₂ O	g	1,0
Ammonio fosfato bibasico - (NH ₄) ₂ HPO ₄	g	0,5
Tioglicolato di sodio	g	0,1
Cisteina cloridrato	g	0,5
Resazurina 0,1%	ml	1
Estratto di Humus o di terra	ml	10
Soluzione salina di Winogradsky	ml	50
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 6,5 - 6,6; in caso contrario si corregge con KOH 10%. In ogni tubo si introduce una striscia di carta da filtro (Whatman n° 1), dimensioni 1 x 7 cm, e 7 ml di substrato di coltura. Si sterilizza in autoclave a 121°C per 15 minuti.

Procedimento

Da ciascuna delle diluizioni del campione in esame, ottenute secondo la metodologia descritta in M 2, si prelevano 3 ml e si distribuiscono in 3 tubi contenenti il terreno colturale liquido sterile, in ragione di 1 ml per tubo, effettuando in tal modo 3 repliche per ciascuna diluizione. I tubi con il terreno colturale vanno preventivamente sottoposti ad un trattamento di pre-riduzione mediante riscaldamento a 100°C per 10' e successivo rapido raffreddamento.

I tubi inoculati vengono posti ad incubare a 28°C (cellulosolitici mesofili) oppure a 48°C (cellulosolitici termofili) per 15 giorni, in condizioni di anaerobiosi.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine dei 15 giorni di incubazione si registra, per ciascuna diluizione, il numero di tubi positivi: si considerano positivi quei tubi ove la presenza di cellulosolitici si manifesta con tacche pigmentate sulla carta, sovente confluenti a livello del menisco. Nei casi più evidenti se l'attacco è intenso, la carta si degrada in modo totale o parziale a questo livello: se è meno intenso, occorre effettuare una leggera agitazione per notare una certa disgregazione della carta nella parte inferiore.

Il numero più probabile (MPN) di cellulosolitici anaerobi presenti nel campione è ricavato dalle tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15).

M 7. ATTINOMICETI

Principio

- Diluizioni successive del campione.
- Semina di un substrato agarizzato selettivo per la crescita degli attinomiceti, con un'aliquota delle varie diluizioni.
- Conta delle colonie sviluppatesi nel substrato; isolamento e conferma delle colonie sospette.

Materiali

- Piastre Petri in plastica sterili
- Tubi da micologia, capacità minima 30 ml
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Substrato colturale agarizzato: *Starch Casein Agar (SCA)*

Amido solubile	g	10,0
Caseina	g	0,3
Potassio nitrato - KNO_3	g	2,0
Sodio cloruro - NaCl	g	2,0
Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	2,0
Magnesio solfato eptaidrato - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	g	0,05
Calcio carbonato - CaCO_3	g	0,02
Ferro solfato eptaidrato - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	g	0,01
Agar	g	15,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Sterilizzare a 121°C per 15 minuti. Il pH non è da correggere.

- Soluzione acquosa di Cicloeximide (1mg/ml), sterilizzata a 121°C per 15 minuti.

Procedimento

Si preparano 3 piastre per ciascuna diluizione, trasferendo asetticamente 15 ml di SCA in ogni piastra; lasciar solidificare. Ad ogni tubo, contenente 17 ml di SCA liquefatto e mantenuto a 45°C, si aggiungono 1 ml di soluzione di cicloeximide (per inibire lo sviluppo fungino) e 2 ml di ogni diluizione; si distribuiscono 5 ml di substrato così inoculato in ciascuna delle 3 piastre. Incubare a 28°C per 7 giorni.

Si contano tutte le colonie rosa, rosse, gialle, marroni spesse e lanuginose, dure e ben aderenti al terreno, con caratteristico odore di terra o di muffa.

Si isolano in SCA le colonie sospette per le prove di identificazione:

- osservazione al microscopio a contrasto di fase (400x ,1000x), per l'evidenziazione del micelio ramificato, della presenza e disposizione delle spore sulle ife e delle ife frammentate
- colorazione di Gram
- eventuali prove biochimiche con sistemi miniaturizzati

Lettura ed espressione dei risultati

Si conta il numero di colonie (confermate) secondo le modalità previste in M 14 e si esprimono i risultati ottenuti come ufc/g.

M 8. FUNGHI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina di un' aliquota delle varie diluizioni in terreno colturale agarizzato selettivo.
- Conteggio delle colonie.

Materiali

- Piastre Petri in plastica sterili
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Substrato colturale: *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)*

Peptone micologico	g	10,0
Destrosio	g	40,0
Agar	g	15,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $5,6 \pm 0,2$. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti ed aggiungere di penicillina, streptomina e cicloeximide oppure cloramfenicolo e cicloeximide

- Substrato colturale: *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Estratto di patata	g	4,0
Destrosio	g	20,0
Agar	g	15,0
Acqua	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $5,6 \pm 0,2$. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti.

- Substrato colturale: *Czapek Dpox Agar (CDA)*

Sodio nitrato - NaNO_3	g	2,0
Potassio cloruro - KCl	g	0,5
Magnesio glicerofosfato	g	0,5
Ferro solfato - Fe SO_4	g	0,01
Potassio solfato - K_2SO_4	g	0,35
Saccarosio	g	30,0
Agar	g	15,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $6,8 \pm 0,2$. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti.

Procedimento

Si seminano le piastre per diffusione (9 per ciascuna diluizione) con 1 ml delle diluizioni del campione in esame preparate secondo la metodologia descritta in M 2. Si distribuisce nelle piastre il substrato colturale sterile, SDA o il PDA, precedentemente sciolto e mantenuto a circa 45 °C, secondo la metodologia descritta in M 14.

L'incubazione viene effettuata per 7 giorni ponendo un terzo delle piastre a 25°C, un terzo a 37°C e un terzo a 45°C (per l'isolamento di funghi termofili).

L'eventuale identificazione dei funghi, basata sull'aspetto macroscopico delle colonie e sull'osservazione microscopica dei microrganismi, può essere facilitata dal trapianto di ogni singola colonia fungina in parte al centro di una piastra di SDA o PDA ed in parte al centro di una piastra di CDA; è opportuno l'impiego di entrambi i terreni in quanto il CDA consente un miglior sviluppo sporale per il genere *Aspergillus*.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine del periodo di incubazione si conta il numero di colonie fungine secondo le modalità descritte in M 14 e si esprimono i risultati ottenuti come ufc/g.

M 9. NITROSANTI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina con una aliquota delle varie diluizioni di un substrato colturale liquido la cui fonte azotata sia rappresentata unicamente dal solfato di ammonio.
- Ricerca della diluizione limite che determina la presenza di nitriti nel substrato colturale.

Materiali

- Tubi da batteriologia
- Provette
- Pipette in vetro o in plastica graduate, sterili
- Acido solforico concentrato- H_2SO_4

- Soluzione salina di Winogradsky:

Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	5,0
Solfato di magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	g	2,5
Cloruro di sodio - NaCl	g	2,5
Solfato di ferro - $Fe_2(SO_4)_3$	g	0,05
Solfato di manganese - $MnSO_4 \cdot H_2O$	g	0,05
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

- Reattivo alla difenilamina solforica:

Difenilamina solfuro	g	1
Acido solforico 96%	ml	100
Acqua distillata	ml	20

Substrato di coltura:

Solfato di Ammonio - $(NH_4)_2SO_4$	g	0,5
Carbonato di calcio - $CaCO_3$	g	1,0
Soluzione salina di Winogradsky	ml	50,0
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Il pH della soluzione deve risultare 7,0-7,5. Si introducono 7 ml di substrato colturale in ciascun tubo da batteriologia e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

Procedimento

Da ciascuna delle diluizioni del campione, preparate secondo la metodologia descritta nel capitolo M 2, si prelevano 3 ml e si distribuiscono in 3 tubi contenenti il substrato colturale sterile, in ragione di 1 ml per ciascun tubo; si effettuano in tal modo 3 ripetizioni per ogni diluizione, per un totale di 30 tubi per ogni campione.

I tubi inoculati vengono messi ad incubare in termostato per 15 giorni alla temperatura di 28 °C.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine dei 15 giorni di incubazione, si procede alla ricerca dei nitriti nei substrati colturali.

Si svuotano quasi completamente i tubi, in modo da lasciare solo una o due gocce che si trasferiscono in una provetta alla quale si aggiungono 10 gocce di acido solforico e 10 gocce di reattivo alla difenilamina solforica; in presenza di nitriti la soluzione assume una colorazione blu intensa.

La determinazione può anche essere effettuata con le cartine indicatrici disponibili in commercio per la rilevazione dei nitriti.

Il numero più probabile (MPN) di nitrosanti presenti nel campione è desunto dalle tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15).

M 11. NITRIFICANTI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Semina con una aliquota delle varie diluizioni di un substrato colturale liquido la cui fonte azotata sia rappresentata unicamente dal nitrito di sodio.
- Ricerca della diluizione limite che determina la presenza dei nitrati nel substrato colturale.

Materiali

- Tubi da batteriologia
- Pipette in vetro o in plastica graduate, sterili
- Acido solforico concentrato - H_2SO_4
- Urea- $(NH_2)_2CO$
- Acido aminosolfonico 10% in acqua: $NH_2SO_3 H$

- Soluzione salina di Winogradsky:

Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	5,0
Solfato di magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	g	2,5
Cloruro di sodio - $NaCl$	g	2,5
Solfato di ferro - $Fe_2(SO_4)_3$	g	0,05
Solfato di manganese - $MnSO_4 H_2O$	g	0,05
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

- Reattivo alla difenilamina solforica:

Difenilamina solfuro	g	1,0
Acido solforico 96%	g	100
Acqua distillata	ml	20

- Substrato di coltura:

Nitrito di sodio- $NaNO_2$	g	1,0
Carbonato di calcio $CaCO_3$	g	1,0
Soluzione salina di Winogradsky	ml	50,0
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Il pH della soluzione deve risultare 7,0-7,5; si introducono 7 ml di substrato colturale in ciascun tubo da batteriologia e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

Procedimento

Da ciascuna delle diluizioni del campione, preparate secondo la metodologia descritta nel capitolo M 2, si prelevano 3 ml e si distribuiscono in 3 tubi contenenti il substrato colturale sterile, in ragione di 1 ml per ciascun

tubo; si effettuano in tal modo 3 ripetizioni per ogni diluizione, per un totale di 30 tubi per ogni campione.

I tubi inoculati vengono messi ad incubare in termostato per 15 giorni alla temperatura di 28° C.

Lettura ed espressione dei risultati

Al termine dei 15 giorni di incubazione, si procede alla ricerca dei nitrati nei substrati colturali. Si svuotano quasi completamente i tubi, in modo da lasciare solo una o due gocce ed in ognuno di essi si aggiungono 50 mg di urea (per eliminare la presenza dei nitriti), 10 gocce di acido solforico e 10 gocce di reattivo alla difenilamina solforica; in presenza di nitrati la soluzione assume una colorazione blu intensa. La determinazione può anche essere effettuata con le cartine indicatrici disponibili in commercio per la rilevazione dei nitrati, previa eventuale eliminazione dell'interferenza dei nitriti.

Si registra per ciascuna diluizione il numero di tubi in cui si è rilevata la presenza di nitrati (tubi positivi). Il numero più probabile (MPN) di nitrificanti presenti nel campione è ricavato dalle tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15).

M 11. COLIFORMI TOTALI E COLIFORMI FECALI

Principio

- Diluizione successiva del campione.
- Saggio presuntivo della presenza di coliformi totali: semina di un substrato colturale liquido con una aliquota delle varie diluizioni e ricerca delle diluizioni che determinano sviluppo microbico.
- Saggio di conferma della presenza di coliformi totali e coliformi fecali: trapianto delle colture ottenute nel saggio presuntivo in un substrato liquido selettivo.

Materiali

- Tubi da batteriologia con campanule di Durham
- Pipette in vetro o in plastica graduate, sterili
- Substrato di coltura per il saggio presuntivo: *Brodo al lauril-solfato e triptosio*:

Triptosio	g	20,0
Lattosio	g	5,0
Cloruro di sodio - NaCl	g	5,0
Potassio fosfato monobasico - KH_2PO_4	g	2,75
Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	2,75
Sodio laurilsolfato	g	0,1
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 6,8. Si distribuisce il substrato nei tubi da batteriologia in ragione di 10 ml per tubo e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

- Substrato di coltura per il saggio di conferma dei coliformi totali: *Brodo verde brillante-bile*

Peptone	g	10,0
Lattosio	g	10,0
Bile di bue (purificata)	g	20,0
Verde brillante	mg	13,3
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 7,2. Si distribuisce il substrato nei tubi da batteriologia in ragione di 10 ml per tubo e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

- Substrato di coltura per il saggio di differenziazione dei coliformi fecali:

Brodo EC:

Peptone	g	20,0
Lattosio	g	5,0
Sali di bile	g	1,5
Potassio fosfato monobasico - KH_2PO_4	g	1,5
Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	4,0
Cloruro di sodio - NaCl	g	5,0
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 6,9. Si distribuisce il substrato nei tubi da batteriologia in ragione di 10 ml per tubo e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

Procedimento

- Saggio presuntivo della presenza di coliformi totali

Da ciascuna delle diluizioni del campione, preparate secondo la metodologia descritta nel capitolo M 2, si prelevano 5 ml e si distribuiscono in 5 tubi contenenti il brodo sterile al lauril-solfato e triptosio, in ragione di 1 ml per ciascun tubo; si effettuano in tal modo 5 ripetizioni per ogni diluizione.

I tubi inoculati vengono messi ad incubare in termostato alla temperatura di 35-37 °C.

Dopo 48 ore si registrano, per ciascuna diluizione, i tubi positivi, considerando positivi quelli che evidenziano presenza di gas nelle campanule Durham.

- Saggi di conferma della presenza di coliformi totali e di coliformi fecali

Da ogni tubo risultato positivo al saggio presuntivo si eseguono subcolture in Brodo verde brillante - bile (per i coliformi totali) e in Brodo EC (per i coliformi fecali), che vengono poste ad incubare rispettivamente a 37°C per 48 h e a 44°C per 24 h.

Si considerano positivi i tubi che presentano sviluppo di gas nelle campanule di Durham.

Lettura ed espressione dei risultati

Si registra per ciascuna diluizione il numero di tubi positivi e si calcola il numero più probabile MPN utilizzando le tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15), esprimendo i coliformi totali (Brodo verde brillante - bile) e i coliformi fecali (Brodo EC) come MPN/g.

M 12. STREPTOCOCCHI FECALI

Principio

- Diluizione successiva del campione.

- Saggio presuntivo della presenza degli streptococchi fecali: semina di un substrato colturale liquido con una aliquota delle varie diluizioni e ricerca delle diluizioni che determinano sviluppo microbico.

- Saggio di conferma della presenza degli streptococchi fecali: trapianto delle colture ottenute nel saggio presuntivo in un substrato liquido selettivo.

Materiali

- Tubi da batteriologia

- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili

- Substrato di coltura per il saggio presuntivo: *Brodo glucosato all'azide sodica*

Triptosio	g	15,0
Glucosio	g	7,5
Cloruro di sodio - NaCl	g	7,5
Estratto di carne	g	4,5
Azide sodica - NaN_3	g	0,2
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 7,2. Si distribuisce il substrato nei tubi da batteriologia in ragione di 10 ml per tubo, si tappa e si sterilizza in autoclave a 121 °C per 15'.

- Substrato di coltura per il saggio di conferma: *Brodo all'azide sodica ed al violetto di etile:*

Triptosio	g	20,0
Destrosio	g	5,0
Potassio fosfato monobasico - KH_2PO_4	g	2,7
Potassio fosfato bibasico - K_2HPO_4	g	2,7
Cloruro di sodio - NaCl	g	5,0
Azide sodica	g	0,4
Violetto di etile	mg	0,83
Acqua distillata	q.b.a ml	1000

Dopo dissoluzione degli elementi costitutivi, il pH della soluzione deve risultare 6,5. Si distribuisce il substrato nei tubi da batteriologia in ragione di 10 ml per tubo, si tappa e si sterilizza in autoclave a 121° C per 15'.

Procedimento

- Saggio presuntivo della presenza di streptococchi fecali

Da ciascuna delle diluizioni del campione, preparate secondo la metodologia descritta nel capitolo M2, si prelevano 5 ml con una pipetta e si distribuiscono in 5 tubi contenenti il brodo glucosato all'azide sodica in ragione di 1 ml per ciascun tubo; si effettuano in tal modo 5 ripetizioni per ogni diluizione. I tubi vengono messi ad incubare in termostato alla temperatura di 37 °C.

Dopo 48 h si registrano, per ciascuna diluizione, i tubi positivi, considerando positivi quelli che manifestano torbidità del substrato.

- Saggio di conferma della presenza di streptococchi fecali

Da ogni tubo risultato positivo alla prova presuntiva si esegue una subcoltura in Brodo all'azide sodica ed al violetto di etile, che si pone ad incubare a 37°C per 48 h.

Si considerano positivi i tubi che presentano sul fondo un deposito color porpora.

Lettura ed espressione dei risultati

Si registra per ciascuna diluizione il numero di tubi positivi e si calcola il numero più probabile MPN utilizzando le tabelle statistiche di McCrady (Capitolo M 15) ed esprimendo gli streptococchi fecali come MPN/g.

M 13. SALMONELLA

Principio

- Prearricchimento in terreno liquido non selettivo.
- Arricchimento in terreno liquido selettivo.
- Isolamento su terreno solido selettivo.
- Conferma ed identificazione mediante prove biochimiche e sierologiche.

Materiali

- Beute in vetro sterili
- Piastre Petri in plastica, sterili
- Tubi da batteriologia sterili
- Pipette in vetro o plastica graduate, sterili
- Substrato di coltura per il prearricchimento non selettivo: *Acqua peptonata*

Peptone	g	10,0
Sodio cloruro - NaCl	g	5,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $7,2 \pm 0,2$. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti.

- Substrati di coltura per l'arricchimento selettivo:

A) *Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth*

Peptone di soia	g	5,0
Sodio cloruro - NaCl	g	8,0
Potassio fosfato biacido - K_2HPO_4	g	1,6
Magnesio cloruro - $Mg Cl_2 \cdot 6 H_2O$	g	40,0
Verde malachite	g	0,04
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $5,2 \pm 0,2$. Sterilizzare a 115°C per 15 minuti.

B) *Selenite Broth*

Peptone batteriologico	g	5,0
Lattosio	g	4,0
Sodio fosfato - Na_3PO_4	g	10,0
Sodio biselenito - Na_2SeO_3	g	4,0
Acqua distillata	q.b. a ml	1000

Il pH finale deve risultare $7,1 \pm 0,2$. Sterilizzare a vapore fluente per 10 minuti. (Non autoclavare)

- Substrati solidi di isolamento selettivo:

A) *Hektoen Enteric Agar (HEA)*

Proteose peptone	12,0
Estratto di lievito	3,0
Lattosio	12,0
Saccarosio	12,0
Salicina	2,0
Sali biliari n°3	9,0
Sodio cloruro - NaCl	5,0
Sodio tiosolfato - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5,0
Ferrico ammonio citrato	1,5
Fucsina acida	0,1
Blu di bromotimolo	0,065
Agar	14,0
Acqua distillata	q.b. a ml 1000

Il pH finale deve risultare $7,5 \pm 0,2$. Riscaldare fino a dissolvimento (non autoclavare).

B) *Rambach Agar (RA)*

Peptone	8,0
Sodio cloruro - NaCl	5,0
Sodio desossicolato	1,0
Miscela cromogena	1,5
Propilen glicole	10,5
Agar	15,0
Acqua distillata	q.b. a ml 1000

Il pH finale deve risultare $7,3 \pm 0,2$. Riscaldare fino a dissolvimento (non autoclavare).

Procedimento

Si pesano 25 g o 50 g di campione e si collocano in beute contenenti Acqua peptonata in quantità tale da ottenere una diluizione 1:10 del campione (225 g o 450 g). Si pone ad incubare a 37°C per 20 ore.

Si trasferiscono aliquote dal prearricchimento nei terreni di arricchimento selettivo, in rapporto 1: 10 per Selenite Broth e 1: 20 per Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth. Si pone ad incubare per 24 h + 24 h il Selenite Broth a 37°C e il Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth a 42°C .

Dopo 24 h e 48 h si effettuano subcolture da ciascun terreno su piastre di Hektoen Enteric Agar e Rambach Agar, che vengono incubate a 37°C per 24 h.

Le colonie sospette (verdi con centro nero su HEA e rosa-rosse su RA) vengono sottoposte a prove di conferma biochimiche mediante sistemi miniaturizzati e sierologiche mediante agglutinazione con antisieri specifici polivalenti e monovalenti.

Lettura ed espressione dei risultati

Si esprimono i risultati ottenuti come presenza o assenza di *Salmonella* nella quantità di campione analizzato.

M 14. CONTEGGIO DI COLONIE (DIFFUSIONE IN AGAR)

Il metodo del conteggio di colonie consente di stimare il numero di microrganismi vitali presenti in un campione, selezionati in base al substrato colturale utilizzato ed alla temperatura di incubazione.

Le cellule microbiche spesso formano degli aggregati ed è quindi necessario che le diluizioni del campione (soprattutto la prima) siano adeguatamente agitate, in modo da ottenere se possibile la disaggregazione degli ammassi o almeno la loro uniforme distribuzione. Tuttavia, non essendo garantito il risultato delle operazioni di omogenizzazione, ogni colonia che si sviluppa può essere originata da una singola cellula o da un aggregato: pertanto i risultati che derivano da questo metodo vengono espressi come unità formanti colonia (ufc) riferite all'unità di peso (g) del campione.

Procedimento

Il campione viene preparato e diluito come descritto in M 2.

Si sceglie il numero di diluizioni da utilizzare sulla base del numero di microrganismi ipoteticamente presenti nel campione, in modo da ottenere delle piastre contenenti un numero di colonie significativo compreso fra 25 e 250 e, per ottenere una maggiore accuratezza, si utilizzano più piastre (3) per ogni diluizione scelta.

A partire da ciascuna diluizione, opportunamente mescolata, si distribuisce un'aliquota (normalmente 1 ml) in ogni piastra predisposta.

Il substrato colturale sterile, precedentemente sciolto e mantenuto a circa 45°C , viene distribuito in quantità di circa 12-15 ml in ogni piastra, in condizioni di asepsi; le piastre vengono ruotate in modo da ottenere una buona distribuzione del campione nel substrato agarizzato ed infine vengono lasciate solidificare per non più di 10 min.

Le piastre, capovolte, vengono poste ad incubare alla temperatura richiesta.

Lettura ed espressione dei risultati

Dopo il tempo di incubazione opportuno, si procede al conteggio secondo i seguenti criteri:

1. si scelgono le piastre contenenti un numero apparente di colonie compreso fra 25 e 250; si contano tutte le colonie e si calcola la media dei valori ottenuti, se le piastre sono relative alla stessa diluizione; si moltiplica tale valore medio per il reciproco della diluizione usata e si esprime il risultato come ufc/g (unità formanti colonia/g);
2. in caso di significatività delle piastre di due diluizioni consecutive, se il conteggio più alto risulta inferiore al doppio di quello più basso, si calcola il numero di colonie per grammo relativo a ciascuna diluizione e si riporta

come ufc/g la media aritmetica dei due risultati; se il conteggio più alto risulta superiore al doppio di quello più basso si considera valido solo quello più basso;

3. se tutte le piastre hanno meno di 25 colonie, si conta e si valuta il numero reale di colonie sulle piastre relative alla diluizione minore;
4. se non si osservano colonie su alcuna piastra, si esprime il risultato come ufc/g < (inferiore) al reciproco della diluizione minore utilizzata;
5. se il numero di colonie in tutte le piastre supera 250, si contano alcune porzioni di piastra corrispondenti a 1 cm², si calcola il valore medio/cm² e si moltiplica per l'area dell'intera piastra per ottenere il numero stimato di colonie per piastra;
6. se il numero di colonie è superiore a 100/cm², si esprime il risultato come > (maggiore) dell'area della piastra moltiplicata per 100, moltiplicata per il reciproco della maggior diluizione utilizzata.
7. La carica microbica viene riferita al peso secco del campione in esame.

M 15. CALCOLO DEL MOST PROBABLE NUMBER (MPN)

Le tabelle statistiche di McCrady rappresentano il sistema più seguito per l'interpretazione numerica dei risultati in quanto permettono di stimare il numero più probabile di microrganismi vitali e capaci di proliferare nel mezzo di coltura. Esse sono basate sull'assunto che i batteri sono distribuiti in un mezzo liquido in modo che campioni ripetuti della stessa quantità diano in media lo stesso numero di microrganismi. Questa media rappresenta il "numero più probabile" (MPN) di microrganismi presenti nel campione in esame. È possibile calcolare l'MPN per 100 ml (o g) per tutte le combinazioni di risultati, partendo da serie di uno stesso campione. Dalla tabella 1 si ricava l'MPN per 100 ml (o g) partendo da 1 campionamento di 50 ml (g), 5 da 10 ml (g) e 5 da 1 ml (g). Se invece il presunto carico microbico è elevato, per cui si è proceduto alla diluizioni successive in base 10, bisognerà determinare prima il numero caratteristico. Tale determinazione consiste nel numerare, per ciascuna diluizione, tutti i tubi positivi; l'ultima diluizione che presenta tutte le ripetizioni positive rappresenta la prima cifra del numero caratteristico e le due diluizioni successive la seconda e terza cifra:

Esempio n° 1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
(x 3 ripetizioni)	3	3	3	2	1	0	0

Esempio n° 2							
(x 5 ripetizioni)	5	5	2	1	0	0	0

Esempio n° 1: il numero caratteristico = 321 x 10³.

Esempio n° 2: il numero caratteristico = 521 x 10².

Dalle tabelle 2 e 3 si ricerca, in corrispondenza del numero caratteristico, il numero più probabile di microrganismi (MPN) contenuto nel volume di semina alla diluizione corrispondente alla prima cifra del numero caratteristico.

La carica microbica viene espressa come numero di microrganismi riferito al peso secco del campione in esame (n° microrganismi/g di secco).

Tabella 1. MPN per 100 ml (g) effettuando 1 inoculo da 50 ml (g), 5 da 5 ml (g) e 5 da 1 ml (g).

Numero di beute o tubi positivi su

50 ml (g)	10 ml (g)	1 ml (g)	MPN/100 ml (g)
0	0	0	0
0	0	1	1
0	0	2	2
0	1	0	1
0	1	1	2
0	1	2	3
0	2	0	2
0	2	1	3
0	2	2	4
0	3	0	3
0	3	1	5
0	4	0	5
1	0	0	1
1	0	1	3
1	0	2	4
1	0	3	6
1	1	0	3
1	1	0	5
1	1	2	7
1	1	3	9
1	2	0	5
1	2	1	7
1	2	2	10
1	2	3	12
1	3	0	8
1	3	1	11
1	3	2	14
1	3	3	18
1	3	4	20
1	4	0	13
1	4	1	17
1	4	2	20
1	4	3	30
1	4	4	35
1	4	5	40
1	5	0	25
1	5	1	35
1	5	2	50
1	5	3	90
1	5	4	160
1	5	5	180

Tabella n 2. - 3 ripetizioni per ogni diluizione.

Numero caratteristico	MPN	Numero caratteristico	MPN	Numero caratteristico	MPN
000	0,0	201	1,4	302	6,5
001	0,3	202	2,0	310	4,5
010	0,3	210	1,5	311	7,5
011	0,6	211	2,0	312	11,5
020	0,6	212	3,0	313	16,0
100	0,4	220	2,0	320	9,5
101	0,7	221	3,0	321	15,0
102	1,1	222	3,5	322	20,0
110	0,7	223	4,0	323	30,0
111	1,1	230	3,0	330	25,0
120	1,1	231	3,5	331	45,0
121	1,5	232	4,0	332	110,0
130	1,6	300	2,5	333	140,0
200	0,9	301	4,0		

Tabella n 3. - 5 ripetizioni per ogni diluizione.

N.caratt.	MPN	N. caratt.	MPN	N. caratt.	MPN	N. caratt.	MPN
000	0,0	203	1,2	400	1,3	513	8,5
001	0,2	210	0,7	401	1,7	520	5,0
002	0,4	211	0,9	402	2,0	521	7,0
010	0,2	212	1,2	403	2,5	522	9,5
011	0,4	220	0,9	410	1,7	523	12,0
012	0,6	221	1,2	411	2,0	524	15,0
020	0,4	222	1,4	412	2,5	525	17,5
021	0,6	230	1,2	420	2,0	530	8,0
030	0,6	231	1,4	421	2,5	531	11,0
100	0,2	240	1,4	422	3,0	532	14,0
101	0,4	300	0,8	430	2,5	533	17,5
102	0,6	301	1,1	431	3,0	534	20,0
103	0,8	302	1,4	432	4,0	535	25,0
110	0,4	310	1,1	440	3,5	540	13,0
111	0,6	311	1,4	441	4,0	541	17,0
112	0,8	312	1,7	450	4,0	542	25,0
120	0,6	313	2,0	451	5,0	543	30,0
121	0,8	320	1,4	500	2,5	544	35,0
122	1,0	321	1,7	501	3,0	545	45,0
130	0,8	322	2,0	502	4,0	550	25,0
131	1,0	330	1,7	503	6,0	551	35,0
140	1,1	331	2,0	504	7,5	552	60,0
200	0,5	340	2,0	510	3,5	553	90,0
201	0,7	341	2,5	511	4,5	554	160,0
202	0,9	350	2,5	512	6,0	555	180,0

Riferimenti bibliografici per i parametri microbiologici

- J. POCHON AND P. TARDIEUX (1962). *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*. Edition de la Tourelle, Saint-Mandé.
- I.P.L.A. 1984 *Metodi analitici. - Fertilizzanti organici, Compost, Fanghi degli impianti di depurazione, Rifiuti organici, Substrati in fermentazione metonica, Biogas*.
- ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE, 1972. *Metodi analitici per le acque*. Quaderni IRSA, n. 11, vol.3. C.N.R., Roma
- ISTITUTO DI RICERCA SULLE ACQUE, 1983. *Metodi analitici per i fanghi. Parametri biochimici e biologici*. Quaderni IRSA, n.64. C.N.R., Roma
- A.P.H.A., 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 18th Ed. American Publ. Health Assoc., Washington, D.C.
- AULICINO F.A., VOLTERRA L., BONADONNA L., FLOCCIA M., 1989. *Tecniche di rilevamento per i controlli microbiologici relativi alle acque potabili*. in Microbiologia delle acque potabili, Quaderni di tecniche di protezione ambientale, Pitagora Ed., Bologna.

PARAMETRI FISICI

Per poter valutare l'idoneità agronomica del compost nella preparazione di substrati colturali assumono notevole importanza le proprietà fisiche degli stessi.

Le qualità fisiche dei substrati infatti rappresentano una condizione essenziale per la crescita delle piante in quanto definiscono la capacità del substrato di fornire in modo adeguato acqua e aria alle radici delle piante ed ai microrganismi del suolo.

Inoltre le caratteristiche fisiche rappresentano una condizione di base difficilmente modificabile nel corso della coltura, come invece può avvenire nel caso delle disponibilità nutritive, e quindi devono essere attentamente esaminate per un corretto ed ottimale utilizzo dei compost in agricoltura.

Per quanto riguarda il campionamento si fa riferimento al capitolo C1. Il campione composito, ottenuto dalla miscela dei diversi sottocampioni, deve risultare pari a circa 3 kg.

Le determinazioni dei parametri fisici vengono effettuate sul campione umido con granulometria ≤ 10 mm.

F 1. DENSITA' APPARENTE

Esprime il rapporto tra la massa sul secco di un materiale ed il suo volume apparente. Per volume apparente si intende il volume del substrato compresi gli spazi occupati dall'aria e dall'acqua.

Apparecchiature

- Doppio cilindro: due cilindri in metallo (oppure in altro materiale che non si deformi alla temperatura di 120° C) ciascuno con diametro interno di 97 mm ed altezza di 53 mm. Possono essere utilizzati cilindri di dimensione leggermente diversa, pur rispettando i rapporti tra le grandezze considerate (Fig. 1).

Il cilindro inferiore deve essere chiuso al fondo da un tessuto in nylon (con apertura delle maglie di circa 0,1 mm) mantenuto in sede esternamente tramite un collare alto 20 mm.

Il cilindro superiore è munito esternamente di un collare alto 20 mm che si incastra sulla parte esterna del cilindro inferiore.

Sia i collari che il tessuto in nylon devono essere costituiti da materiale che non si deformi alla temperatura di 120°C.

- Bacino di sabbia tensiometrico: contenitore realizzato in materiale rigido e inerte (vetro, plastica o metallo) avente approssimativamente le seguenti dimensioni: altezza di 25 cm, lunghezza di 33 cm e larghezza di 55 cm (Fig. 2).

Sul fondo del contenitore (a 2 cm dalle pareti) viene posizionato un sistema di drenaggio costituito da un tubo semi-rigido con diametro interno di 1 cm, perforato lungo l'intera lunghezza con piccoli fori da 2 mm; a 1-2 cm di distanza tra di loro. Tale tubo, avvolto in tre strati di nylon, uscendo dal fondo del contenitore viene collegato, mediante rubinetto a tre vie, ad un recipiente di rifornimento di acqua e ad un regolatore di pressione.

E' molto importante che tutti i collegamenti siano a perfetta tenuta d'acqua e d'aria.

Il contenitore viene riempito con uno strato di 12 cm di sabbia quarzifera (comunque non calcarea) calibrata tra 200 e 10 µm con una permeabilità moderata ed un valore di gorgogliamento d'aria superiore a 100 cm di colonna d'acqua. La sabbia deve essere preventivamente lavata e trattata con acqua ossigenata per eliminare particelle argillose e la sostanza organica. Accanto al bacino di sabbia tensiometrico va posto un supporto per un regolatore di tensione con graduazioni di 10, 50 e 100 cm.

La sabbia deve essere saturata con acqua, proveniente dal recipiente di rifornimento, evitando la formazione di bolle d'aria. Stendere un foglio di nylon sullo strato di sabbia umida.

- Regolatore di tensione: contenitore cilindrico collegato nella parte inferiore al tubo di drenaggio in uscita dal bacino di sabbia tensiometrico.

Tale contenitore viene riempito con acqua fino al livello dello sfioratore, posto a circa metà altezza dello stesso contenitore. Nella parte superiore del contenitore cilindrico viene collocata una bottiglia di acqua girata verso il basso ed avente diametro esterno tale da incastrarsi nel diametro interno dello stesso contenitore.

- Contenitore di saturazione: contenitore in plastica (diametro ed altezza di circa 14 cm) avente un volume di due litri con il fondo forato (ad esempio i vasi di plastica per piante).

- Bagno d'acqua: recipiente rigido che possa contenere i contenitori di saturazione ed essere riempito di acqua fino al bordo superiore di questi.

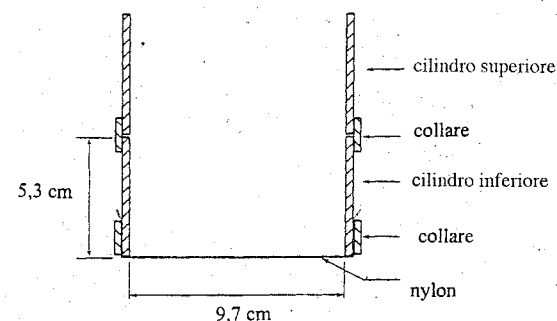


Fig. 1 - Doppio cilindro

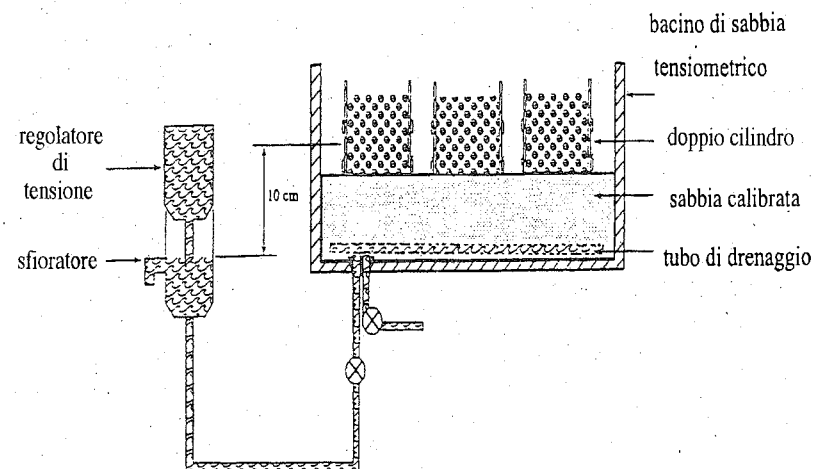


Fig. 2 - Bacino di sabbia tensiometrico

Procedimento

Preparazione dei campioni

Trasferire il campione da analizzare in almeno due contenitori di saturazione.

Coprire i contenitori con un foglio di nylon (non-biodegradabile) e collocarli su di una griglia in un bagno di acqua vuoto.

Lentamente e con flusso costante, riempire il bagno d'acqua fino a giungere a 1 cm dal bordo superiore dei contenitori (Fig. 3).

Cercando di mantenere costante il livello dell'acqua, lasciare i contenitori immersi per 24 - 36 ore, in modo che il campione sia completamente imbibito.

Trasferire i contenitori di saturazione sul bacino di sabbia tensiometrico, accertandosi che vi sia un buon contatto tra il fondo dei contenitori e la sabbia.

Lasciare per 48 ore regolando la tensione a 50 cm di colonna d'acqua, misurata dal fondo dei contenitori stessi.

Durante le fasi di preparazione è molto importante che il campione non sia sottoposto ad alcuna compattazione e che non venga bagnato dall'alto.

Procedura analitica

Determinare il volume in cm^3 (V) e il peso in grammi del cilindro inferiore vuoto (A). Per le dimensioni previste il volume è di $391,4 \text{ cm}^3$.

Trasferire il campione, così come preparato nei contenitori di saturazione e miscelato delicatamente, nel doppio cilindro, avendo cura di non compattare il materiale e di non permettere la formazione di vuoti d'aria artificiali. Effettuare almeno tre ripetizioni per ogni campione.

Porre il doppio cilindro nel bagno d'acqua vuoto e riempire tale contenitore con acqua molto lentamente, finché il livello giunga ad 1 cm dal bordo superiore del doppio cilindro. Attenzione a non bagnare il campione dall'alto (Fig. 4).

Lasciare il doppio cilindro nel bagno d'acqua fino a quando il substrato non sia completamente saturo, cercando di mantenere il livello dell'acqua costante. Il tempo necessario dipende dalle caratteristiche del substrato (24 - 36 ore).

Trasferire il doppio cilindro, contenente il campione saturo d'acqua, sul bacino di sabbia tensiometrico regolando la tensione a 10 cm di colonna d'acqua (misurati dal centro del cilindro inferiore) e accertandosi che vi sia un buon contatto tra la parte inferiore del doppio cilindro e la sabbia. E' importante controllare regolarmente che non si formino bolle d'aria nei tubi regolatori del livello di tensione.

Lasciare il doppio cilindro in tensione per un minimo di 48 ore, durante le quali viene raggiunto l'equilibrio tra la forza di aspirazione prefissata e il contenuto idrico del campione. In questo intervallo di tempo è necessario

coprire il bacino di sabbia tensiometrico onde limitare le perdite d'acqua per evaporazione.

Togliere il doppio cilindro dal bacino di sabbia e porlo su di una superficie rigida.

Separare il cilindro inferiore da quello superiore con un movimento verticale e, con l'ausilio di una lama affilata, livellare bene il campione nel cilindro inferiore senza alcuna compattazione.

Determinare il peso del cilindro inferiore pieno di materiale umido (B).

Collocare il cilindro inferiore, pieno di materiale umido, in una stufa a 105°C fino a peso costante.

Determinare il peso del cilindro inferiore pieno di materiale secco (C).

La determinazione della densità apparente è data dalla formula :

$$\text{Densità apparente (g/cm}^3\text{)} = (C-A) / V$$

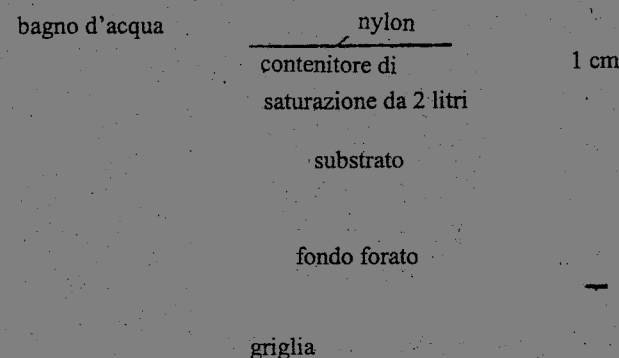


Fig. 3 - Preparazione del campione

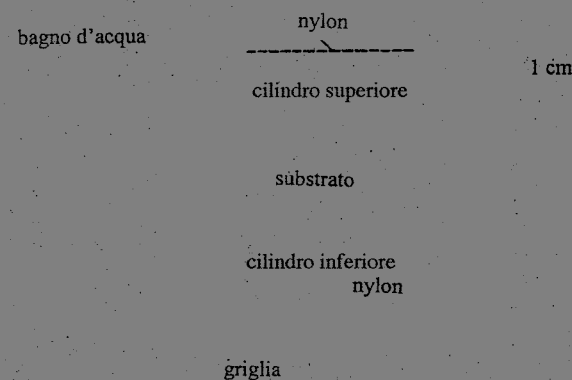


Fig. 4 - Saturazione del campione

F 2. DENSITA' REALE

Esprime il rapporto fra la massa sul secco dei costituenti solidi ed il volume reale occupato da essi. Per volume reale si intende solo il volume dei costituenti solidi e quindi sono esclusi i volumi degli spazi occupati dall'acqua e dall'aria.

Determinazione diretta

Apparecchiature

- Picnometro
- Essiccatore
- Pompa per il vuoto

Procedimento

- Si pesa il picnometro vuoto secco all'aria (P_v).
- Si introduce il campione (ca. 3g) e si pesa (P_s).
- Si aggiunge acqua deionizzata fino a sommergere il campione e si pone il picnometro ed un beaker contenente acqua deionizzata in un essiccatore.
- Con la pompa a vuoto si crea un vuoto di 10 cm di Hg per un periodo di circa 16-18 h per deaerare l'acqua.
- Si riporta a pressione ambiente lentamente.
- Con l'acqua di riserva degassata si riempie il picnometro fino a volume.
- Si pesa il picnometro chiuso ed asciugato esternamente (P_l).
- Si svuota il picnometro, lo si riempie con acqua deaerata e lo si pesa dopo averlo asciugato esternamente (P_w).

La densità reale è data dal calcolo:

$$DR \text{ (g/cm}^3\text{)} = \frac{d \text{ (} P_s - P_v \text{)}}{(P_s - P_v) - (P_l - P_w) \cdot f}$$

dove d = densità dell'acqua alla temperatura della misura

f = fattore che converte i dati ottenuti per il campione secco all'aria (P_u) in dati riferiti al campione secco in stufa (P_s)

$$f = \frac{P_u}{P_s}$$

Determinazione indiretta

La densità reale viene determinata per via indiretta attribuendo alle ceneri un peso specifico di 2,65 ed alle sostanze volatili un peso specifico di 1,55 secondo la formula:

$$DR \text{ (g/cm}^3\text{)} = [(Ceneri/100) \times 2,65] + [(sostanze volatili / 100) \times 1,55]$$

F 3. POROSITA' TOTALE

La porosità totale rappresenta il volume di un substrato non occupato dalla fase solida e quindi disponibile per le fasi liquida e gassosa. La porosità totale viene calcolata sulla base della densità apparente e la densità reale, applicando la seguente formula:

$$P \text{ (\%)} = [1 - (DA/DR)] \times 100$$

F 4. VOLUME DEL SUBSTRATO OCCUPATO DALL'ACQUA ALLA TENSIONE DI 10 cm (pF= 1), 50 cm (pF= 1,7), 100 cm (pF= 2)

Frazione del volume del substrato occupato dall'acqua, dopo che questo sia stato saturato completamente e poi sottoposto ad una tensione di 10 cm (pF= 1), di 50 cm (pF= 1,7) oppure di 100 cm (pF= 2).

La determinazione viene effettuata con la metodologia analitica riportata per la densità apparente regolando la tensione rispettivamente a 10 cm, 50 cm oppure a 100 cm di colonna d'acqua.

Il volume del substrato occupato dall'acqua alla tensione di 10 cm rappresenta la Capacità di Ritenzione Idrica (CRI).

La formula da applicare è la seguente:

$$V_{H \times cm} \text{ (\%)} = (B_x - C_x / V) \times 100$$

F 5. VOLUME DEL SUBSTRATO OCCUPATO DALL'ARIA ALLA TENSIONE DI 10 cm (pF= 1), 50 cm (pF= 1,7), 100 cm (pF= 2)

Frazione del volume del substrato occupato dall'aria, dopo che questo sia stato saturato completamente e poi sottoposto ad una tensione di 10 cm (pF= 1), di 50 cm (pF= 1,7) oppure di 100 cm (pF= 2).

La determinazione viene effettuata con la metodologia analitica riportata per la densità apparente regolando la tensione rispettivamente a 10 cm, 50 cm oppure a 100 cm di colonna d'acqua.

Il volume di aria alla tensione di 10 cm rappresenta la Porosità Libera o Capacità per l'aria.

Il valore del volume di aria si ottiene per differenza tra la porosità totale ed il volume di acqua al valore di pF considerato.

$$V_{A \text{ x cm}} (\%) = P - V_{H \text{ x cm}}$$

F 6. VOLUME DI ACQUA FACILMENTE DISPONIBILE

E' la misura della quantità d'acqua rilasciata dal substrato quando la tensione passa da 10 cm a 50 cm e rappresenta la frazione di acqua facilmente assorbibile dalle radici (E nella figura 5).

Il volume di acqua facilmente disponibile (AFD) si ottiene per differenza tra il volume di acqua a pF = 1 ($V_{H \text{ 10 cm}}$) ed il volume di acqua a pF = 1,7 ($V_{H \text{ 50 cm}}$).

$$AFD (\%) = V_{H \text{ 10 cm}} - V_{H \text{ 50 cm}}$$

F 7. VOLUME DI ACQUA DI RISERVA

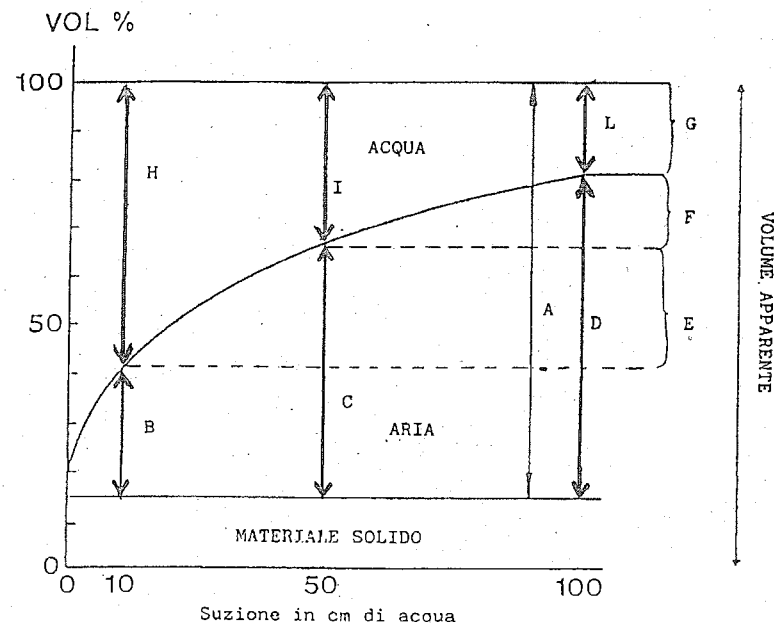
Rappresenta la quantità di acqua rilasciata dal substrato quando la tensione cui è sottoposto passa da 50 a 100 cm di colonna d'acqua (F nella figura 5).

$$AR (\%) = V_{H \text{ 50 cm}} - V_{H \text{ 100 cm}}$$

F 8. VOLUME DI ACQUA DIFFICILMENTE DISPONIBILE

Rappresenta la quantità di acqua presente nel substrato ma difficilmente disponibile per le piante (G nella figura 5).

$$ADD (\%) = V_{H \text{ 100 cm}}$$



- A = porosità totale = volume occupato dall'aria e dall'acqua
- B-C-D = volume occupato dall'aria alle tensioni di 10, 50, 100 cm di acqua
- H-I-L = volume occupato dall'acqua alle tensioni di 10, 50, 100 cm di acqua
- E = acqua facilmente disponibile
- F = acqua di riserva
- G = acqua difficilmente disponibile

Fig. 5 Curva di ritenzione idrica

F 9. VOLUME DEL SUBSTRATO

Rappresenta la massa del materiale tal quale per unità di volume apparente. Tale metodica analitica consente di quantificare il volume dei materiali nelle condizioni in cui pervengono in laboratorio. La conoscenza di tale dato risulta determinante per il controllo del volume dichiarato sull'etichetta delle confezioni o sui documenti di accompagnamento dei materiali commercializzati allo stato sfuso.

Apparecchiature

- Cilindro costituito da materiale rigido (metallo o altro materiale rigido), con diametro interno di 100 mm ed altezza di 127 mm (volume di 1 litro). Le dimensioni possono essere leggermente differenti, pur rispettando i rapporti tra le grandezze considerate (Fig. 6).
- Collare mobile, dello stesso materiale rigido del cilindro, con diametro interno di 100 mm ed altezza di 50 mm.
- Stantuffo con diametro di 95 mm e peso di 650 g. Per dimensioni differenti del cilindro il peso dello stantuffo deve risultare pari a 8.28 g/cm^2 .
- Imbuto mobile costituito dello stesso materiale rigido del cilindro, con apertura angolare di 30° rispetto alla verticale del cilindro, diametro interno superiore di 170 mm e diametro inferiore di 100 mm, altezza corrispondente a circa la metà di quella del cilindro.
- Setaccio di 200 mm di diametro con fori circolari di 20 mm, collocato su di un supporto indipendente in modo da risultare di 5 mm più alto del sistema cilindro-collare-imbuti.

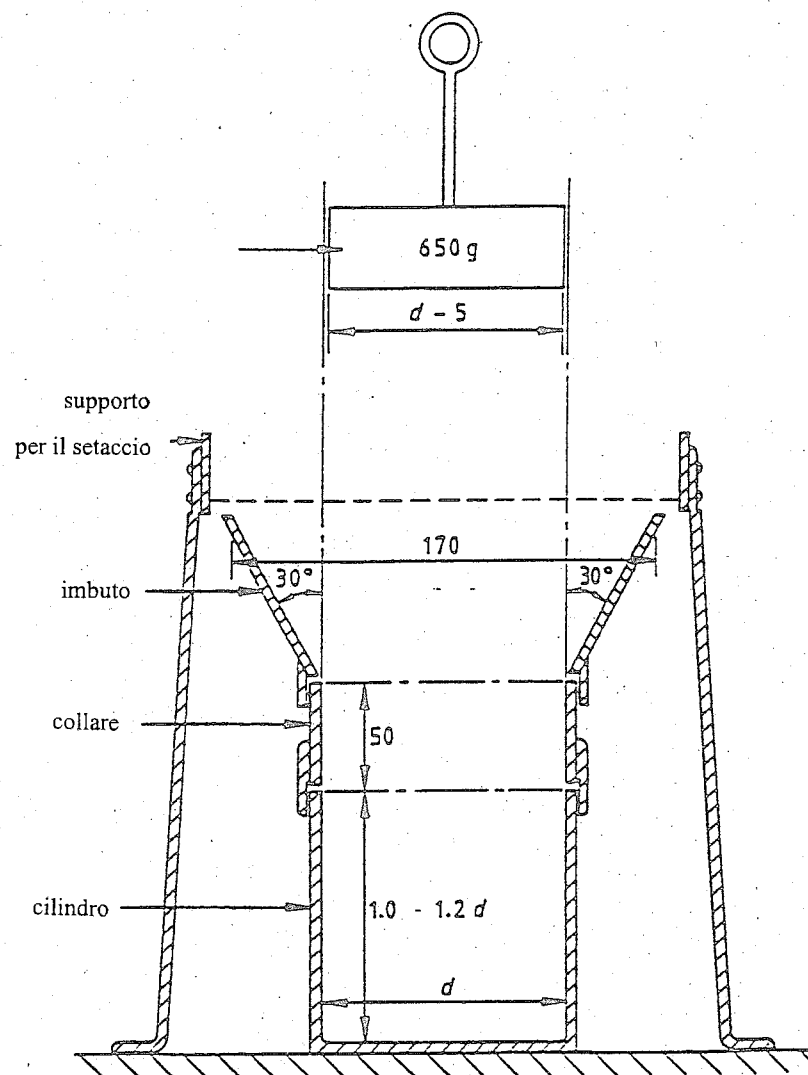


Fig. 6 - Apparecchiatura per la determinazione del volume del substrato

Procedimento

- Mescolare ed omogeneizzare manualmente il campione in modo da rompere e sminuzzare, in modo molto blando, eventuali zolle ed aggregati.
- Vagliare con il setaccio circa 5 litri di campione omogeneizzato. Tale vagliatura deve essere eseguita blandamente, evitando di agitare in modo troppo vigoroso il setaccio.
- Posizionare il setaccio sopra il sistema cilindro-collare-imbuto, in modo da sovrapporlo per circa 5 mm.
- Trasferire il campione, preventivamente omogeneizzato e vagliato, sul setaccio a più riprese ed agitare blandamente finché tutto il campione sia passato attraverso le maglie di 20 mm.
- Quando il cilindro ed il collare sono pieni, rimuovere il setaccio, collocare lo stantuffo delicatamente sopra il materiale e lasciarlo per 3 minuti.
- Rimuovere con delicatezza lo stantuffo ed il collare e livellare bene il campione, aiutandosi con una lama tagliente, in modo che il cilindro risulti ben pieno.
- Pesare il materiale contenuto nel cilindro.
- Ripetere l'operazione tre volte usando sempre materiale diverso.

Calcoli

Effettuare la media aritmetica delle 3 prove effettuate.

Determinare il peso per unità di volume del campione nelle condizioni in cui è pervenuto al laboratorio applicando la seguente formula:

$$PU = M / V_1$$

dove:

- PU = peso per unità di volume in g/cm³
M = peso medio in grammi delle 3 prove effettuate.
V₁ = volume in cm³ del cilindro.

Per verificare il volume della confezione o della partita di materiale sfuso occorre dividere il peso netto del materiale per il peso per unità di volume così determinato.

$$V = \text{peso} / PU$$

dove:

- V = volume in litri dichiarato sull'etichetta o sui documenti di accompagnamento del materiale sfuso.
Peso = peso netto in kg della confezione o della partita di materiale sfuso.
PU = peso per unità di volume in g/cm³ del campione.

Riferimenti bibliografici

- CEN / TC 223/ WI 00223069 - *Soil improvers and growing media - Determination of physical properties*. 15 August 1997.
- CASTELNUOVO M., C. CATTIVELLO, M. CENTEMERO, P. NAPPI, F. PINAMONTI (1997). *Proprietà fisiche e chimico-fisiche degli ammendanti organici*. Gruppo di Lavoro Compost, Commissione Tecnica Consultiva per i fertilizzanti (Art. 20 Legge 748/84).
- DECRETO MINISTERIALE 1° agosto 1997. *Approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi fisica del suolo"*. Supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale n. 204 del 2 settembre 1997.
- SISS (1985). *Metodi normalizzati di analisi del suolo*. Edagricole.

F 10. DETERMINAZIONE DELLA GRANULOMETRIA

Generalità

La determinazione della granulometria viene effettuata sia per verificare la rispondenza del compost ai requisiti della legislazione sui rifiuti e sui fertilizzanti, sia per valutare meglio la struttura fisica del compost come ammendante organico.

Apparecchiature

- Setacci a maglie quadre con le aperture di maglie previste (ad esempio 1 - 3,33 - 5 - 10 - 20 mm)
- Vibratore meccanico con interruttore automatico a tempi variabili in grado di portare in cascata fino a 5 setacci
- Scatola di raccolta e coperchio superiore.

Procedimento

Si dispongono i setacci delle caratteristiche volute in ordine decrescente con la scatola di raccolta in basso.

Si pesano su bilancia tecnica da 200 a 400 g del campione da analizzare, in funzione della densità del campione stesso; il livello di riempimento del setaccio deve comunque essere inferiore al 50%.

Si copre con il coperchio e si bloccano i setacci sulle apposite guide del vibratore.

Si sottopone a scuotimento per 10 minuti.

Si raccolgono poi quantitativamente le varie frazioni rimaste nei setacci e si pesano.

Calcoli

$$F \% = \frac{P_F}{P} \cdot 100$$

dove

$F \%$ = percentuale della frazione raccolta su un setaccio riferita al tal quale

P_F = peso in grammi della frazione di compost considerata

P = peso del campione in grammi

Riferimenti bibliografici

- MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE (1986).
Decreto ministeriale 24 marzo 1986 "Approvazione dei metodi ufficiali di analisi per fertilizzanti" - Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n° 180, 5 agosto 1986, 155-156.

F 11. CONTENUTO TOTALE IN PLASTICA E VETRO

La completa ossidazione della sostanza organica è evidenziata dall'assenza di effervescenza e normalmente richiede un tempo intorno alle 2 ore.

Il residuo viene trasferito su un setaccio con maglie quadrate di 1 mm di lato dove viene lavato più volte con acqua.

Il materiale non passante attraverso il vaglio è rappresentato da sabbia grossolana, vetro, plastica ed altri inerti; questo materiale viene essiccato in stufa a 105° C fino a costanza di massa.

Il materiale essiccato viene poi distribuito su una superficie liscia e piana e con adatte pinzette vengono manualmente separati i frammenti di vetro e di plastica.

Le frazioni di vetro e di plastica vengono infine pesate e la loro massa viene rapportata alla massa del campione secco iniziale.

La frazione vetro viene passata su un vaglio a maglie quadrate di 3,35 mm di lato; la frazione trattenuta dal vaglio verrà rapportata alla massa totale della frazione di vetro.

Calcoli

Contenuto totale in vetro:

$$V_T (\%) = \frac{P_V}{P_S} \cdot 100$$

V_T = contenuto in vetro nel campione (% sul secco)

P_V = peso del vetro raccolto

P_S = peso secco del componente iniziale

Contenuti in vetro con granulometria > 3,35 mm:

$$V_F \% = \frac{P_{V1}}{P_V} \cdot 100$$

V_F = percentuale di vetro con granulometria > 3,35 mm (sul vetro totale)

P_{V1} = peso del vetro raccolto con granulometria > 3,35 mm

Contenuto totale in plastica:

$$Pl_T (\%) = \frac{P_{Pl}}{P_S} \cdot 100$$

Pl_T = contenuto in plastica nel campione (% sul secco)

P_{Pl} = peso della plastica raccolta

Riferimenti bibliografici

-ISTITUTO AGRARIO PROVINCIALE DI SAN MICHELE ALL'ADIGE (1988).

Produzione ed impiego del compost da rifiuti solidi urbani e fanghi nel comparto agrario della Provincia Autonoma di Trento. Relazione della attività svolte nel 1988

F 12. DETERMINAZIONE DEL CONTENUTO IN VETRO NELLE FRAZIONI GRANULOMETRICHE

F 12.1 METODO DELL'INCENERIMENTO

Principio

Separazione in frazioni granulometriche. Distruzione della sostanza organica. Raccolta manuale del vetro.

Materiali

- Setacci con maglie quadrate di diversa apertura.
- Capsuline di porcellana o quarzo.
- HCl

Procedimento

1 kg di campione tal quale viene suddiviso in diverse frazioni con setacci aventi maglie quadrate di diversa apertura (1a frazione ≥ 3 mm; 2a frazione = 3-2 mm, 3a frazione = 2-1 mm).

Si determina l'umidità delle singole frazioni; per frazioni superiori ai 3 mm, si procede direttamente alla raccolta del vetro con le pinzette; per le altre frazioni si prelevano 3 campioni di circa 5 g e si inceneriscono in muffola a 650 °C per 4 ore per distruggere la sostanza organica.

Al termine dell'incenerimento si aggiungono ad ogni capsulina, contenente il campione, 5 ml di acido cloridrico concentrato per allontanare i carbonati presenti. Si sciacqua con acqua, abbondantemente, su setaccio con luce di 1,0 mm e, dopo una rapida essiccazione in stufa a 105 °C, si raccoglie manualmente il vetro con le pinzette. Si pesa e si determina la percentuale di vetro sulle singole frazioni.

Calcoli

Percentuale di vetro sulle singole frazioni:

$$V_F (\%) = \frac{P_V}{P_F} \cdot 100$$

V_F = contenuto in vetro nelle singole frazioni (% sul secco)

P_V = Peso del vetro raccolto

P_F = Peso secco del campione (riferito alla frazione considerata)

Contenuto totale in vetro:

$$V_T (\%) = \frac{\sum |V_F(\%) \cdot P_S(\%)|}{100}$$

V_T = contenuto in vetro nel campione (% sul secco)

V_F = contenuto in vetro nelle singole frazioni (% sul secco)

P_S = Percentuale delle singole frazioni (dall'analisi granulometrica).

F 12.2 METODO DELL'ACQUA OSSIGENATA

Il principio, il procedimento ed i calcoli sono simili al metodo precedente fatta eccezione per le modalità di distruzione della sostanza organica. Con questo metodo i campioni prelevati dalle singole frazioni vengono sospesi in 10 ml di acqua ossigenata 130 volumi per 2 h ed agitati saltuariamente. Successivamente si sciacqua su setaccio, si essicca e si raccoglie manualmente il vetro con le pinzette come riportato nel metodo precedente.

F 13. CONTENUTO IN PLASTICA NELLE FRAZIONI GRANULOMETRICHE

Principio

Separazione in frazioni granulometriche. Distruzione della sostanza organica. Raccolta manuale della plastica.

Materiali

- Setacci con maglie quadrate di diversa apertura.
- Beaker in vetro da 100 cc
- Acqua ossigenata 130 volumi

Procedimento

1 kg di campione tal quale viene suddiviso in diverse frazioni con setacci aventi maglie quadrate di diversa apertura (esempio: ≥ 10 mm; 10-5 mm, 5-3 mm; ≤ 3 mm).

Si determina l'umidità delle singole frazioni; per le frazioni con granulometria superiore ai 5 mm, si procede direttamente alla raccolta della plastica con le pinzette; per le altre frazioni si prelevano 3 campioni di circa 5 g e si sospendono in 10 cc di acqua ossigenata per 2 ore agitandoli saltuariamente.

Si sciacqua con acqua, abbondantemente, su setaccio con luce di 0,42 mm e, dopo una rapida essiccazione in stufa a 105°C, si raccoglie manualmente la plastica con le pinzette. Si pesa e si determina la percentuale di plastica sulle singole frazioni.

Calcoli

Percentuale di plastica sulle singole frazioni

$$Pl_F (\%) = \frac{Pl_P}{P_F} \cdot 100$$

Pl_F = contenuto in plastica nelle singole frazioni (% sul secco)

Pl_P = Peso della plastica raccolta

P_F = Peso secco del campione (riferito alla frazione considerata)

Contenuto totale in plastica:

$$Pl_T (\%) = \frac{\sum |Pl_F(\%) \cdot P_S(\%)|}{100}$$

Pl_T = contenuto in plastica nel campione (% sul secco)
Pl_F = contenuto in plastica nelle singole frazioni (% sul secco)
P_S = Percentuale delle singole frazioni (dall'analisi granulometrica).

PARAMETRI MERCEOLOGICI

Un corretto approccio ai problemi connessi alla gestione dei rifiuti solidi urbani presuppone una precisa conoscenza della quantità dei rifiuti prodotti e delle loro caratteristiche qualitative.

La conoscenza qualitativa di un rifiuto è una condizione necessaria ed indispensabile per poter scegliere in modo corretto il sistema di trattamento e/o smaltimento più valido (anche dal punto di vista ambientale), dimensionare opportunamente tale sistema, programmare iniziative di raccolta differenziata e verificare quelle esistenti.

Nel settore dei rifiuti solidi urbani e, parzialmente, in quello degli scarichi industriali ed agricoli, il Progetto Finalizzato Energetica del CNR, Sottoprogetto "Utilizzazione energetica dei rifiuti solidi" finanziò un'indagine volta a determinare la quantità e la qualità dei rifiuti prodotti.

Per i rifiuti solidi urbani sono stati effettuati censimenti in due fasi successive nel 1976 e nel 1979. L'indagine ha interessato circa 2.500 Comuni ed è stata riportata in un libro bianco pubblicato nel 1980.

Gli operatori del settore, per quanto riguarda i dati sulla qualità dei rifiuti, fanno attualmente riferimento ai valori pubblicati in tale libro bianco.

Negli ultimi dieci anni, però, i rifiuti sono cambiati sia quantitativamente che qualitativamente per i mutamenti che hanno interessato tutta la società, per cui risulta indispensabile disporre di dati aggiornati sulla qualità dei rifiuti.

A tale riguardo, l'IPLA ha effettuato una serie di indagini per l'acquisizione di nuovi elementi conoscitivi sulla caratterizzazione qualitativa dei RSU ed ha messo a punto una nuova metodologia per l'analisi merceologica che trae spunto dall'analisi del CNR, ma che si differenzia da essa per una più articolata determinazione delle diverse frazioni merceologiche e delle analisi chimiche ed è tesa all'individuazione di flussi omogenei con i diversi sistemi di smaltimento e recupero.

AM 1. ANALISI MERCEOLOGICHE RSU ED RSA

AM 1.1 Scelta del campione da sottoporre all'analisi merceologica

La prima fase dell'indagine è quella di individuare un campione di rifiuti sul quale effettuare l'analisi merceologica.

La difficoltà e la delicatezza di questa fase consiste nel prelevare un campione veramente rappresentativo dell'"universo" dei rifiuti che si vuole sottoporre ad analisi. La rappresentatività del campione deve tener conto della composizione merceologica, delle modalità di prelievo e delle variazioni qualitative e quantitative, legate a cicli settimanali e stagionali.

Il CNR indica, come campione, una massa di 3-4 t, costituente il carico di un automezzo il cui percorso di raccolta sia stato scelto come rappresentativo della composizione media dei rifiuti della zona presa in esame.

AM 1.2 Preparazione del campione rappresentativo

I rifiuti vengono pesati e scaricati sull'area adibita alle operazioni di inquartamento. Tale area deve essere asfaltata o cementata ed accuratamente pulita prima di sversare su di essa i rifiuti.

Come prima operazione da effettuare si separano dal cumulo gli oggetti ingombranti (pneumatici, scatoloni, mobiletti vari, materassi, elettrodomestici, ecc.) che possono intralciare la campionatura.

Gli ingombranti vengono ripartiti secondo le categorie di appartenenza, come specificato in seguito, ed accuratamente pesati.

Dopo questa prima selezione, si procede all'apertura dei sacchetti di plastica che contengono i rifiuti, mediante forche e coltelli.

AM 1.3 Inquartamenti

Quando tutti i sacchetti sono stati aperti e svuotati, si mescolano i rifiuti con una pala meccanica per ripartire su tutta la massa eventuali concentrazioni di rifiuti particolari.

Al termine del mescolamento, si distribuisce il quantitativo di rifiuti in modo da formare una "torta" il più possibile omogenea di altezza non superiore ai 50-60 centimetri.

Si procede quindi all'inquartamento individuando quattro quarti, mediante due fettucce colorate tenute a 90°, ed allontanando completamente, con pala e scopa, il materiale costituente due quarti opposti.

Il materiale dei due quarti rimasti viene rimescolato e ridistribuito per la formazione di una nuova torta.

Successivamente si sfalsano di 45° le due fettucce colorate rispetto ai tracciati precedenti ed i rifiuti di due quarti opposti vengono allontanati completamente come in precedenza.

La massa rimasta (circa un quarto di quella di partenza) viene rimescolata

nuovamente ed accumulata verso il centro; viene rifatta la torta ed un ulteriore inquartamento.

Partendo da una massa di rifiuti di 3-4 t, vengono effettuati normalmente due inquartamenti ognuno dei quali è costituito da due torte e riduce il rifiuto ad un quarto.

Al termine dei due inquartamenti (Figura 1) si ottiene un residuo di circa 200 kg che costituisce il materiale di riferimento per la valutazione della composizione merceologica.

AM 1.4 Analisi merceologica del rifiuto

Dopo aver pesato il campione prelevato, si procede all'analisi merceologica.

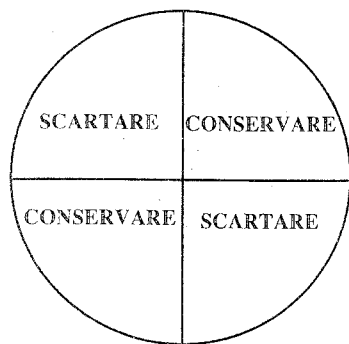
L'analisi comporta l'impiego di un vaglio vibrante a maglie quadre di 20 mm di luce.

Tutta la massa viene progressivamente disposta sul vaglio, raccogliendo il sottovaglio su di un telo di plastica; si procede contemporaneamente alla cernita manuale delle categorie merceologiche adottate.

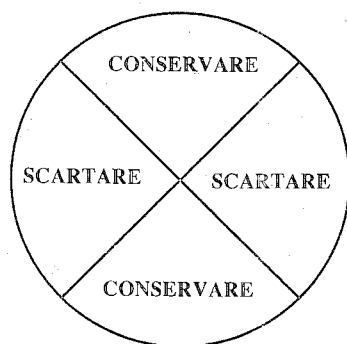
A conclusione di questa operazione si pesano i rifiuti appartenenti alle differenti classi.

METODICA DEGLI INQUARTAMENTI SUCCESSIVI

PRIMO INQUARTAMENTO

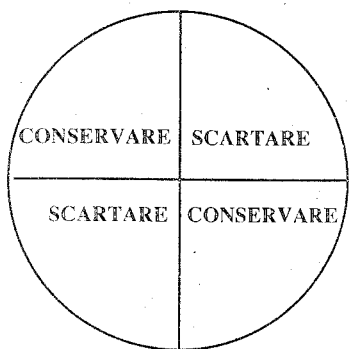


ALTEZZA 60 cm
PESO 3000 - 4000 kg

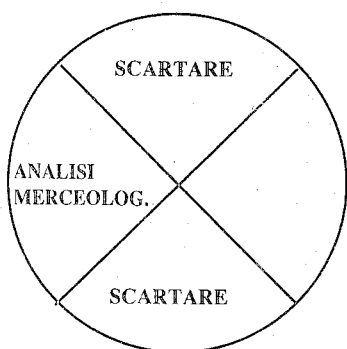


ALTEZZA 30 cm
PESO 1500 - 2000 kg

SECONDO INQUARTAMENTO



ALTEZZA 25 cm
PESO 750 - 800 kg



ALTEZZA 25 cm
PESO 350 - 400 kg

Fig. 1

Le classi merceologiche nelle quali viene ripartito il rifiuto sono 18:

- 1) Sottovaglio: tutto ciò che passa al vaglio di 20 mm ed è costituito essenzialmente da sostanze organiche e da inerti.
- 2) Vetro.
- 3) Altri inerti: fanno parte di questa categoria porcellana, ceramica, pietre, gessi, mattoni, ecc.
- 4) Metalli: questa categoria include materiali costituiti da ferro e da altri metalli escluso l'alluminio.
- 5) Alluminio: include lattine di alluminio ma anche fogli di alluminio in film come buste per le patatine, per il caffè, vaschette per alimenti, ecc.
- 6) Pile e Batterie: ad esclusione delle pile a bottone che solitamente passano nel sottovaglio.
- 7) Farmaci: confezioni con medicinali interi o parti di essi: di questa categoria non fanno parte i boccettini oppure i "blister" di Compresse vuoti.
- 8) Contenitori T e/o F: tutti i contenitori anche vuoti, di sostanze tossiche ed infiammabili.
- 9) Altri pericolosi: tubi fluorescenti, termometri, lampade a vapori metallici, siringhe, ecc.
- 10) Tessili: abiti, giacche, stoffe, ecc.
- 11) Pelli e cuoio: scarpe, cinture, giacche di pelle, ecc.
- 12) Plastica in film: buste e sacchetti di plastica, nylon (polietilene) da imballo sottile, ecc.
- 13) Contenitori in plastica: solo contenitori per liquidi, ad es. per il latte, l'acqua, le bibite, i detersivi.
- 14) Altra plastica: contenitori vari non per liquidi; plastica rigida per imballi, polistirolo ed altri poliespansi, oggetti in plastica dura in genere.
- 15) Organico putrescibile: alimenti, materiale organico di origine vegetale o animale.
- 16) Carta: carta e materiali cellulosici che possono essere assimilati quali ad esempio cotone idrofilo, assorbenti igienici, pannolini per infanti.
- 17) Cartone: cartone da imballo.
- 18) Legno.

Tutti gli oggetti misti ed accoppiati (carta e plastica, vetri con inserti metallici, plastica ed alluminio, ecc.) vengono inclusi nella categoria alla quale, a valutazione visiva, il peso del materiale di appartenenza superi il 50% del peso dell'oggetto stesso.

Alla conclusione delle operazioni di cernita manuale, si pesano i materiali appartenenti alle differenti categorie merceologiche e si riportano i pesi in una apposita tabella.

Alle quantità delle varie frazioni vanno aggiunte le aliquote, proporzio-

nali al peso del campione iniziale, dei rifiuti ingombranti accantonati prima delle operazioni di inquartamento.

Solitamente, soprattutto per effetto di una certa evaporazione del materiale durante la cernita oppure per la perdita di piccoli materiali, la somma dei pesi delle singole frazioni è inferiore al peso complessivo precedentemente determinato. In ogni caso le aliquote percentuali delle singole categorie vengono sempre calcolate con riferimento alla loro somma e non al peso iniziale.

Pertanto il peso totale (P_{tot}) del campione sarà dato da:

$$P_{tot} = C + B$$

dove C = sommatoria delle frazioni merceologiche

B = aliquota rifiuti ingombranti

Per quanto riguarda il contenuto in vetro, poichè con le operazioni di miscelazione ed inquartamento con la pala meccanica una buona parte di esso si frantuma e passa nel sottovaglio, occorre apportare la seguente correzione:

$$V_T = V_A + V_S$$

dove:

V_T = Vetro totale

V_A = Vetro selezionato dall'analisi merceologica manuale

V_S = Vetro presente nel sottovaglio (in % sul rifiuto tal quale)

Per ricavare V_S si deve moltiplicare il contenuto in vetro nel sottovaglio (V_{TS} , espresso in % sul tal quale), per la percentuale di sottovaglio determinate nella analisi merceologica (S_A):

$$V_S = V_{TS} \cdot S_A$$

In conseguenza di ciò occorre correggere anche il valore del sottovaglio, per determinare il sottovaglio totale (S_T):

$$S_T = S_A - V_S$$

Su alcune frazioni inoltre è possibile effettuare un'ulteriore suddivisione.

Ad esempio sul sottovaglio si possono effettuare analisi granulometriche suddividendo il materiale in differenti frazioni:

> 10 mm, 10-5 mm, 5-3 mm, < 3 mm.

Questa suddivisione permette, ad esempio, di separare la frazione del sottovaglio a granulometria più fine, che spesso risulta essere quella maggiormente inquinata da metalli pesanti.

Risulta importante differenziare il rifiuto in molte classi merceologiche perchè, solo in questo modo, è possibile conoscerne le diverse componenti e poter successivamente intervenire su di esso.

Le diverse classi merceologiche, inoltre, possono essere successivamente accorpate in gruppi omogenei, scegliendo come criterio di omogeneità quello derivante dalla tipologia di trattamento-smaltimento previsto.

Ad esempio, qualora l'analisi merceologica sia finalizzata al trattamento dei rifiuti in un impianto di riciclaggio (produzione di compost ed RDF), le classi merceologiche possono essere facilmente raggruppate in frazione compostabile, frazione combustibile, inerti e inquinanti.

Ne è un esempio lo schema di flusso indicato in figura 2, dove vengono riportate anche le modalità di preparazione di 5 diversi campioni di laboratorio per i quali sono indicati, seppure in modo approssimativo, i più significativi parametri analitici.

Per particolari esigenze, il numero di classi merceologiche può essere ulteriormente ampliato; è possibile, ad esempio, distinguere i contenitori in plastica in base al tipo di polimero (PET, PE, PVC, PP) oppure la carta riciclabile da quella non riciclabile.

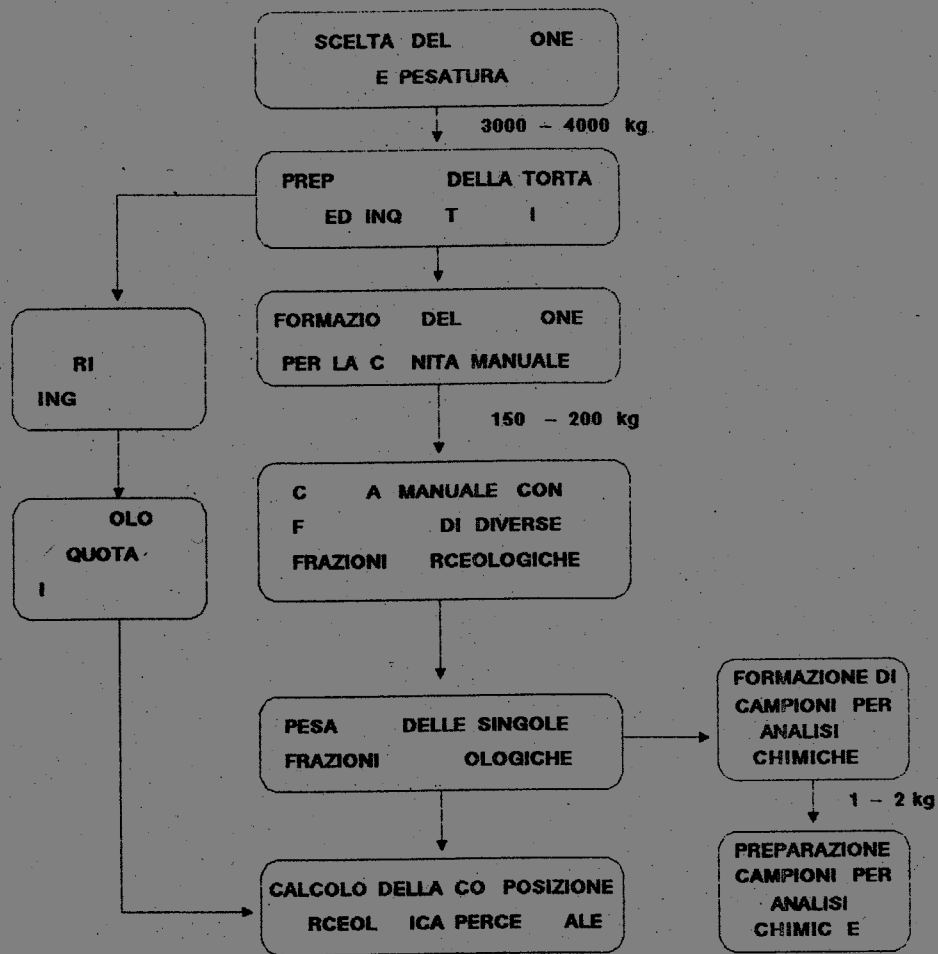


Figura 2 - Schema di flusso delle analisi merceologiche eseguite su campioni di rifiuti solidi di diversa provenienza.

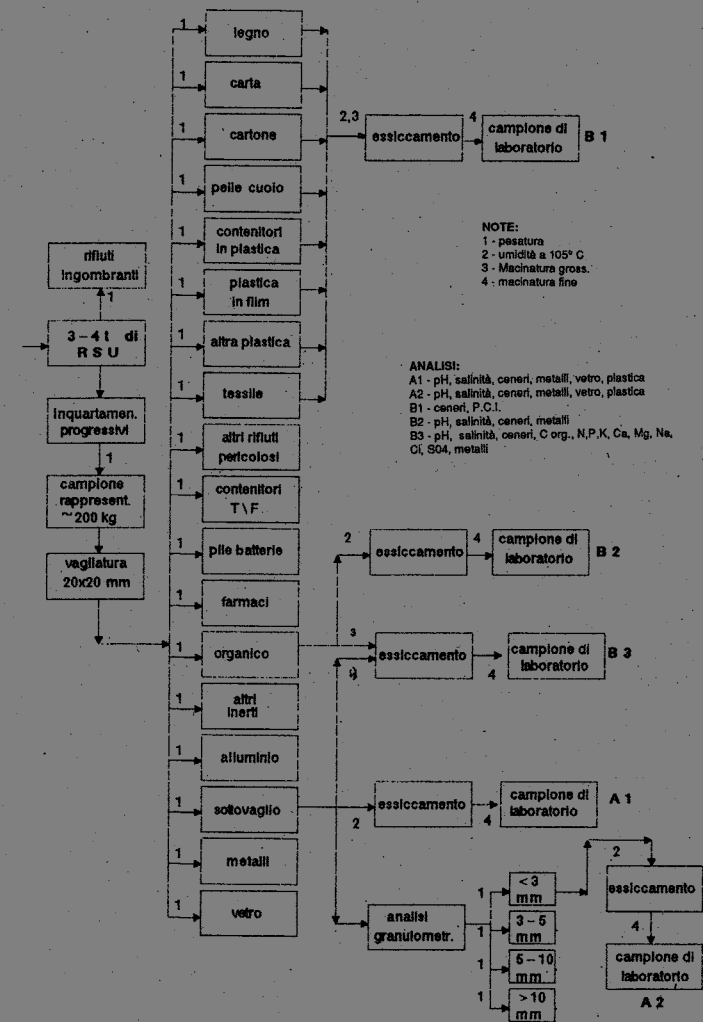


Figura 3 - ANALISI MERCEOLOGICA RSU - Schema di flusso dell'analisi merceologica e della preparazione dei campioni per le analisi chimiche.

AM 2. DETERMINAZIONE DEL POTERE CALORIFICO

La valutazione del potere calorifico di un rifiuto, o di una frazione merceologica derivata da un rifiuto, viene effettuata per determinazione calorimetrica diretta con bomba di Mahler.

Data la esiguità del campione da sottoporre ad analisi, è necessario che lo stesso abbia una granulometria inferiore ad 1 mm e sia stato omogeneizzato con molta cura.

Al fine di ridurre ulteriormente gli errori dovuti alla disomogeneità del campione, è bene fare almeno 5 ripetizioni per ogni campione.

Dalla determinazione calorimetrica si ottiene un potere calorifico inferiore secco (PCI_S) del campione.

Le formule per passare dal PCI_S al potere calorifico inferiore (PCI) di un rifiuto ad un determinato contenuto di umidità, e viceversa, sono le seguenti:

$$PCI = \frac{PCI_S \cdot (100 - U) - 597,5 \cdot U}{100}$$

$$PCI_S = \frac{100 PCI - 597,5 U}{100 - U}$$

dove:

PCI = potere calorifico inferiore del rifiuto ad una determinata umidità (kcal/kg)

PCI_S = potere calorifico inferiore del rifiuto sul secco a 105 °C (kcal/kg)

U = contenuto in umidità determinato a 105 °C (% sul tal quale)

Riferimenti bibliografici

- CNR (1980). *Indagine sui rifiuti solidi urbani in Italia*. PFE.LB 3 - Roma.

CRITERI DI QUALITÀ E PARAMETRI ANALITICI DI RIFERIMENTO

La produzione e l'utilizzo di compost derivati da rifiuti organici può fornire una corretta soluzione sia alla crescente carenza di sostanza organica nei terreni, sia al problema dello smaltimento della ingente quantità di rifiuti organici prodotti.

Sicuramente il compostaggio, soprattutto di rifiuti raccolti o conferiti in modo differenziato, è un sistema competitivo a livello economico ed ambientale rispetto ad altre forme di smaltimento (discarica, incenerimento).

La validità della scelta del "sistema compostaggio" è però legata alla capacità di collocare sul mercato il prodotto finale che, a sua volta, è strettamente correlata alla qualità del compost prodotto, cioè ad un basso contenuto di sostanze inquinanti, alla quantità ed alla qualità della sostanza organica contenuta nel compost, al suo grado di maturità e di stabilità.

La qualità di un compost deve essere valutata rispetto alle caratteristiche agronomiche, tra le quali è opportuno considerare le proprietà fisiche, rispetto alle caratteristiche ambientali, cioè ad un basso contenuto in sostanze inquinanti o comunque indesiderate, e rispetto alla stabilità del materiale ed alla sua compatibilità con le colture.

Le caratteristiche qualitative sono influenzate in misura determinante dalla qualità dei materiali di partenza e dalle modalità di conduzione del processo di compostaggio.

Q 1. Qualità dei materiali di partenza

E' possibile ottenere compost di buona qualità impiegando materiali idonei ed operando con una corretta tecnica di trattamento ed una adeguata attrezzatura impiantistica. La qualità dei materiali di partenza influenza in modo determinante la qualità del compost finale, in particolare per quanto riguarda le caratteristiche ambientali del compost stesso.

I rifiuti verdi, costituiti essenzialmente da sfalci, potature e foglie, sono sicuramente la frazione organica più pregiata tra quelle che, purtroppo, finiscono mescolate ai rifiuti solidi. La tecnologia di valorizzazione meglio utilizzabile per questi materiali è il compostaggio finalizzato alla produzione di un ammendante organico di alta qualità. I limiti qualitativi di questi rifiuti rispetto a tale utilizzo sono praticamente trascurabili. La composizione chimica di questi rifiuti, ed in particolare un C/N particolarmente elevato, può esser uno svantaggio per il compostaggio, qualora questi materiali vengano trattati da soli; è perciò consigliabile il co-compostaggio con altri rifiuti ad elevata matrice organica ricchi in azoto, quali fanghi di depurazione, scarti zootecnici e così via. In questo modo si abbreviano i tempi di trasformazione e si ottengono dei prodotti qualitativamente migliori da un punto di vista agronomico.

Esistono, come noto, determinate utenze (mercati, esercizi commerciali di generi alimentari, ristoranti, mense, caserme ed altre grandi utenze), diverse da quelle abitative, che producono quantità considerevoli di rifiuti ad elevata matrice organica sicuramente compostabili, caratterizzati dalla presenza di residui vegetali, alimentari e così via. Rifiuti della stessa tipologia possono inoltre provenire dalla industria agroalimentare, in special modo quella conserviera. La qualità di questi materiali è sicuramente elevata, anche se, in alcuni casi, possono dar luogo a compost leggermente contaminati da materiali inerti (plastica e vetro) o con elevato contenuto di sali solubili.

La raccolta dell'organico condotta presso utenze domestiche mediante l'introduzione di differenti contenitori è stata ormai sperimentata presso diverse realtà territoriali sia in Italia che all'estero. I risultati di queste esperienze hanno portato alla raccolta di un rifiuto costituito in modo fortemente prevalente da sostanza organica, con piccole quantità di plastica e vetro. La composizione media del rifiuto non differisce in modo sostanziale dall'organico proveniente da utenze selezionate; conseguentemente possono essere ritenuti validi i ragionamenti fatti precedentemente.

La possibilità di utilizzare nei processi di compostaggio i fanghi provenienti dalla depurazione delle acque reflue urbane ed industriali dipende ovviamente dalla qualità dei fanghi stessi, in particolar modo dal loro contenuto in metalli pesanti. In linea generale i fanghi di depurazione provenienti dall'industria agroalimentare, da quella cartaria e da alcune altre categorie produttive hanno contenuti di inquinanti molto limitati, possiedono una notevole costanza qualitativa e possono favorevolmente essere impiegati per la produzione di compost di elevata qualità, naturalmente in miscela con residui lignocellulosici in grado di fornire alla miscela la necessaria struttura.

Un discorso analogo può essere fatto per i fanghi urbani, purché provengano da scarichi solamente civili e siano sottoposti a frequenti controlli qualitativi.

Molti degli impianti di riciclaggio attualmente operanti in Italia prevedono il trattamento dei rifiuti solidi raccolti in modo indifferenziato e la separazione a valle della raccolta mediante cicli tecnologici più o meno complessi. Tutte le esperienze hanno portato a considerazioni sicuramente non positive sulla qualità della sostanza organica selezionata da questi impianti e sul compost da essa prodotto. Pur avendo avuto modo di porre a confronto diverse tecnologie e differenti livelli qualitativi di gestione, si è riscontrata una certa difficoltà nel raggiungere risultati tali da permettere al compost prodotto di rientrare nei limiti imposti dal DPR 915/82; nessuno di questi compost rientra nei limiti normalmente identificati per i compost di qualità. I parametri quasi sempre sotto accusa sono il vetro, la plastica ed alcuni metalli pesanti, primo fra tutti il piombo. Le motivazioni della scarsa qualità del compost sono prioritariamente da ricercare proprio nella cattiva qualità dei materiali di partenza, anche se alcuni errori tecnologici, processistici

e gestionali hanno ulteriormente compromesso il funzionamento di molti impianti.

Q 2. Criteri di qualità

La valutazione della qualità di un compost deve necessariamente considerare, oltre agli aspetti ambientali, anche quelli agronomici e quelli legati alla qualità e stabilità della sostanza organica.

Qualità ambientale

E' l'aspetto probabilmente più noto e più facilmente riscontrabile tra le caratteristiche qualitative dei compost, e riguarda la presenza di metalli pesanti, quella di materiali inerti ma indesiderati, come vetro e plastica, nonché il rischio di ritrovare agenti patogeni per gli animali e per le piante.

I limiti qualitativi stabiliti per i metalli pesanti, con particolare riferimento a cadmio, piombo, nichel, rame e zinco, non sono mai dettati dalla paura di effetti fitotossici dei metalli stessi, effetti che si potrebbero riscontrare solo a concentrazioni molto superiori a quelle trovate anche nei peggiori compost, quanto piuttosto alla necessità di preservare i terreni agricoli dall'apporto eccessivo di tali elementi, che hanno come caratteristica l'accumulo nel suolo. La tendenza chiara e generalizzata degli ultimi anni è verso la definizione di limiti molto restrittivi per i metalli pesanti, con particolare riferimento al piombo, al nichel ed al cadmio; tale tendenza è ormai ripresa da tutte le legislazioni europee che spesso arrivano a fissare dei limiti massimi inferiori alla stessa concentrazione media del metallo nel suolo, in modo da garantirsi contro l'accumulo del metallo stesso.

Un discorso analogo può essere fatto per il vetro e per la plastica, materiali praticamente inerti ma in grado di compromettere seriamente l'immagine di un compost; anche per questi parametri i limiti stanno diventando sempre più restrittivi.

Il terzo aspetto di qualità ambientale è legato alla possibile presenza, in compost non prodotti correttamente, di patogeni per gli animali e per le piante. Relativamente a questo, è stato ampiamente dimostrato che i compost prodotti correttamente sono sempre privi di agenti patogeni, anzi sono in grado di esercitare una azione repressiva nei confronti di alcuni fitopatogeni.

Molti studi hanno dimostrato una stretta correlazione tra la qualità dei materiali di partenza, le modalità di conduzione del processo ed i prodotti finali. La conclusione univoca di tali studi è che un compost di buona qualità si può produrre solo da matrici organiche selezionate in fase di raccolta, operando presso impianti di compostaggio che siano in grado di condurre il processo in condizioni sufficientemente controllate.

Qualità agronomica

Un secondo aspetto qualitativo del compost è legato alle sue proprietà agronomiche, ed in particolare al contenuto in macroelementi e microelementi ed alle proprietà fisiche che sono in grado di influenzare direttamente la crescita delle piante.

Il primo aspetto qualitativo agronomico riguarda la sostanza organica; i compost sono infatti degli ammendanti, e per esplicitare correttamente il loro ruolo devono essere ricchi di sostanze organiche umificate, simili alla sostanza organica presente nel suolo.

Per il contenuto in macroelementi, si fa in genere riferimento ad azoto, fosforo e potassio; la presenza di azoto varia in funzione del materiale di partenza ma, in un compost stabile, è quasi sempre compresa tra 1% e 2%, con un rapporto C/N compreso tra 10 e 20; il contenuto in fosforo ed in potassio è invece più variabile, anche se questi due elementi non sono quasi mai presenti nei compost in quantità molto rilevanti.

Tra i microelementi, meritano un cenno alcuni metalli pesanti, quali il manganese e lo zinco, e soprattutto va citato il boro, generalmente presente tra le 10 e le 30 ppm.

I compost inoltre sono molto spesso utilizzati come componenti di substrati e quindi tra le qualità agronomiche rivestono una considerevole importanza le proprietà fisiche; queste ultime rappresentano infatti una condizione essenziale per la crescita delle piante in quanto definiscono la capacità del substrato di fornire in modo adeguato acqua ed aria alle radici delle piante ed ai microrganismi del terreno.

Inoltre le caratteristiche fisiche rappresentano una condizione di base difficilmente modificabile nel corso della coltura come invece può avvenire per le disponibilità nutritive; pertanto, se il compost si propone come valido sostituto parziale della torba nell'allevamento in vaso, è indispensabile che abbia buone proprietà fisiche tali da garantire una ottimale crescita dei vegetali.

Tra i parametri che meglio definiscono le proprietà fisiche di un compost si può citare la densità apparente che è il rapporto tra il peso ed il volume apparente dove per volume apparente si intende il volume del substrato compresi gli spazi per l'aria e per l'acqua. Un'alta densità apparente significa, in termini pratici, un peso elevato in grado di diminuire i rischi di rovesciamento particolarmente insidiosi in piante con apparato epigeo molto sviluppato. I valori ottimali sono compresi nell'intervallo 0,15-0,50 g/cm³.

Le torbe, per la loro struttura insita, solitamente presentano valori di densità apparente particolarmente bassi mentre i compost detengono per lo più valori che rientrano nell'intervallo ottimale.

La porosità totale è un parametro molto importante per la caratterizzazione di un compost, in quanto rappresenta il volume non occupato dalla fase solida e quindi disponibile per le fasi liquida e gassosa. Risultano ottimali valori superiori all'80% in volume.

La porosità libera rappresenta invece la frazione della porosità totale occupata dall'aria. Si ritiene ottimale un valore superiore al 15% in volume.

Le torbe, com'è noto, presentano quasi sempre un'elevata porosità libera ed i compost, che al contrario spesso si caratterizzano per una bassa porosità totale e libera, possono costituire degli ottimi integratori alla torba andando a correggerne gli eccessi ed i difetti.

Per valutare la capacità di assorbire acqua e di rifornirla in modo adeguato alle radici delle piante, i parametri più rappresentativi sono la capacità di ritenzione idrica (che deve essere maggiore del 55% in volume) e l'acqua facilmente disponibile.

L'acqua facilmente disponibile rappresenta la quota di acqua prontamente assorbibile dalle piante ed i valori ottimali rientrano nell'intervallo 20-30% in volume.

Qualità della sostanza organica

La qualità biologica dei compost, ovvero il loro grado di stabilità, è un aspetto raramente considerato sia dai legislatori sia nella comune pratica agricola, benché tale aspetto rivesta, come detto nell'introduzione, una grande importanza nel valutare l'effettiva utilizzabilità del compost stesso.

L'utilizzo in agricoltura di materiali organici insufficientemente stabili e maturi può influenzare negativamente lo sviluppo delle colture; ne sono esempio l'applicazione di letame non maturo oppure il sovescio. Parimenti il compost non maturo provoca sovente una riduzione nello sviluppo delle piante a causa dell'immobilizzazione dell'azoto, dovuto ad un elevato rapporto C/N che comporta una competizione dell'azoto tra i microrganismi del suolo e le radici, oppure per tossicità da composti dell'azoto nel caso di un basso rapporto C/N.

Altri fattori che possono causare una inibizione nell'accrescimento sono la carenza di ossigeno per le radici, dovuta ad un eccessivo utilizzo di ossigeno da parte dei microrganismi metabolizzatori della sostanza organica, oppure la mancata degradazione di prodotti tossici denominati fitotossine che vengono prodotti normalmente nelle prime fasi della degradazione della sostanza organica e progressivamente metabolizzate nel corso dell'evoluzione dei prodotti durante il compostaggio.

Inoltre, quando un compost immaturo viene stoccato o insaccato troppo umido, può dar luogo ad una decomposizione di tipo anaerobico con accumulo di metano, alcool ed acido acetico, anch'essi tossici per le piante. In aggiunta compost non stabile può contenere concentrazioni di carbonio solubile tali da supportare la crescita di patogeni.

Al fine di valutare la stabilità dei compost, la letteratura mette a disposizione dei metodi chimici, tra i quali citiamo la determinazione delle sostanze umiche, e dei metodi biologici, quali i saggi di germinazione, accrescimento, respirazione e mineralizzazione dell'azoto.

La presenza di tanti metodi, chimici e biologici, per la valutazione della

maturità e della stabilità dei compost indica che non esiste un metodo unico che da solo possa dare una indicazione sicura; esistono infatti tanti parametri che sono utili ed attendibili per seguire l'evoluzione dei materiali nel corso del compostaggio ma che non riescono a caratterizzare ed a discriminare prodotti finali di origine diversa e sovente non nota.

Una corretta valutazione della stabilità su un campione di origine incognita presuppone dunque una valutazione integrata di diversi indici di stabilità.

Q 3. *Impiego agronomico*

In linea generale, gli impieghi del compost possono essere così riassunti:

- in pieno campo, con funzione di ammendante organico, in sostituzione totale o parziale del letame;
- in buca di piantagione;
- come materiale pacciamante;
- nel settore florovivaistico, come substrato, in sostituzione parziale della torba;
- nel recupero di aree degradate (cave, discariche, ecc.) ed altri impieghi.

Il compost, utilizzato come ammendante in pieno campo, viene di norma interrato negli strati più o meno superficiali del terreno utilizzando normali spandiletame; a seguito di tale impiego procura indubbi vantaggi agronomici sia su seminativi che su coltivazioni arboree.

Per quanto riguarda le colture erbacee ed ortive, la distribuzione viene effettuata in presemina o un preimpianto ed è possibile utilizzare prodotti grossolani con un contenuto in inerti relativamente elevato, ben dotati di sostanza organica e con un discreto tenore in elementi nutritivi. Il grado di maturazione della sostanza organica, infine, è funzione del periodo che intercorre tra la distribuzione del prodotto e la semina, per cui se il compost viene somministrato con un congruo anticipo dalla semina, è possibile utilizzare anche un materiale non completamente maturo.

Per le colture arboree il compost può essere utilizzato sia nelle concimazioni di fondo che precedono l'impianto, sia in quelle di produzione.

L'utilizzo del compost in buca di piantagione viene finalizzato principalmente al miglioramento delle condizioni nutrizionali delle piantine per facilitarne l'attecchimento e la crescita.

Affinché il compost possa essere impiegato in buca di piantagione, deve presentare un elevato grado di maturazione ed un buon contenuto in sostanza organica; la reazione dovrà essere neutra subacida, la salinità molto bassa e le sostanze fitotossiche assenti. Non sono richieste elevate dotazioni nutrizionali ed al contrario è sconsigliabile un elevato tenore di azoto mentre importanti risultano essere le proprietà fisiche del compost (porosità, capacità di ritenzione idrica, ecc.).

L'impiego del compost come materiale pacciamante è largamente diffu-

so in Nord America, in Inghilterra, nei paesi Scandinavi ed in alcune zone dell'Italia.

La pacciamatura consiste nella distribuzione localizzata del compost lungo il filare per una larghezza di 40-60 cm ed uno spessore di 5-8 cm; per alberi da frutto di grossa dimensione l'applicazione può essere effettuata sotto la chioma.

Fondamentalmente la pacciamatura con sostanza organica è legata all'espansione della tecnica dell'inerbimento permanente o temporaneo delle colture frutticole perenni quali vite, melo, pero, etc. per controbilanciare la competizione idrica che si può creare tra le erbe del cotico e la coltura principale. Tale tecnica viene generalmente impiegata, nelle zone che soffrono di un lungo periodo di siccità estiva, e per contenere lo sviluppo delle erbe infestanti al di sotto delle colture.

Un discorso a parte merita l'impiego del compost come substrato per colture florovivaistiche, in particolare per quelle in contenitore, verso le quali sempre più il settore si sta orientando. Sta aumentando infatti l'esigenza di disporre di substrati agronomicamente idonei, sicuri dal punto di vista fitosanitario, con costi per quanto possibile contenuti.

Il substrato maggiormente impiegato attualmente è la torba, la quale, accanto alle ottime caratteristiche chimico-fisiche, può presentare inconvenienti soprattutto in termini di garanzie fitosanitarie e di costo.

La possibilità di sostituire, anche parzialmente, la torba con altri materiali è quindi di grande interesse per i produttori florovivaistici.

Ampie sperimentazioni dimostrano che l'impiego di compost di buona qualità derivanti da rifiuti a matrice organica selezionati, utilizzati in miscela con basse percentuali di torba e inerti, consente di ottenere dei substrati di coltivazione con ottime caratteristiche agronomiche. Tali miscugli presentano infatti un'equilibrata capacità per l'acqua e per l'aria ed una buona capacità di scambio cationico.

Uno dei problemi più frequenti dell'impiego di compost come substrato tal quale è quello della salinità, che è generalmente piuttosto elevata rispetto alla torba. Questo aspetto può sconsigliarne l'impiego solo rispetto ad alcuni limitati utilizzi, quali la radicazione delle talee, in cui la fisiologia dell'elemento vegetale è particolarmente delicata.

Per contro, occorre evidenziare che in diverse sperimentazioni sono stati segnalati effetti repressivi verso alcuni patogeni fungini da parte di terricci costituiti parzialmente da compost. Si ricorda che con il termine di substrati repressivi si indicano quei terreni o quei substrati in cui le malattie causate da determinati funghi patogeni non sono riscontrabili o lo sono con lieve entità, nonostante i patogeni siano naturalmente presenti o artificialmente introdotti.

Per la produzione di sementi e di piante in contenitore, il compost deve risultare igienizzato, di granulometria fine, pienamente stabilizzato ed esente da fattori fitotossici, di bassa salinità e con un elevato contenuto di sostanza organica.

Utilizzato come substrato, il compost deve presentare buone proprietà fisiche (granulometria, densità, porosità, capacità di ritenzione idrica) e deve essere esente da semi vitali di erbe infestanti.

Sono da preferirsi quindi i compost ottenuti da una matrice prevalentemente ligno cellulosica ed è molto importante che i compost siano esenti da materiali inerti (soprattutto vetro), particolarmente per quelli derivanti dagli RSU, in relazione alla necessità di manipolazione di questi materiali.

Non è opportuno concimare substrati contenenti compost, sia perché esso già apporta quantità sufficienti di macro e microelementi, sia perché questa operazione aumenterebbe eccessivamente la salinità del substrato.

Q 4. Controlli e certificazione di qualità

Quando si parla di qualità con riferimento agli impianti di compostaggio, si pensa immediatamente alla qualità del compost prodotto ed alla sua corrispondenza o meno ai criteri qualitativi fissati dalle leggi comunitarie, nazionali e regionali, oppure da marchi di qualità di diverso livello.

Pur riconoscendo la grande importanza che riveste la qualità del prodotto finale, come ben precisato nei punti precedenti, una impostazione di questo tipo è sicuramente limitativa ed è probabilmente non più veritiera rispetto ad una categoria di produttori di compost che sta faticosamente cercando di qualificarsi, al pari di qualsiasi altra categoria produttiva, inserendo progressivamente nel proprio operare quotidiano dei concetti di qualità che vanno ben al di là della sola rispondenza del compost ai limiti legislativi.

I produttori di compost di qualità che vogliano essere identificati come aziende moderne, produttrici di un ammendante organico realmente collocabile sul mercato, devono avere ben presenti almeno due aspetti:

- = un efficace sistema di controllo di qualità interno all'impianto di compostaggio, che interessi le matrici in ingresso, l'andamento del processo ed il prodotto finito, è un elemento indispensabile per una corretta gestione dell'impianto ed è un elemento di trasparenza necessario verso i clienti, cioè verso gli utilizzatori del prodotto;
- = il controllo di qualità di cui sopra può essere propedeutico alla certificazione di qualità secondo le Norme ISO 9000, in una moderna ottica di un corretto rapporto contrattuale tra chi produce un bene e chi lo commercializza e/o lo utilizza.

Come già accennato, i controlli di qualità interni ad un impianto di compostaggio devono riguardare tutte le diverse fasi del processo produttivo, vale a dire:

- selezione dei fornitori di matrici compostabili e qualità delle matrici stesse;
- controlli durante il processo di compostaggio;
- controlli sul prodotto finale e rapporti con gli utilizzatori.

I suddetti controlli sono ovviamente collegati alla tipologia delle matrici trattate, in quanto risulta evidente che un impianto di compostaggio di soli

rifiuti verdi ha minori problemi rispetto ad un impianto che tratta fanghi urbani ed industriali e/o organico da utenze selezionate. E' bene però precisare che queste differenze si concretizzano in un diverso grado di approfondimento dei vari controlli, ma non autorizzano nessun gestore a tralasciare completamente una delle fasi di controllo sopra citate.

Tutto il sistema di controllo di qualità interno, registrato su schede, è sicuramente propedeutico per un passo successivo che, come scelta volontaria, il gestore dell'impianto può fare: la certificazione di qualità ai sensi della norma UNI EN ISO 9002.

In merito a ciò, un gruppo di lavoro promosso dalle Regioni Piemonte e Veneto e coordinato tecnicamente prima dall'IPLA e poi dall'ARPA di Torino e dal Centro Agrochimico di Castelfranco Veneto, ha predisposto "Linee guida per l'applicazione della Norma UNI EN ISO 9002 nelle aziende produttrici di compost da matrici organiche selezionate".

Il gruppo di lavoro ha progressivamente coinvolto un elevato numero di Enti pubblici, Istituti di ricerca, compostatori, associazioni degli agricoltori, ed ha progressivamente affinato il testo delle linee guida, approvate dalla AICQ (Associazione Italiana Controllo Qualità).

Lo schema delle linee guida segue quanto previsto dalla norma, applicandolo agli impianti di compostaggio in tutte le fasi di gestione dell'impianto stesso.

QUADRO NORMATIVO SULLA PRODUZIONE E SULL'IMPIEGO DEL COMPOST

L'attuale quadro normativo sulla produzione e sull'utilizzo di compost di varia natura è sicuramente complesso ed in continua evoluzione; in particolare, negli ultimi due o tre anni, esso ha vissuto in continua attesa di una chiara normativa statale che lo disciplinasse in modo univoco e, benché l'emanazione di tale disciplina sembrasse sempre imminente, hanno continuato di fatto a vivere situazioni legislative confuse e contraddittorie.

Proprio questa carenza legislativa è stato lo stimolo per la redazione di altri strumenti normativi o presunti tali, quali le norme UNI, i marchi di qualità ecologica (Ecolabel), i marchi di qualità creati da Consorzi di produttori, le certificazioni di qualità e via discorrendo. Di fatto, da alcuni anni i marchi di qualità e, in ultimo, la certificazione di qualità, stanno dimostrandosi dei validi supporti per garantire, sia a livello comunitario che nazionale, il raggiungimento di standard produttivi in grado di assicurare un buon fertilizzante organico, privo di ricadute ambientali negative.

Tuttavia queste iniziative hanno contribuito ad aumentare ulteriormente la grande confusione già preesistente, motivo per cui ogni analisi del quadro legislativo deve distinguere in modo molto netto le norme, comunitarie, nazionali o regionali, dai marchi di qualità di varia natura.

L'emanazione del Decreto legislativo n° 22 del 5 febbraio 1997, pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale il 15 febbraio 1997, così come modificato dal D. Lgs. 389/97, ha posto le premesse per la creazione di un nuovo quadro legislativo; il D. Lgs. n. 22/1997 è infatti una vera nuova legge-quadro nel settore dei rifiuti, e va ad abrogare sia il D.P.R. 915/1982, sia le più importanti leggi successive in materia [legge 441/87, legge 475/88,...].

Le norme tecniche attuative del D. Lgs. n. 22/1997, correlate con le ultime modifiche della legge 748/84 sui fertilizzanti, dovrebbero finalmente contribuire a chiarire in modo definitivo aspetti tecnici e limiti legati alla produzione e all'utilizzo del compost, superando le norme tecniche del D.P.R. 915/82.

Al momento della stesura di questo testo, le norme tecniche del D. Lgs. n. 22/1997 e quelle della legge 748/84 erano in avanzata fase di definizione; nei successivi capitoli si fa dunque riferimento alle bozze di tali norme così come erano al momento disponibili.

N 1. NORMATIVA SUL COMPOST

N 1.1. Normativa Comunitaria

Non esiste ancora una normativa dell'Unione Europea specifica per il compost, sebbene il trattamento mediante compostaggio venga ripreso in direttive che hanno per oggetto altri argomenti, quali i rifiuti, gli imballaggi, i fanghi, l'agricoltura biologica.

L'Unione Europea ha comunque inserito all'interno delle sue attività di ricerca la problematica relativa al compostaggio, con particolare riferimento allo studio ed alla promozione della qualità, alla convenienza economica ed alla sicurezza ambientale. Gli Stati membri hanno delegato ad un comitato di esperti nell'ambito della Commissione del CEN (Comité Européen de Normalisation) il compito di mettere in comune le conoscenze e le legislazioni dei vari Stati, al fine di individuare una chiara definizione di standard qualitativi e di raccomandazioni per una sicura commercializzazione del prodotto.

N 1.2. Normativa degli Stati Europei

Anche nei singoli stati europei la legislazione sul compost è piuttosto incompleta, ed è stata spesso scavalcata dai marchi di qualità. Riportiamo di seguito le principali norme europee vigenti, senza alcuna pretesa di essere completi ed esaustivi, ma puntando in particolare l'attenzione sui parametri di qualità ambientale previsti dalle varie norme.

In Germania l'unica normativa esistente che riguarda in qualche modo il compost, è la legge nazionale sui fertilizzanti; di fatto però, il mondo del compostaggio tedesco fa sempre riferimento non a questa normativa, ma ai marchi di qualità del RAL e dell'FBK, dei quali parleremo più avanti.

In Francia opera una legge nazionale del 13.07.1979 (U-44051) per i condizionatori organici del suolo; tale legge dà indicazioni sul contenuto di sostanze organiche e di azoto totale, sulla granulometria, sulla forma e origine del materiale grezzo, ma non vengono indicati limiti per gli eventuali inquinanti. Anche in questo paese esiste un marchio di qualità.

In Austria esistono diverse normative predisposte dall'Istituto Austriaco per gli Standard Industriali (Österreichisches Normungsinstitut), norme che sottolineano come la qualità del compost sia funzione della qualità dei rifiuti che vengono avviati al processo e della tecnica di trattamento adottata.

- ÖNORM S 2100 "Catasto dei rifiuti" del 1.03.1990: definisce i residui adatti al processo di compostaggio.
- ÖNORM S 2022 "Criteri di qualità per il compost da rifiuti" del 1.06.1989: stabilisce i requisiti di qualità del compost maturo.

- ÖNORM S 2023 "Metodi analitici e controlli di qualità del compost da rifiuti" del 1.10.1986. I compost che rispettano i limiti stabiliti da questo documento vanno sottoposti a controlli nelle varie fasi di produzione. L'impianto è sottoposto ad ispezioni periodiche.
- ÖNORM S 2024 "Linee guida per il corretto uso del compost da rifiuti" del 1.08.1987: stabilisce i limiti di caricabilità dei terreni, tenendo conto dell'intervallo di distribuzione negli anni e degli elementi di fertilità.
- ÖNORM S 2200 "Criteri di qualità per il compost da rifiuti selezionati" del 1991. Offre una classificazione del compost in tre gruppi a seconda del grado di maturità (A,B,C) e quattro classi in relazione ai livelli di contaminazione. Il compost di classe I (alta qualità) ha limiti rigorosi, ma nessuna restrizione all'uso. Il compost di classe II, ha restrizioni per l'uso. Quello di classe III viene utilizzato in settori limitati (es. per bio-filtri, barriere anti-rumore, opere anti erosione) ed è prodotto con matrici organiche di minor pregio. Il compost che rientra nella classe IV va conferito in discarica.
- ÖNORM S 2201 "Rifiuti biogeni idonei al trattamento di compostaggio", proposta di legge che fa riferimento alla ÖNORM S 2100 e stabilisce i requisiti di qualità per diverse classi di rifiuti compostabili.

Le norme S2023 e S-2024 sono state aggiornate riguardo ai limiti della quantità di metalli addizionabili al terreno (g/ha/anno) e dei metalli pesanti contenuti nei terreni(mg/kg ss).

La legislazione dell'Olanda ha come principale obiettivo la riduzione dell'inquinamento dei suoli da metalli pesanti ed arsenico; un decreto legislativo stabilisce i limiti di qualità (inerenti il contenuto di metalli pesanti) e di utilizzo, quali fertilizzanti, dei fanghi di depurazione, compost e "Black soil", cioè miscele di terreno con rifiuti organici. Nel caso del compost sono state individuate tre differenti tipologie: compost, compost pulito e compost molto pulito, con limiti sempre più restrittivi. E' possibile ottenere un compost di qualità solamente trattando RSU raccolti in modo differenziato o utilizzando gli scarti verdi; se vengono utilizzati fanghi di depurazione, si rientra nello standard di qualità dei fanghi.

Anche la normativa della Svizzera tende soprattutto a limitare la contaminazione dei suoli da metalli pesanti, mentre non ci sono restrizioni per i microinquinanti organici e per gli agenti patogeni. Il compost deve essere prodotto solamente da rifiuti fermentescibili provenienti da raccolte differenziate. Nel 1986, con una Ordinanza sulle sostanze pericolose per l'ambiente, il Consiglio Federale della Svizzera ha stabilito i criteri di applicazione di una serie di fertilizzanti e di additivi, tra cui i fanghi, i concimi aziendali (colaticci, letami e liquami), il compost e gli scarti vegetali, prescrivendo dei valori limite piuttosto bassi per il compost. Questa Ordinanza è stata

modificata nel 1992 con limiti ancora più restrittivi, stabilendo, tra l'altro, che i compost siano impiegabili in dosi non superiori a 15 t di s.s. ha⁻¹ per triennio, a condizione che gli apporti di N e P lo consentano. Gli impianti che trattano più di 100 t/a devono analizzare i compost seguendo i criteri stabiliti dalle Stazioni Federali di ricerca, tenendo un elenco delle quantità di compost consegnato, le sue caratteristiche e il fabbisogno medio. Gli utilizzatori possono usufruire del compost qualora dimostrino di farne uso seguendo le prescrizioni.

Ancora, un ordinanza del 1990 prevede che i Cantoni debbano sensibilizzare la popolazione, selezionando i rifiuti alla fonte e compostando i rifiuti vegetali, ove possibile, direttamente nei quartieri e nei giardini.

La Svizzera dispone di stazioni federali di ricerca agronomica grazie alle quali è stata pubblicata nell'88 una direttiva d'impiego, con limiti di qualità, per il compost di scarti di giardino e cucina. I limiti stabiliti da questa direttiva sono riportati in tabella. Sono state definite anche le quantità spandibili e il periodo di applicazione.

In Spagna la normativa sul compost prende in considerazione alcuni aspetti della sostanza organica e i limiti, molto ampi, per i metalli pesanti.

In Gran Bretagna il compost non è regolamentato; si hanno solo alcune indicazioni sui limiti massimi di metalli pesanti presenti nel terreno ed applicabili al terreno stesso nel "Code of practice" riguardante il compost derivante dal trattamento dei fanghi di depurazione. Esistono invece degli standard qualitativi fissati dal British Standard Institute (BSI).

In Danimarca l'Agenzia nazionale per la protezione dell'Ambiente ha fissato nel 1989 le linee guida di carattere generale per l'uso del compost a fine agricolo, ponendo, tra l'altro, dei limiti per i contaminanti nel terreno.

L'esame delle diverse normative internazionali mette in evidenza come si dia una grande importanza alla "qualità ambientale" del compost, cioè ai contenuti di sostanze potenzialmente inquinanti o comunque indesiderabili, mentre risultino piuttosto trascurate sia la "qualità agronomica", sia quella legata alla stabilità della sostanza organica. Sembra inoltre piuttosto evidente la tendenza a stabilire dei criteri diversificati in funzione delle varie tipologie di compost, spesso differenziati anche rispetto ai possibili riutilizzi.

Molti Stati escludono dall'applicazione delle norme i compost derivanti da rifiuti vegetali o da scarti alimentari se utilizzati per usi agricoli familiari, ritenendo ingiustificate le preoccupazioni per l'uso agricolo di questi materiali.

E' sicuramente individuabile una tendenza a definire dei limiti restrittivi, soprattutto come qualità ambientale, per i compost destinati ad essere utilizzati come ammendanti, senza alcuna restrizione sulle dosi e modalità di utilizzo; per contro, i compost di minore qualità ambientale devono

soggiacere a vincoli e restrizioni sulle possibilità di utilizzo, non ultima l'analisi preventiva dei suoli per verificare il rispetto di contenuti massimi di metalli pesanti. In alcuni casi, oltre al contenuto massimo di metalli nel suolo, è previsto anche un limite di caricabilità del suolo stesso rispetto ai metalli. E' inoltre evidente la volontà di molti Stati di definire le matrici compostabili, escludendo l'RSU raccolto in modo indifferenziato dalle matrici utilizzabili per la produzione di compost di qualità.

N 1.3. Normativa nazionale

Fino alla emanazione del D. Lgs. n. 22/1997 e, per gli aspetti tecnici, alla successiva emanazione delle diverse norme tecniche previste, il processo di compostaggio da rifiuti ed il successivo impiego di compost erano regolamentati in Italia dal DPR 915/82. Nelle "Disposizioni per la prima applicazione dell'articolo 4 del DPR 915/82, concernente lo smaltimento dei rifiuti" (Deliberazione 27/07/84) venivano definiti:

- il processo di compostaggio;
- le caratteristiche agronomiche richieste;
- i limiti di accettabilità per la tutela ambientale;
- le possibili utilizzazioni;
- le concentrazioni limite dei metalli nei terreni ed i limiti di quantità di metalli addizionabili annualmente con la somministrazione del compost;
- i metodi di campionamento ed analisi.

Anche la legge 748/84 sulle "Nuove norme per la disciplina dei fertilizzanti" prevedeva quali ammendanti organici naturali "composti maturi da residui urbani". Erano elencati molto schematicamente il modo di preparazione, titoli minimi in elementi e/o sostanze utili, indici granulometrici, elementi e sostanze utili il cui titolo deve essere dichiarato. La stessa legge lascia inoltre intravedere la possibilità di preparare alcuni concimi organo-minerali utilizzando materiali di risulta da soli o in miscela, previa integrazione con concimi minerali.

Dopo l'emanazione del D. Lgs. n. 22/1997 e delle nuove norme tecniche sui fertilizzanti, rimane per il compost la doppia normativa (ambientale e commerciale-agronomica) ma con una maggiore correlazione tra i limiti tecnici previsti dai competenti ministeri.

Il D. Lgs. n. 22/1997 classifica il compostaggio tra le operazioni di recupero di cui all'Allegato "C" del decreto stesso, e precisamente al punto

R3 - Riciclo/recupero delle sostanze organiche non utilizzate come solventi (comprese le operazioni di compostaggio e altre trasformazioni biologiche).

Non tutte le operazioni di compostaggio rientrano però tra quelle per le quali sono previste le procedure semplificate di cui agli artt. 31 e 33 del D.

Lgs. n. 22/1997; ad esempio, per i rifiuti solidi urbani, secondo quanto previsto dal comma 8 dell'art. 33, le disposizioni semplificate si applicano alla produzione di compost di qualità dai rifiuti provenienti dalla raccolta differenziata; non sono invece applicabili ad operazioni di compostaggio condotte su RSU non selezionato in fase di raccolta.

Nel caso non sia applicabile la procedura semplificata, l'iter autorizzativo prevede che, chiunque intenda realizzare un impianto di compostaggio (inteso come impianto di trattamento di rifiuti), deve ottenere l'approvazione del relativo progetto da parte della Regione o dell'Ente da essa delegato (art. 27 del D. Lgs. n. 22/1997). Il progetto deve essere approvato da apposite conferenze entro 120 giorni dalla data di presentazione. L'approvazione sostituisce, a ogni effetto, visti, pareri, autorizzazioni e concessioni di competenza di organi regionali, provinciali e comunali, e costituisce, ove necessario, variante dello strumento urbanistico generale. Ai sensi del DPR 24 maggio 1988, n° 203, chi intende realizzare un impianto di compostaggio deve ottenere dalla Regione (o dagli Enti da essa delegati) la prescritta autorizzazione. In molte Regioni, tra le quali il Piemonte, tale autorizzazione viene rilasciata congiuntamente a quella di approvazione dell'impianto.

Per la gestione degli impianti è inoltre necessaria l'autorizzazione all'esercizio, rilasciata dalla Regione o dall'Ente da essa delegato (art. 28 del D. Lgs. n. 22/1997).

Qualora sia possibile accedere alle procedure semplificate di cui agli artt. 31 e 33 del D. Lgs. n. 22/1997, l'autorizzazione è sostituita da una comunicazione preventiva da inviare alla provincia territorialmente competente, seguendo le modalità indicate negli articoli succitati e nelle norme tecniche attuative.

La procedura semplificata, ai sensi del comma 7 dell'art. 33 del D. Lgs. n. 22/1997, sostituisce l'autorizzazione di cui all'art. 15, lettera a) del D.P.R. n. 203/1988. Diversamente però dall'autorizzazione rilasciata ai sensi dell'art. 27 del D. Lgs. n. 22/1997, la procedura semplificata non costituisce variante allo strumento urbanistico comunale, né sostituisce altre autorizzazioni, pareri e concessioni regionali, provinciali e comunali.

Come per gli altri rifiuti recuperabili, la provenienza e le caratteristiche dei rifiuti, l'attività di recupero e le caratteristiche del prodotto ottenuto sono definite dalle norme tecniche emanate dal Ministero dell'Ambiente; per la qualità del compost finale, tali norme sono definite di concerto con il Ministero per le politiche agricole.

La nuova normativa in corso di emanazione prevede sostanzialmente due tipologie di compost:

1. *un compost di qualità*, prodotto da rifiuti raccolti o conferiti in modo differenziato, [rifiuti vegetali di coltivazioni agricole, segatura, trucioli,

frammenti di legno e di sughero, cascami e scarti di cotone, lino, iuta e canapa, cascami e scarti di lana e seta, deiezioni animali da sole o in miscela con materiali di lettiera, scarti di legno non impregnato, carta e cartone, frazione organica dei rifiuti solidi urbani raccolti separatamente, contenuto di prestomaci, rifiuti ligneo cellulosici derivanti dalla manutenzione del verde ornamentale, fanghi di depurazione con caratteristiche conformi a quelle previste nell'allegato IB del D. Lgs. n. 99/1992] avente caratteristiche qualitative molto restrittive ed utilizzabile senza vincoli diversi da quelli agronomici e commerciali definiti dalla legge sui fertilizzanti; la produzione di compost di qualità rientra fra le attività che possono accedere alle procedure semplificate;

2. *un compost di qualità inferiore*, prodotto dai rifiuti previsti per il compost di qualità e dalla frazione organica derivante dalla selezione dei rifiuti solidi urbani e assimilabili, ed utilizzabile su specifica autorizzazione e con prescrizioni. La produzione di questa tipologia di compost non rientra nella applicazione delle procedure semplificate.

I limiti qualitativi previsti per le due tipologie di compost, come si può vedere dalla tabella 3, sono ben differenti. Quelli per il compost di qualità, definiti nell'ambito della normativa sui fertilizzanti più avanti citata, sono molto restrittivi, ed in linea con le più severe disposizioni legislative europee; per alcuni metalli il valore massimo ammesso è inferiore ai valori spesso riscontrati in terreni agrari normalmente utilizzati. I limiti previsti per il compost di qualità inferiore sono invece molto meno restrittivi, con valori paragonabili a quelli definiti per il compost nelle disposizioni tecniche del D.P.R. 915/82; è bene però ricordare che le possibilità di utilizzo di questa tipologia di compost sono limitate sia dalla richiesta di autorizzazione, sia dalla necessità di una preventiva analisi dei suoli; per questo compost resta inoltre la dose massima utilizzabile, definita in 300 quintali ettaro per triennio.

Le norme tecniche del Ministero dell'ambiente prevedono anche dei criteri tecnici per la costruzione e gestione degli impianti e dei limiti, qualitativi (rispetto dei limiti del D. Lgs. 99/92) e quantitativi (massimo 35% p/p) per l'utilizzo dei fanghi.

Nel panorama normativo nazionale occorre ancora ricordare il Decreto Legislativo n° 99/92 (riguardante l'utilizzazione dei fanghi di depurazione in agricoltura) che, oltre a disciplinare l'utilizzazione agricola "diretta" dei fanghi trattati, prevede la possibilità di condizionarli al fine di facilitarne l'impiego. Da una prima lettura parrebbe quindi che il condizionamento comprenda le operazioni di compostaggio, e pertanto risolva a livello normativo almeno la fase di utilizzo agricolo dei fanghi compostati. Tuttavia bisogna distinguere i due processi: il condizionamento è operazione atta a

facilitare la fase di utilizzazione, mentre il compostaggio, pur comprendendo operativamente il condizionamento (quale è ad es. la miscelazione dei vari materiali), non ha come obiettivo prioritario la facilitazione delle operazioni di spandimento, bensì l'utilità agronomica per le colture (particolarmente evidente nel compostaggio di qualità). Pertanto l'ambito normativo del D.Lgs. n° 99/92 non coinvolge il compostaggio dei fanghi di depurazione.

Negli ultimi anni una Commissione Tecnica ha lavorato in sede del Ministero Agricoltura, (nelle sue varie denominazioni che si sono susseguite in questi anni) per la definizione dei limiti di accettabilità del compost come ammendante, ai sensi della Legge 748/84. Dal lavoro di tale Commissione è uscita una norma tecnica che propone quattro tipi di ammendanti:

- *l'Ammendante vegetale semplice non compostato* [prodotto non fermentato a base di cortecce e/o altri residui vegetali, come sanse, pule, bucce con esclusione di alghe ed altre piante marine] che, per definizione, non ha attinenza con i compost;
- *l'Ammendante compostato verde* [prodotto ottenuto attraverso un processo di trasformazione e stabilizzazione controllata di residui organici costituiti da scarti della manutenzione del verde ornamentale, residui delle colture, altri scarti di origine vegetale, con esclusione di alghe e altre piante marine] che, essendo ottenuto grazie al trattamento di materiali esclusivamente vegetali, rappresenta certamente un compost con elevati standard di qualità, non soggetto ad alcuna limitazione in fase di spandimento;
- *l'Ammendante compostato misto* [prodotto ottenuto attraverso un processo di trasformazione e stabilizzazione controllato di residui organici costituiti dalla frazione organica dei RSU proveniente da raccolta differenziata, da scarti di origine animale compresi liquami zootecnici, da residui di attività agroindustriali e da lavorazione del legno e del tessile non trattati, da residui analoghi, nonché dalle matrici previste per l'ammendante compostato verde] che, derivando dal trattamento effettuato sulla matrice organica degli RSU, sugli scarti di origine animale e su altri tipi di scarti da attività agroindustriali, compresi i fanghi come definiti dal DL 99/92, è soggetto a limitazioni in fase di spandimento sul terreno agricolo in funzione delle caratteristiche di quest'ultimo;
- *l'Ammendante torboso composto* [prodotto ottenuto da miscela di torba con ammendante compostato verde e/o misto], prodotto con gli stessi materiali dell'ammendante compostato misto, ma con un contenuto in torba minimo del 50%.

I limiti di qualità ambientale previsti per questi ammendanti sono stati definiti di concerto con il Ministero dell'Ambiente e con quello della Sanità.

Come si vede dai dati riportati nella tabella 3, i limiti previsti per i metalli pesanti sono estremamente restrittivi, soprattutto se rapportati con quelli del D.P.R. 915/82 o con quelli previsti per il compost di qualità inferiore utilizzabile su specifica autorizzazione.

Si fa inoltre rilevare che l'utilizzo della frazione organica dei rifiuti solidi urbani selezionata a valle della raccolta non è ammessa in nessuna delle tipologie di ammendanti organici previste da questa revisione della legge 748/84; l'utilizzo dei fanghi di depurazione è soggetto a limitazioni quantitative (massimo 35% p/p) e qualitative (rispetto dei limiti del D. Lgs. 99/92).

N 1.4. Le normative regionali

Considerato il perdurare di un clima normativo contraddittorio a livello nazionale, negli ultimi anni diverse Amministrazioni locali in Italia hanno messo in atto un processo di semplificazione delle procedure autorizzative agendo principalmente su due fronti: l'identificazione di parametri per la determinazione del compost di qualità e l'individuazione di una strategia per la promozione del compost verde.

L'identificazione di parametri di qualità (vedi tab.3, 4, 5), realizzata dalla Regione Piemonte, stabilisce che il compost, rientrando nei limiti di qualità da essa individuati, può essere utilizzato quale fertilizzante senza l'obbligo di analisi dei terreni sui quali deve essere impiegato; inoltre, con la legge regionale n°59/95, si prevede l'istituzione di una struttura deputata al riconoscimento di qualità del compost.

Già negli anni passati, nelle prescrizioni relative alla realizzazione ed all'esercizio di impianti di compostaggio, la Regione Piemonte aveva proposto dei valori di riferimento dei principali parametri chimici e biologici al fine di operare già secondo la logica della "doppia qualità" del compost. Si avevano così limiti di accettabilità per un impiego agricolo controllato (mediante vincoli autorizzativi e verifica degli effetti ambientali) e limiti di qualità per un compost di elevata qualità, per il cui impiego non è obbligatoria l'effettuazione dei controlli sul tenore in metalli pesanti dei terreni, pur permanendo le altre limitazioni imposte dall'attuale normativa.

Successivamente alla entrata in vigore delle normative sui residui, con il permanere di normative nazionali incomplete e contraddittorie, la Regione Piemonte, in attuazione anche di quanto previsto dalla L.R. n° 59/1995, ha emanato una delibera (D.G.R. n° 63-8317 del 29.04.1996) nella quale chiarisce quali sono le modalità autorizzative ed i criteri tecnici adottati per i nuovi impianti di compostaggio, distinguendo tra gli impianti che trattano la sola frazione verde, per i quali è prevista la semplice comunicazione, e gli

impianti che trattano fanghi e frazioni organiche selezionate in fase di raccolta, per i quali occorre invece l'autorizzazione.

Per i compost derivati dalla frazione verde è previsto il solo limite di 250 mg/kg per il piombo, oltre a quanto stabilito dalla legge 748/84; per gli altri compost devono essere rispettati i criteri qualitativi riportati nella tabella allegata.

La Lombardia, a sua volta, con la L.R. n.21/93, ha fornito i primi dispositivi per incrementare la raccolta differenziata dei rifiuti, prevedendo la raccolta di due categorie di rifiuti organici compostabili:

- rifiuti di provenienza alimentare collettiva, domestica e mercatale (C1);
- rifiuti vegetali derivanti da attività di manutenzione del verde pubblico e privato e scarti ligneo-cellulosici naturali, ad esclusione degli scarti di lavorazione del legno (C2).

Con i provvedimenti di attuazione della L.R. 21/93, ossia le Delibere della Giunta regionale n° V/51456 e n° V/40516 (in particolare la prima del 1994), la Lombardia ha incentivato il compostaggio della frazione organica degli RSU (classe C2) e stabilito i requisiti minimi per il compost; in questo modo il compost può essere liberamente commercializzato ed utilizzato in qualità di ammendante.

La Regione Veneto con la Delibera n. 4978/91 ha previsto, a titolo sperimentale, il libero impiego in agricoltura a condizione che il materiale, prima e dopo il processo di compostaggio, sia conforme a dei particolari limiti di qualità. Questi limiti per i materiali in uscita, sono dettati da parametri agronomici ed ambientali molto restrittivi, tali da escludere fenomeni di accumulo e/o inquinamento e permettere la libera commercializzazione del prodotto. La Giunta Regionale ha definito, quindi, i criteri per l'approvazione degli impianti di bioconversione (quelli che effettuano il trattamento dei materiali organici preselezionati) e le caratteristiche dei materiali in entrata.

Le Regioni succitate prevedono anche delle griglie qualitative di ingresso dei rifiuti agli impianti di compostaggio, avendo generalmente come riferimento i limiti per l'utilizzo agricolo dei fanghi.

E' bene ricordare che le normative regionali precedenti l'emanazione del D. Lgs. n. 22/1997 conservano il loro valore solo per le parti non in contrasto con la nuova normativa nazionale e comunque discendenti dall'applicazione di norme nazionali o regionali non abrogate dal citato D. Lgs.

N 2. MARCHI DI QUALITA'

N 2.1. La situazione europea

Le carenze legislative a livello comunitario ed a livello dei singoli Stati sono state il principale stimolo alla diffusione di marchi di qualità promossi sia da associazioni di produttori, sia da Enti normatori nazionali.

A livello di Comunità Europea, il problema del compost è stato affrontato nell'ambito del CEN (Comitato Europeo di Normazione); il Comitato Tecnico TC223 "Soil improvers and growing media", attraverso il suo gruppo di lavoro WG2, ha elaborato una proposta con i valori limite del contenuto in metalli pesanti.

Meritano inoltre un esame i marchi tedeschi, sicuramente i più noti, nonché quelli francesi.

I marchi di qualità europei

Nel 1989, in Germania, è stato istituito il BGGK-Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V. (Organizzazione Federale per il Controllo della Qualità del Compost), promosso dalle associazioni di produttori e consumatori, sotto l'egida del Ral (Ente per la Qualità) e del Ministero dell'Economia. L'Organismo Federale è coadiuvato dalle Organizzazioni Regionali la cui funzione principale è quella di eseguire i controlli interni ed esterni sugli impianti e sui prodotti. Nel gennaio del 1992 ha creato il sistema di certificazione del compost con il marchio RAL. I requisiti qualitativi e le prescrizioni imposte dal marchio RAL "Kompost" GZ 251 sono stati elaborati secondo i principi basilari della certificazione.

Per poter usufruire del marchio di qualità RAL "Kompost", ciascun produttore è sottoposto a controlli esterni continui, ad opera di organismi autorizzati; inoltre deve verificare personalmente la qualità del compost prodotto, documentando l'avvenuta igienizzazione del materiale e fornendo una dichiarazione che descriva le caratteristiche essenziali del prodotto ed i suoi componenti. Ulteriori indagini, non obbligatorie ma consigliate al produttore, riguardano il contenuto di umidità, la densità apparente, la salinità, il pH, la fitotollerabilità ed il contenuto di materiali estranei. Questi controlli vengono effettuati a garanzia del rispetto degli standard richiesti (Tabella 2).

Recentemente, in Baviera, si è costituita l'Associazione Produttori Bavaresi di Compost (FBK), per la creazione di un nuovo marchio di qualità, che, rispetto al RAL, ha limiti per i metalli pesanti ancora più restrittivi (soprattutto per Zn e Pb); l'intento è quello di presentare un'immagine positiva del compost agli agricoltori. Il marchio di qualità F.B.K. che, anche

in questo caso, viene concesso solo dopo numerosi controlli di processo e del prodotto in uscita, si applica sia al compost fresco sia a quello maturo. I compost certificati devono rispettare una composizione standard stabilita dall'Associazione (Tabella 2).

In Germania esiste inoltre il marchio di qualità LAGA [Landerarbeitsgemeinschaft Abfall] che stabilisce criteri di qualità e raccomandazione d'uso per i compost da RSU e fanghi di depurazione. Sono stati fissati limiti per i metalli pesanti non solo per il compost, ma anche per il suolo, così come sono definite le dosi massime di compost da applicare sul terreno.

In Francia, esiste fin dal 1986 un marchio di qualità "NF-compost urbain" creato dall'ANRED, oggi chiamata ADEME. Questo marchio riguarda i compost prodotti da RSU e, oltre ai limiti del marchio, devono essere rispettati anche i contenuti della già citata legge U44-051 del 1979. Nel 1993 l'ADEME ha poi creato un altro marchio di qualità per il compost verde, nell'ambito del progetto "Vegeterre".

In Gran Bretagna, il British Standard Institute (BSI) ha elaborato due standard che hanno in qualche modo attinenza con il compost: lo standard BS3882 si occupa di tutti i terreni di copertura utilizzabili; lo standard BS4156 riguarda la torba e definisce anche i parametri di qualità nonché le norme di campionamento e di analisi. E' inoltre da notare che un'organizzazione non governamentale, "the Soil Association" ha elaborato degli standard per il compost e per i suoli.

Il marchio di qualità ecologica (Ecolabel)

Con la Decisione della Commissione del 14/11/1994 la CEE ha stabilito i criteri per l'assegnazione del marchio comunitario di qualità ecologica (ecolabel) per gli ammendanti, che sono definiti come "materiali venduti per giardinieri non professionisti come prodotti di marca da aggiungere al terreno principalmente allo scopo di migliorarne le condizioni fisiche e/o biologiche senza provocarne effetti nocivi."

Il marchio di qualità ecologica può essere assegnato a un ammendante solo se esso deriva da trattamento e/o riutilizzo dei rifiuti (penalizzando così i substrati a base di torba che non potranno fregiarsi dell'ecolabel).

Vengono inoltre stabilite le quantità massime ammissibili di alcuni elementi chimici, di nutrienti, di agenti patogeni e di prodotti nocivi, superate le quali non può essere assegnato il marchio di qualità ecologica. In particolare sono molto stretti i controlli e i limiti sui metalli pesanti.

Le analisi e le metodologie delle prove devono essere conformi a quanto stabilito dalla direttiva 86/278/CEE. In assenza di metodologie accettate a

livello internazionale in materia di analisi fisica e microbiologica degli ammendanti, la scelta delle metodologie è di competenza degli Stati membri.

Per richiedere l'ecolabel bisogna rivolgersi al Comitato istituito con D.M. 413 del 2 agosto 1995 presso il Ministero dell'Ambiente, Sezione Ecolabel. Il costo dell'operazione si aggira sul milione di lire di costi fissi e (in caso di assegnazione del marchio comunitario), di un ulteriore costo dello 0,15% sul volume delle vendite effettuate in Europa.

N 2.2. La situazione Italiana

Anche in Italia, vista la situazione normativa non certo soddisfacente, vi sono state diverse iniziative che hanno tentato di sopperire alle carenze legislative e che comunque cercano di promuovere la produzione di compost di qualità elevata.

Tra queste citiamo il marchio di qualità del CIC (Consorzio Italiano Compostatori), le attività promosse dall'UNI (Ente Nazionale di Unificazione) e le iniziative di vari soggetti, prime fra tutte le Regioni Piemonte e Veneto, per arrivare ad un sistema di certificazione secondo le norme ISO 9002.

Il marchio di qualità del Consorzio Italiano Compostatori (CIC)

Il CIC è una associazione volontaria tra i produttori di compost di qualità che si è data delle severe regole di accettazione delle aziende produttrici ed ha creato un proprio marchio di qualità.

Il Regolamento per la qualità definito dal CIC prevede che la certificazione di qualità debba:

- rispettare i limiti di compatibilità ambientale previsti dalle leggi al fine di rientrare in un regime di libera commercializzazione;
- verificare il rispetto di ulteriori livelli di sicurezza ambientale mediante il rispetto di limiti massimi e l'applicazione di punteggi di merito per i metalli pesanti;
- istituire una certificazione della qualità agronomica differenziata per tipologia di prodotto.

L'attività dell'UNI (Ente Nazionale di Unificazione)

Prima ancora che il CEN si occupasse a livello europeo del compost, l'UNI aveva promosso un Gruppo di Lavoro, all'interno della Commissione Ambiente, che aveva elaborato nel 1993 una bozza di norma sul compost

[proposta U53.04.007.0], prevedendo la produzione di compost di due diverse tipologie, l'uno di qualità elevata, l'altro di qualità più scadente.

Tale norma prevede la libera commercializzazione del compost di più elevata qualità, ed un utilizzo più controllato dell'altra tipologia di compost, con limiti massimi di metalli nel suolo e limiti di caricabilità.

La bozza di norma UNI sta seguendo il suo iter di pubblica evidenza, e diventerà operativa in tempi brevi.

La certificazione di qualità

La Regione Piemonte, in linea con gli orientamenti comunitari, prevede comunque di dare importanza crescente ai sistemi di riconoscimento di qualità, operando nell'ambito dei controlli di qualità di processo e di prodotto di cui alle norme ISO 9000.

In tale ambito, in collaborazione con la Regione Veneto, la Regione Piemonte ha attivato, da alcuni anni, un programma per l'Organizzazione di un sistema di certificazione della qualità del compost; nell'ambito di tale programma è stato costituito un gruppo di lavoro che, sotto l'egida della AICQ (Associazione Italiana Controllo di Qualità) e coinvolgendo tutta la "filiera" del compost, cioè produttori di scarti compostabili, compostatori, utilizzatori finali, ha definito delle linee guida per la certificazione di qualità secondo le norme ISO 9002 per i produttori di compost di elevate caratteristiche agronomiche. Ferma restando cioè la possibilità di ogni azienda produttrice di compost di farsi certificare da un Ente terzo ai sensi delle norme ISO 9000, si vuole incentivare uno specifico sistema di certificazione del compost di qualità, all'interno del quale le caratteristiche del prodotto (cioè del compost) siano universalmente definite ed accettate da tutti i componenti della "filiera"; in sostanza deve essere consensualmente definito il livello qualitativo sia del compost sia delle procedure di autocontrollo, avendo come obiettivo la produzione di un ammendante organico privo di materiali inquinanti e ben accetto dagli utilizzatori.

Inoltre, oltre a promuovere a livello nazionale un sistema di certificazione di qualità del compost, la Regione, nella L.R. n° 59/1995 (art.22), ha riconosciuto all'IPLA il ruolo di attribuire a livello regionale il riconoscimento di qualità del compost.

Riferimenti bibliografici

- CASARIN, R. E. L. FRANZ (1993). *Aspetti normativi del compostaggio dei fanghi: la proposizione della regione Veneto. Atti del seminario "Compost di qualità: realtà e prospettive a confronto"*. Torino, 26 novembre 1993: 1-7.

- VISMARA R. E C. DARRIULAT (1994). *Normativa sul compost e sul suo impiego in agricoltura. In Ingegneria della trasformazione in compost*. Bari, 26-27 ottobre 1994, Ed. CIPA, 13-43

- ACCOTTO E., AZZARITI F., GLISONI M., TROMBETTA A. E T. VERCELLINO (1996). *La legislazione europea, nazionale e regionale su produzione ed uso del compost*. Acqua Aria, marzo 1996, 281-287

Normativa della CEE

- DIRETTIVA 86/278/CEE (1986). Protezione dell'ambiente, in particolare del suolo, nell'utilizzazione dei fanghi di depurazione in agricoltura, Comunità Europee, Gazz. Uff. delle Comunità Europee del 4/7/1986.

- COMMISSIONE CEE. (1944). Criteri per l'assegnazione del marchio comunitario di qualità ecologica. G.U.C.E. n. L364/21 del 31 dicembre 1994.

Normativa italiana

- DPR 10/9/1982 n. 915. Attuazione delle Direttive CEE n. 75/442 relativa ai rifiuti, n. 76/403 relativa allo smaltimento dei policlorodifenili e policlorotrifenili e n. 78/319 relativa ai rifiuti tossici e nocivi, in G.U. della Repubblica Italiana n. 343 del 15 dicembre 1982.

- DELIBERAZIONE 27/7/1984 del Comitato interministeriale di cui all'art.5 del DPR 915/82, - Disposizioni per la prima applicazione dell'art. 4 del Decreto del Presidente della Repubblica 10 settembre 1982, n. 915, concernente lo smaltimento dei rifiuti, in Supplemento ordinario n. 52 della G.U. della Repubblica Italiana n. 253 del 13 settembre 1984.

- LEGGE 19/19/1984 n. 748, Nuove norme per la disciplina dei fertilizzanti, in Supplemento ordinario n. 64 della G.U. della Repubblica Italiana n. 305 del 6 novembre 1984 e successive modificazioni ed integrazioni.

- DM 29/5/1991, Indirizzi generali per la regolamentazione della raccolta differenziata dei rifiuti solidi, in G.U. della Repubblica Italiana n. 136 del 12 giugno 1991.

- DL 27/1/1992 n. 99, Attuazione della direttiva 86/278/CEE concernente la protezione dell'ambiente, in particolare del suolo, nell'utilizzazione dei

fanghi di depurazione in agricoltura, in G.U. della Repubblica Italiana n. 38 del 15/2/1992.

- D.Lgs. 5/2/1997 n. 22 Attuazione delle direttive 91/156/CEE sui rifiuti, 91/689/CEE sui rifiuti pericolosi e 94/62/CE sugli imballaggi e sui rifiuti di imballaggio, in Supplemento ordinario n. 33 della G.U. della Repubblica Italiana n. 38 del 15 febbraio 1997.

Normativa francese

- AFNOR U44-051 (1981). Amendements organiques: dénominations et spécifications, Association Française de Normalisation (AFNOR) Paris.

- AFNOR NF-COMPOST URBAIN (1988). Règlement particulier de la marque, Association Française de Normalisation (AFNOR) Paris.

- AFNOR U44-041 Boues d'épuration, Association Française de Normalisation (AFNOR) Paris.

Normativa tedesca

- BUNDESGÜTEGEMEINSCHAFT KOMPOST (HRSG.) (1990). Kompost Gütesicherung - RAL-GZ 251, Bundesgütegemeinschaft Kompost e. V., Godesberger Allee 99, Bonn, gennaio 1992.

- RAL (Hrsg.) (1989). Grundlagen für die Umweltzeichen vergabe Bodenverbesserungsmittel / Bodenhilfsstoffe aus Kompost, RAL- UZ 45, Deutsches Institut für Gütesicherung und Kennzeichnung (RAL), Bonn, gennaio 1989.

- LAGA (Hrsg.) (1984). Qualitätskriterien und Anwendungsempfehlungen für Kompost aus Müll und Müllklärschlamm. Merkblatt 10 der Länderarbeitsgemeinschaft Abfall (LAGA), in: Kumpf/Maas/Straub, Müll und Abfallbeseitigung, Kennziffer 6856, Erich Schmidt Verlag, Berlin, gennaio 1984.

Normativa svizzera

- CONSIGLIO FEDERALE SVIZZERO (1986). Ordinanza sulle sostanze pericolose per l'ambiente, Giugno 1986.

- CONSIGLIO FEDERALE SVIZZERO (1992). Ordinanza sulle sostanze pericolose per l'ambiente: modificazione del 16 settembre 1992, Settembre 1992.

- CONSIGLIO FEDERALE SVIZZERO (1986). Ordinanza sugli inquinanti del suolo, Giugno 1986

- CONSIGLIO FEDERALE SVIZZERO (1981). Ordinanza sui fanghi di depurazione, Aprile 1981

- CONSIGLIO FEDERALE SVIZZERO (1990). Ordinanza sul trattamento dei rifiuti, Dicembre 1990

- UFFICIO FEDERALE PER LA PROTEZIONE DELL'AMBIENTE, STAZIONI FEDERALI DI RICERCHE AGRONOMICHE DI CHANGIS, LIEBEFELD, E WÄDENSWILL (1988). Direttive d'impiego e esigenze di qualità per il compost di scarti di giardino e di cucina, in Revue suisse Agric. 20 (6), 305-312, 1988.

Normativa austriaca

- ÖNORM S2100 (1990). Abfallkatalog, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, marzo 1990.

- ÖNORM S2024 (1987). Anwendungsrichtlinien für Müllkompost, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, agosto 1987.

- ÖNORM S2023 (1988). Untersuchungsmethoden und Güteüberwachung von Müllkompost, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, ottobre 1988.

- ÖNORM S2022 (1989). Gütekriterien für Müllkompost, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, agosto 1984 bzw. Entwurf 1989.

- ÖNORM S2200 (1991). Gütekriterien für Komposte aus biogenen Abfallstoffen, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, Draft - settembre 1991

- ÖNORM S2201 (1993). Kompostierbare biogene Abfälle Qualitätsanforderungen, Österreichisches Normungsinstitut (Hrsg.), Wien, Draft - maggio 1993.

Normativa britannica

- CODE OF PRACTICE FOR AGRICULTURAL USE OF SEWAGE SLUDGE (1989). Her Majesty's Stationery Office. ISBN n. 0117522562.

- SOIL ASSOCIATION Standards for Organic Agriculture, Available: Soil Association, 86 Colston Street, Bristol BS1 5BB, UK.

- BRITISH STANDARDS INSTITUTIONS (1989). Recommendation for peat, horticultural and landscape use BS 4156, BSI, London.

- BRITISH STANDARDS INSTITUTIONS (1992). Specification for environmental management systems, BS 7750, BSI, London.

- BRITISH STANDARDS INSTITUTIONS (1994). Specification for Topsoil and Topsoil Substitutes. BS 3882, BSI, London.

limitazioni internazionali e limitazioni marchi e norme - 2 elenchi

Parametro	Unità di misura	ECOLABEL	Germania RAL 152 ZG	Germania F.B.K.	Germania LAGA	G. Bretagna Soil Association	Francia ANRED/86 NF-compost	Italia Bozza UNI U53.04.007.0 I qualità	Italia Bozza UNI U53.04.007.0 II qualità	Italia CIC	CEN TC 223 WG2 draft 116
Umidità	% t.p.		<20	<20			<20	<20	<20	<45	
Carbonio org.	% s.s.										
Sostanza org.	% s.s.										
Rapporto C/N	% s.s.										
Vetri	% s.s.										
Inerti totali	% s.s.										
Arsenico totale	mg/kg s.s.	7	15	0,75	2,5	10	8	3	5	3	1,5
Cadmio totale	mg/kg s.s.	14	100	0,75	200	1000		150	400		150
Cromo totale	mg/kg s.s.	1	1	0,75	2	2	8	3	5		1
Mercurio totale	mg/kg s.s.	50	50	25	80	100	200	50	200	100	75
Nichel totale	mg/kg s.s.	140	150	75	250	250	800	150	500	170	150
Piombo totale	mg/kg s.s.	75	100	75	200	400		400	500	300	200
Rame totale	mg/kg s.s.	300	400	200	750	1000		800	1500	1000	500
Zinco totale	mg/kg s.s.										

Tabella 1 - Quadro legislativo europeo - limiti qualitativi per i compost

Parametro	Unità di misura	Austria S2022	Austria S2200 I	Austria S2200 II	Belgio veg. eduli	Belgio ornament.	Olanda compost	Olanda compost molto pulito	Spagna	Svizzera
pH	Unità di pH	7 - 8,5	25 - 50	25 - 50	6 - 8	6 - 8			<40	<60
Umidità	% t.p.	25 - 50	>12	>12	<45	<45			>25	>15
Carbonio org.	% s.s.	>9	>20	>20					>25	>25
Sostanza org.	% s.s.	>18			1	1	>20	>20	>1	
Azoto totale	% s.s.	>0,8								
Fosforo totale	% P2O5 s.s.	>0,4								
Potassio totale	% K2O s.s.	>0,3								
Rapporto C/N		15 - 25								<15
Vetri	% s.s.	<3 (>2mm)								
Plastiche	% s.s.	<3 (>4mm)								
Metalli	% s.s.	<0,5 (>6,3mm)								
Inerti totali	% s.s.	<3 (>11,2mm)	<0,5 (>2mm)	<0,5 (>2mm)						
Arsenico totale	mg/kg s.s.	4	0,7	1	5	5	15	5	40	1
Cadmio totale	mg/kg s.s.	150	70	70	150	200	1	0,7	750	100
Cromo totale	mg/kg s.s.	4	0,7	1	5	5	0,3	0,2	25	1
Mercurio totale	mg/kg s.s.	100	42	60	100	100	20	10	400	30
Nichel totale	mg/kg s.s.	500	70	150	600	1000	100	65	1002	120
Piombo totale	mg/kg s.s.	400	70	100	100	500	60	25	1750	100
Rame totale	mg/kg s.s.	1000	210	400	1000	1500	200	75	4000	400
Zinco totale	mg/kg s.s.									

Tabella 4 - Quadro legislativo europeo e nazionale: limiti dei contaminanti nel terreno

Stato	Legge	Arsenico As mg/kg s.s.	Cadmio Cd mg/kg s.s.	Cromo Cr III mg/kg s.s.	Cromo Cr VI mg/kg s.s.	Mercurio Hg mg/kg s.s.	Nichel Ni mg/kg s.s.	Piombo Pb mg/kg s.s.	Rame Cu mg/kg s.s.	Zinco Zn mg/kg s.s.
Austria	O-KS Verordn.		1	100		1	60	100	100	300
Francia			2	150		1	50	100	100	300
Germania	Kloke Bodengw.		3	100		2	50	100	100	300
Germania	LAGA		1,5	100		1	50	100	600	200
Gran Bretagna	Soil Association		2	150		1	50	100	50	150
Olanda			1	100			50	50	50	200
Spagna	Bodenschutzv.		0,5	30		0,5	15	40	40	100
Svizzera	DPR 915/82		0,8	75		0,8	50	50	50	200
Italia	D. Lgs. 99/92 fanghi	10	3	50	3	2	50	100	100	300
Italia	Min. amb. compost B		1,5	50	3	1	75	100	100	300
Italia	Bozza UNI	10	1,5	100		1	75	100	100	300
Italia			1,5			1,5	75	100	100	300

Tabella 3 - Quadro legislativo nazionale - limiti qualitativi per i compost

Parametro	Unità di misura	D.P.R. 91/5/82 Norme tecniche	L.N. 748/84 Ammendante composti verdi (proposta)	L.N. 748/84 Ammendante composti misto (proposta)	L.N. 748/84 Ammendante torboso composto (proposta)	Mir. ambiente composti con prescrizioni (proposta)	Reg. Piemonte DGR 63-83/17 29 aprile 1996	Reg. Veneto	Reg. Lombardia V5/1456/94 compost	Reg. Lombardia V4/0516/93 compost
pH	Unità di pH	6-8,5	6-8,5	6-8,5	6-8,5	6-8,5	5,5-8	5,5-8	<8,5	<8,5
Umidità	% l.q.	<45	<50	<50	<50	<45	<40	<50		
Carbonio org.	% s.s.	>20	>20	>25	>30	>20	>20	>25		
Sostanza org.	% s.s.	>40					>40	>25		
Azoto organico	% N tot.		>80	>80	>80			>1,5		
Azoto totale	% s.s.	>1								
Fosforo totale	% P2O5 s.s.	>0,5								
Potassio totale	% K2O s.s.	>0,4								
Rapporto CN		<20								
Ac. umici e fulvici										
Verifi <3,33 mm	% s.s.	<3	<50	<25	<50	<20	<20	<25	<30	<30
Verifi 3,33-10 mm	% s.s.		>2,5	>7	>7					
Plastiche <0,33 mm	% s.s.	<1	<0,9	<0,9	<0,9		<1			
Plastiche 0,33-10 mm	% s.s.		<0,1	<0,1	<0,1		<0,5			
Plastica e meriti >10mm	% s.s.		<0,45	<0,45	<0,45					
Metalli	% s.s.		<0,05	<0,05	<0,05					
Inerti totali	% s.s.	<0,5	assenti	assenti	assenti	<3				
Asenico totale	mg/Kg s.s.	10	1,5	1,5	1,5	20	2,5	5	5	5
Cadmio totale	mg/Kg s.s.	10				100	5	5	3	3
Cromo totale	mg/Kg s.s.	500	1,5	1,5	1,5	100	500	151	200	150
Mercurio totale	mg/Kg s.s.	10	1,5	1,5	1,5	10	2,5	3	2	2
Nichel totale	mg/Kg s.s.	200	50	50	50	300	150	150	100	50
Piombo totale	mg/Kg s.s.	500	140	140	140	750	350	300	170	200
Rame totale	mg/Kg s.s.	600	150	150	150	1000	500	300	300	200
Zinco totale	mg/Kg s.s.	2500	500	500	500	2500	1500	1250	1000	400
Cromo esavalente	mg/Kg s.s.	10	0,5	0,5	0,5	10				
Granulometria	mm	0,5-25				0,5-25				
Semi infestanti		assenti in 50g	assenti in 25g	assenti in 25g	assenti in 25g	assenti in 50g	assenti			
Salmonelle	UFC/g	assenti in 50g	100	100	100	assenti in 25g	assenti			
Coliformi fecali	MPN/g s.s.	assenti in 50g	1000	1000	1000	1000				
Streptococchi fecali		assenti in 50g				assenti in 50g				
Nematodi		assenti in 50g				assenti in 50g				
Tenacoli		assenti in 50g				assenti in 50g				
Cestodi		assenti in 50g				assenti in 50g				