

SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n.2

TITOLO: ANALISI ECO-FUNZIONALE DI PIANTE E TERRENO

Responsabile scientifico: STEFANIA PAPA

Settori Scientifico-Disciplinari di riferimento:

BIO/07

RADoR: STEFANIA PAPA

Tipologia: ECOLOGICO/BIOLOGICO

Gruppi afferenti: ECOLOGIA E BIODIVERSITÀ DEGLI ECOSISTEMI TERRESTRI (ECOBET)

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

- piano rialzato del corpo A del DiSTABiF (locale 2A20.2)
- dimensioni: 33,3 m².
- n. 6 postazioni di lavoro

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

- Misura dell'evoluzione di CO₂ in matrici vegetali e terreno
- Misura della biomassa microbica del suolo
- Misura di attività enzimatiche in matrici vegetali e terreno
- Preparazione di matrici ambientali (biota e terreno) per successiva analisi elementare mediante CHNS
- Mineralizzazione di matrici ambientali per successiva analisi mediante spettrometria ad assorbimento atomico per analisi metalli

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DEL CICLO DI LAVORO E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. Misura dell'evoluzione di CO₂ in matrici vegetali e terreno

Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione, mascherina FFP2).

Per la respirazione si pesano 20 g di campione in un beaker e si posiziona il beaker sul fondo della fiasca. Si pipettano 4 mL di NaOH nel recipiente di plastica che viene riposto nell'interno della fiasca adiacente al beaker con il campione. Si chiude immediatamente il tappo a vite e si accerta che la fiasca sia chiusa ermeticamente. Si incubano tutte le fiasche a 25°C per un periodo massimo di 3 giorni. Al termine dell'incubazione si aprono le fiasche, si preleva il recipiente con NaOH, si aggiungono 8 mL di BaCl₂ e tre o quattro gocce dell'indicatore fenolftaleina. Si titola il contenuto del recipiente con HCl fino al viraggio dal colore rosa al bianco neutro.

2. Misura della biomassa microbica del suolo

Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione, mascherina FFP2).

Per la determinazione della biomassa con il metodo della fumigazione incubazione si mantiene il campione di suolo in una atmosfera di cloroformio per 20-24 ore, al buio ed a 25°C. Si introduce in un ampio essiccatore un beaker di vetro con 30-40 g di ogni campione di suolo fresco aggiustato al 50% della capacità di ritenzione idrica. Sul fondo dell'essiccatore viene messo un beaker contenente circa 50 mL di CHCl₃ per cromatografia e qualche pallina anti-ebollizione. Viene successivamente azionata la pompa da vuoto per 1min. I campioni vengono incubati per 20-24 ore al buio e a 25°C. Dopo si apre l'essiccatore, si rimuove il beaker con il CHCl₃ e, sempre con la pompa da vuoto, si effettuano 8 evacuazioni di 2 min ciascuna. I

campioni vengono incubati insieme ad un beaker con 4 mL di NaOH ed uno con 4 mL di acqua in una camera termostata a 25°C. Dopo 10 giorni, si aggiungono 8 mL di BaCl₂·2H₂O nei beakers contenenti la soda e si procede alla titolazione della soda residua con HCl.

3. Misura di attività enzimatiche in matrici vegetali e terreno

Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione, mascherina FFP2).

I principi dei metodi consistono nel determinare spettrofotometricamente il prodotto della reazione rilasciato quando il suolo è messo ad incubare con soluzioni tamponate. Sali e altre sostanze necessarie, che variano a seconda dell'attività enzimatica specifica, vengono pesati su bilancia analitica per la preparazione delle soluzioni. Si utilizza il pH-metro per verificare e correggere il valore di pH in base alle esigenze. Le soluzioni vengono messe a reagire con i campioni e poi dopo opportuni tempi di reazione in bagno termostatico oscillante i campioni vengono trasferiti in cuvette monouso per la lettura allo spettrofotometro presso lo studio della prof.ssa Papa.

4. Preparazione di matrici ambientali (biota e terreno) per successiva analisi elementare mediante CNS

Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione).

Le diverse matrici ambientali vengono seccate in stufa e poi polverizzate mediante Fritsch Pulverisette (type 00.502, Oberstein, Germany). Aliquote di circa 10 mg del materiale polverizzato vengono trasferite in capsule di stagno con l'aggiunta di anidride tungstica (3 mg) per l'analisi di carbonio, azoto e zolfo totali al CNS.

Per l'analisi del carbonio organico, aliquote di terreno vengono seccate in stufa e poi polverizzate mediante Fritsch Pulverisette (type 00.502, Oberstein, Germany). Circa 10 mg del terreno polverizzato vengono trasferiti in capsule di argento e portati sotto cappa chimica dove vengono posti su piastra riscaldante a 60°C ed in ognuno vengono aggiunti 5µl di HCl finché non termina l'effervescenza. Dopo averli lasciati seccare all'aria sotto cappa chimica per 24 ore le capsule vengono chiuse per l'analisi successiva al CHNS presso il laboratorio CIRCE del DMF.

5. Mineralizzazione di matrici ambientali per successiva analisi mediante spettrometria ad assorbimento atomico per analisi metalli

Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione, visiera di protezione, mascherina). I campioni da sottoporre ad analisi ad assorbimento atomico vengono pesati in vessel e poi trasferiti sotto cappa chimica per l'aggiunta degli acidi. L'attacco acido cambia a seconda della matrice. Generalmente ne vengono utilizzati tre: 6 mL di HNO₃ e 2 mL di H₂O₂; 6mL HNO₃ e 2mL HF; 6mL HNO₃ e 2 mL HCl. Successivamente ogni vessel, chiuso con il tappo di protezione, viene alloggiato nella griglia di protezione e fissato a questa con una chiave dinamometrica. Dopo il ciclo di mineralizzazione i vessel vengono posti a raffreddare sotto un flusso costante di acqua corrente per 30min e poi trasferiti nuovamente sotto cappa chimica. Ciascun vessel viene aperto utilizzando la chiave dinamometrica e il campione mineralizzato viene portato a volume (50mL) per la successiva lettura all'assorbimento atomico presso il laboratorio CIRCE del DMF.

PRIMA DELL'UTILIZZO DEL MINERALIZZATORE

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore.
- Indossare i DPI necessari (camice da laboratorio, guanti di protezione, occhiali di protezione, visiera di protezione, mascherina per vapori acidi).
- Assicurarsi che i liquidi di scarto siano convogliati in tanica di raccolta.
- Assicurarsi che i vessel siano alloggiati in modo corretto nella griglia di protezione e sulla base di alloggiamento per la chiusura ermetica con la chiave dinamometrica.
- Assicurare un adeguato ricambio d'aria nel locale.

DURANTE L'UTILIZZO

- Verificare il corretto avvio delle analisi.
- Non intervenire di propria iniziativa sui componenti della strumentazione e non manomettere parti della strumentazione.
- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti al Responsabile delle Attività (RADoR).

DOPO L'UTILIZZO

- Spegner la strumentazione, procedere a pulizia superfici interne e a riordino banco di lavoro.
- Svuotare la tanica di raccolta degli scarti quanto presenti liquidi per una frazione compresa fra $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ dell'intero volume del contenitore.
- Conservare le taniche degli scarti sotto cappa per il solo tempo indispensabile alle esigenze del laboratorio; trasferire poi all'interno del deposito temporaneo per rifiuti pericolosi in attesa dello smaltimento seguendo le procedure indicate dal RADoR.

LISTA DELLE ATTREZZATURE PRESENTI:

1. Centrifuga 5804 (Eppendorf)
2. Centrifuga PK120 (ALC)
3. Bilancia analitica a 3 cifre decimali
4. Bilancia analitica a 4 cifre decimali
5. pH-metro
6. piastre riscaldanti/agitanti n.2
7. stufa n.2
8. Vortex
9. Essiccatore n.2
10. Pompa da vuoto
11. Bagno termostatico oscillante
12. Mineralizzatore (Digestor/Dryng Module MLS 1200 Milestone)

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE GENERALE (DPG):

1. Cappa chimica (MOMOWORK ECOAIR120 TIRAGGIO EXT)

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI (DPI) AD USO PERSONALE DEGLI OPERATORI:

- Occhiali di protezione
- Guanti in nitrile e in lattice (varie misure)
- Visiera di protezione
- Mascherine FFP2

Categorie ISI WEB di riferimento:

Ecology, Environmental Sciences, Plant Science, Soil Science.

Categorie ERC di riferimento:

- **PE10 Earth System Science**
 - ✓ PE10_4 Terrestrial ecology, land cover change
 - ✓ PE10_9 Biogeochemistry, biogeochemical cycles, environmental chemistry
 - ✓ PE10_17 Hydrology, hydrogeology, engineering and environmental geology, water and soil pollution
- **LS8 Environmental Biology, Ecology and Evolution**
 - ✓ LS8_12 Microbial ecology and evolution
- **LS9 Biotechnology and Biosystems Engineering**
 - ✓ LS9_12 Ecotoxicology, biohazards and biosafety

SCHEDA DI SICUREZZA