

Commessa # 4782/T4

**RAPPORTO SUL TEST DI BIODEGRADAZIONE
DI MORCHIE OLEOSE
PRELEVATE PRESSO
IMPIANTO DEL PORTO DI LA SPEZIA**

per NEPH-FRANCE
Z.I. Les Trois Moulins - 319 Rue des Lamberts
ANTIBES SOPHIA ANTIPOLIS

1	Premessa e finalità	2
2	Descrizione del campione sottoposto al test	2
3	Metodi analitici applicati	2
4	Caratterizzazione del campione T4 tal quale	3
5	Preparazione dei prodotti NEPH	3
6	Determinazione della efficacia e efficienza sugli idrocarburi totali	4
7	Determinazione della efficacia e efficienza sugli idrocarburi policiclici aromatici	5
8	Conclusioni	6

Allegati

Rivarolo, luglio 2003

chim. dott. Roberto Chiono



Chiono

Studio Chiono Srl

via Ivrea, 42 – 10086 RIVAROLO Can.se (TO)
tel. +39,0124,28436-26537 fax +39,0124,25909
e-mail stchiono@studiochiono.it - sito www.studiochiono.it

1 Premessa e finalità

Il presente documento descrive il test di biodegradabilità con prodotti della NEPH-FRANCE eseguito su morchie oleose prelevate presso un impianto operante nel porto di La Spezia.

La finalità del test è di verificare l'efficacia ed efficienza della miscela enzimatico-batterica nella degradazione di composti idrocarburi a catena media e lunga alifatici e aromatici.

2 Descrizione del campione sottoposto al test

Il campione rappresenta in stato fluido oleoso (d'ora in avanti chiamato T4) di colore nero con contenuto in idrocarburi totali pari al 23%; il compendio a 100 è rappresentato da acqua in forma libera o in emulsione.



3 Metodi analitici applicati

Le determinazioni analitiche applicate sul campione T4 tal quale e sulle aliquote prelevate per il test sono :

- Determinazione degli idrocarburi totali (TPH) : Metodica IRSA Quad. 64, Metodi Analitici per i Fanghi, vol. 3, n. 21;
- Determinazione degli idrocarburi in FTIR : ISO/TR 11046 ('94)
- Determinazione degli idrocarburi Policiclici Aromatici IPA : EPA 8275°

4 Caratterizzazione del campione T4 tal quale

Sul campione tal quale sono state eseguite le seguenti determinazioni analitiche :

- Idrocarburi totali estraibili con freon : 23% sul tal quale
- Idrocarburi Policiclici Aromatici : 4623 mg/kg sul tal quale, di cui:

ID N°	Composto	u.m.	morchie T4 tal quale
1	naftalene	mg/kg tq	1042
2	acenaftilene	mg/kg tq	n.d.
3	acenaftene	mg/kg tq	425
4	fluorene	mg/kg tq	413
5	fenantrene	mg/kg tq	1318
6	antracene	mg/kg tq	264
7	fluorantene	mg/kg tq	497
8	pirene	mg/kg tq	344
9	benzo(a)antracene	mg/kg tq	103
10	crisene	mg/kg tq	101
11	benzo(b)fluorantene	mg/kg tq	63
12	benzo(k)fluorantene	mg/kg tq	n.d.
13	benzo(a)pirene	mg/kg tq	54
14	indeno (1,2,3-cd) pirene	mg/kg tq	n.d.
15	dibenzo (a,h) antracene	mg/kg tq	n.d.
16	benzo (g,h,i) perilene	mg/kg tq	n.d.
	Totale		4623

E' stato , inoltre, eseguito uno spettro in FTIR per accertare l'abbondanza di gruppi CH₃, CH₂ e CH, questi ultimi caratteristici dei composti aromatici. (in Allegato 1 sono riportati gli spettri).

5 Preparazione dei prodotti NEPH

La miscela NEPH è composta da 3 prodotti :

E1 miscela di proteine e amminoacidi

E2 miscela di enzimi, funghi e batteri aerobi, anaerobi e facoltativi

E3 miscela catalizzante

Preparazione della miscela per la prima semina

Inoculo M1

E1 : 21 g

E2 : 31,5 g

E3 : 50 ml

Si sono miscelati i prodotti E1+E2 ed è stato aggiunto 1litro di acqua fontis a 35°C; la miscela è stata agitata manualmente e posta in termostato a 35°C per 40 min. quindi aggiunti 50 ml di E3.

Preparazione della miscela per la seconda semina***Inoculo M2***

E1 : 105 g
E2 : 158 g
E3 : 250 ml

Si sono miscelati i prodotti E1+E2 ed è stato aggiunto 1litro di acqua fontis a 35°C; la miscela è stata agitata manualmente e posta in termostato a 35°C per 40 min. quindi aggiunti 50 ml di E3.

Preparazione della miscela per la terza semina***Inoculo M3***

E1 : 105 g
E2 : 158 g
E3 : 250 ml

Si sono miscelati i prodotti E1+E2 ed è stato aggiunto 1litro di acqua fontis a 35°C; la miscela è stata agitata manualmente e posta in termostato a 35°C per 40 min. quindi aggiunti 50 ml di E3.

6 *Determinazione della efficacia e efficienza sugli idrocarburi totali***Prima semina – inoculo M1**

A 1 kg di T4 sono stati aggiunti 200 ml di M1.

Il campione è stato lasciato al buio alla temperatura di 25°C per 3 gg, poi è stata prelevata una aliquota ed eseguita la determinazione degli idrocarburi totali.

Aliquota T4/3gg : TPH = 22,7% ; nessuna riduzione ¹

Seconda semina – inoculo M2

Al campione T4/3gg sono stati aggiunti 200 ml di M1.

Il campione è stato lasciato al buio alla temperatura di 25°C per 5 gg, poi è stata prelevata una aliquota ed eseguita la determinazione degli idrocarburi totali.

Aliquota T4/8gg : TPH = 6,65% ; riduzione del 71%

Terza semina – inoculo M3

Al campione T4/8gg sono stati aggiunti 200 ml di M1.

Il campione è stato lasciato al buio alla temperatura di 25°C per 7 gg, poi è stata prelevata una aliquota ed eseguita la determinazione degli idrocarburi totali.

Aliquota T4/15gg : TPH = 0,5% ; riduzione del 98%

¹ I risultati sono sempre corretti della diluizione del campione per effetto della semina dei batteri

Tabella riepilogativa per gli Idrocarburi totali

Campione	Risultato TPH
T4 tal quale	23%
T4/3gg	22,7%
T4/8gg	6,65%
T4/15gg	0,5%

7 Determinazione della efficacia e efficienza sugli idrocarburi policiclici aromatici

Sul campione finale T4/15gg è stata eseguita la determinazione degli IPA per verificare l'efficacia anche su molecole comunemente più refrattarie, ottenendo i seguenti risultati:

ID N°	Name	u.m.	Morchie T4 tal quale	Morchie T4 tratt (*)	riduzione %
1	naftalene	mg/kg tq	1042	599	42,5
2	acenaftilene	mg/kg tq	nd	nd	nd
3	acenaftene	mg/kg tq	425	228	46,2
4	fluorene	mg/kg tq	413	220	46,8
5	fenantrene	mg/kg tq	1318	653	50,5
6	antracene	mg/kg tq	264	118	55,5
7	fluorantene	mg/kg tq	497	211	57,5
8	pirene	mg/kg tq	344	149	56,6
9	benzo(a)antracene	mg/kg tq	103	41	60,3
10	crisene	mg/kg tq	101	38	62,3
11	benzo(b)fluorantene	mg/kg tq	63	0,0	100,0
12	benzo(k)fluorantene	mg/kg tq	nd	nd	nd
13	benzo(a)pirene	mg/kg tq	54	0,0	100,0
14	indeno (1,2,3-cd) pirene	mg/kg tq	nd	nd	nd
15	dibenzo (a,h) antracene	mg/kg tq	nd	nd	nd
16	benzo (g,h,i) perilene	mg/kg tq	nd	nd	nd
	Totale	mg/kg tq	4623	2258	51,2

8 Conclusioni

L'utilizzo dei prodotti NEPH per la biodegradazione dei composti idrocarburici ha dimostrato una elevata efficienza ed efficacia per alifatici a catena lineare o ramificata, come pure per composti aromatici policiclici di cui è nota la refrattarietà alla degradazione.

Rivarolo, lì 24 luglio 2003

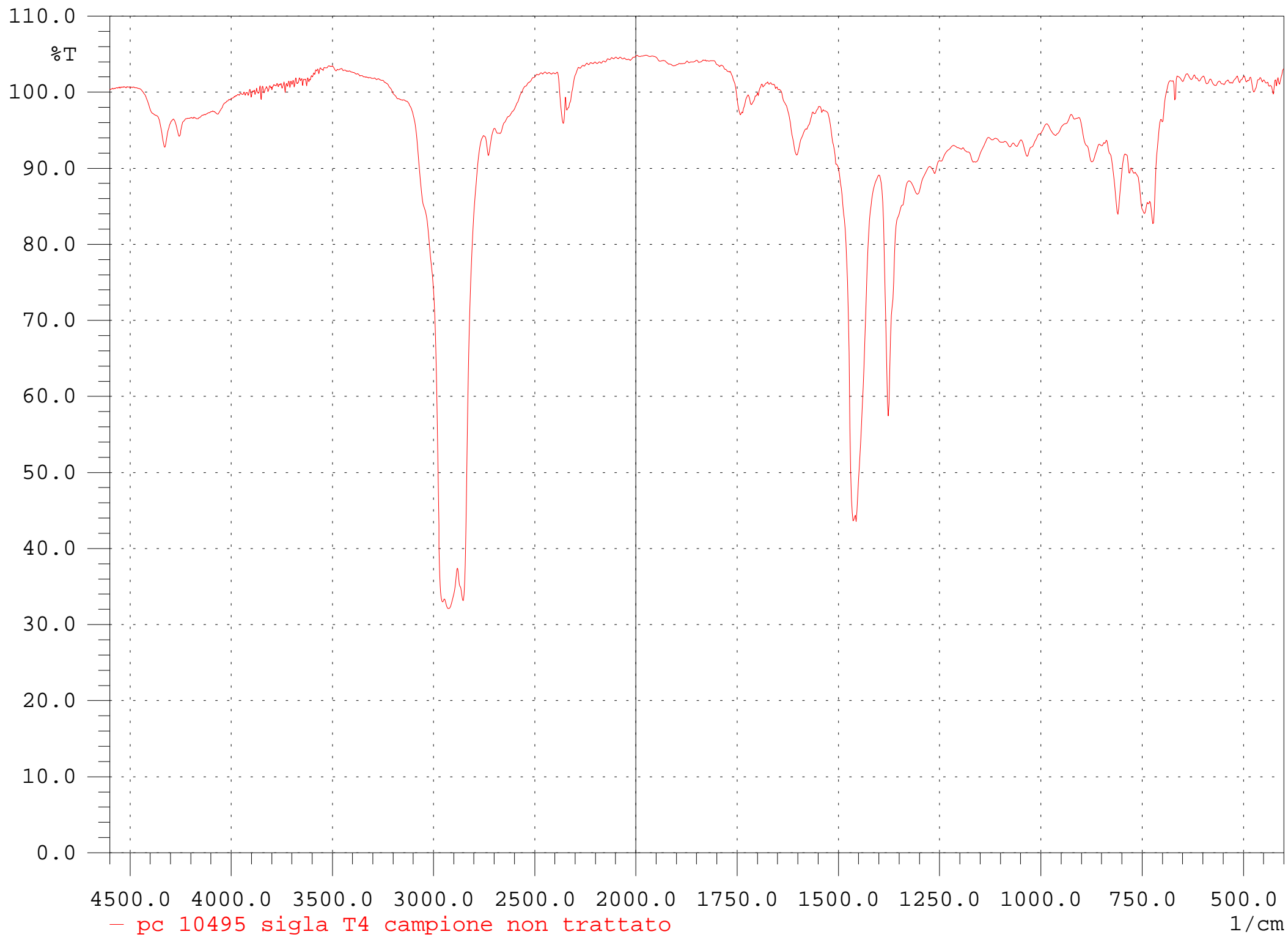
chim. dott. Roberto Chiono

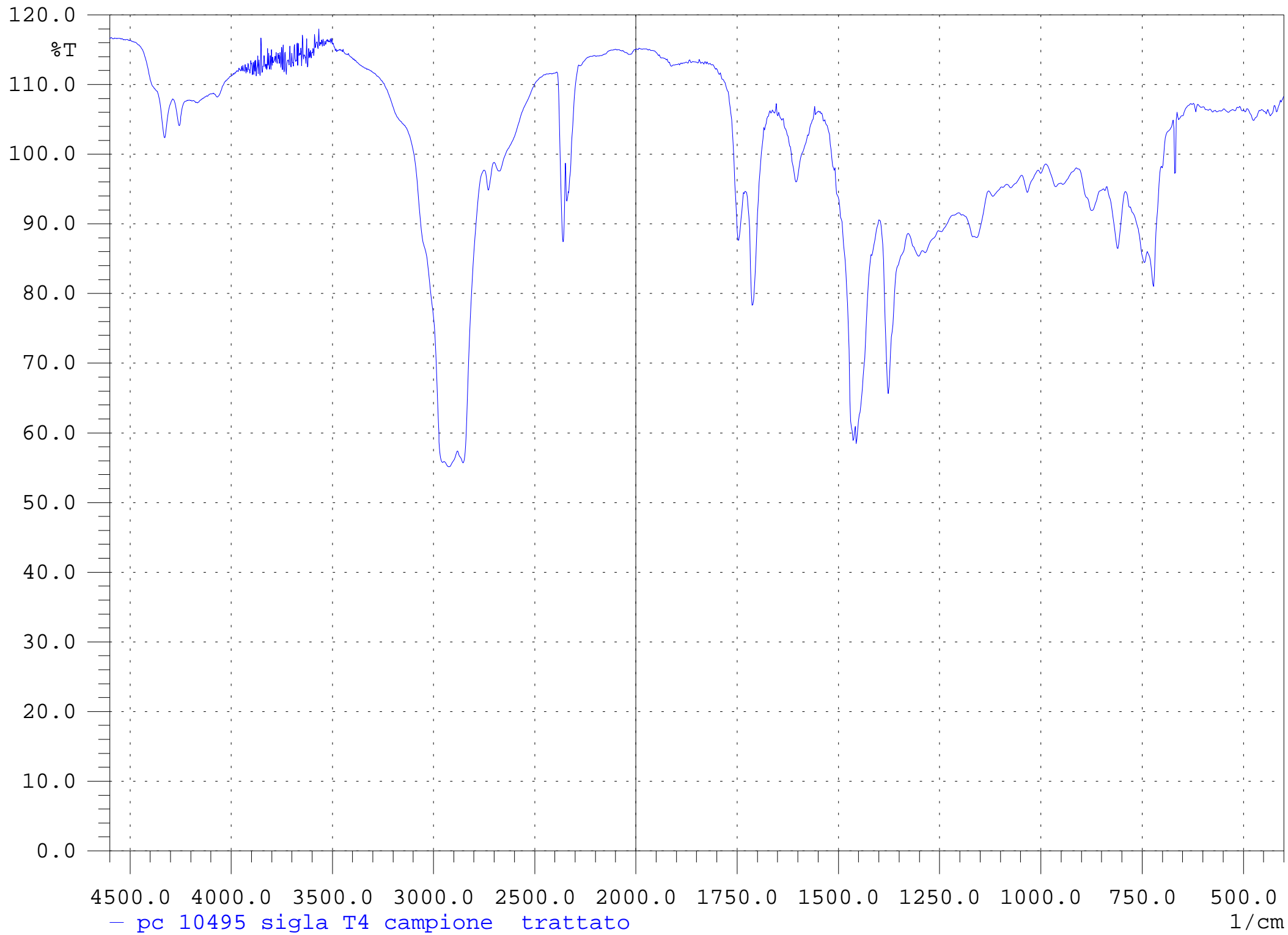


Chiono

ALLEGATO 1

Spettri FTIR del campione T4 tal quale e T4/15gg





ALLEGATO 2

**Spettri FTIR del campione T4 e T4/15gg
nel campo di assorbimento CH, CH₂, CH₃**

Hydrocarbons in soil determination
ISO-TR 11046

Sample: 10495N.IRS
pc 10495 sigla T4 campione non trattato +florisil dil 1:50

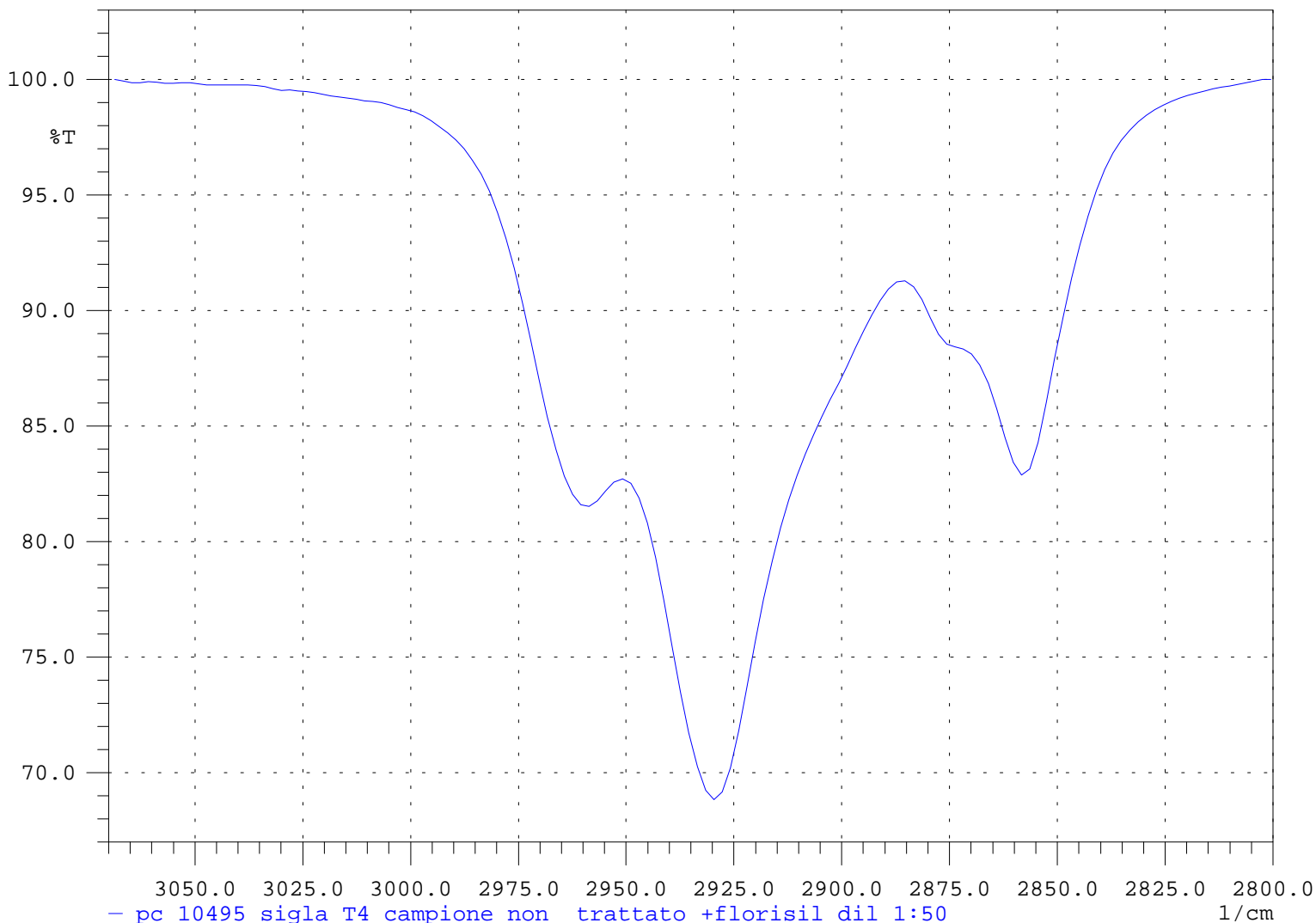
Analysis: 07-25-2003 17:39:40

Evaluation range: 3068.534912 - 2800.447998 cm⁻¹
Dilution: 50 Cell thickness [cm]: 1

***** No CH-Peak found

CH2-Peak Position [cm⁻¹]: 2929.669678 Absorbance [AU]: 0.162249 AU
CH3-Peak Position [cm⁻¹]: 2945.099365 Absorbance [AU]: 0.092554 AU

Coefficient correction: 1
Coefficient global (AR): 1.300000 global (Aliph): 1.400000
CH 0.900000 CH3: 8.300000
CH2 5.4



Hydrocarbons in soil determination
ISO-TR 11046

Sample: 10495M.IRS
pc 10495 sigla T4 campione trattato +florisil dil 1:50

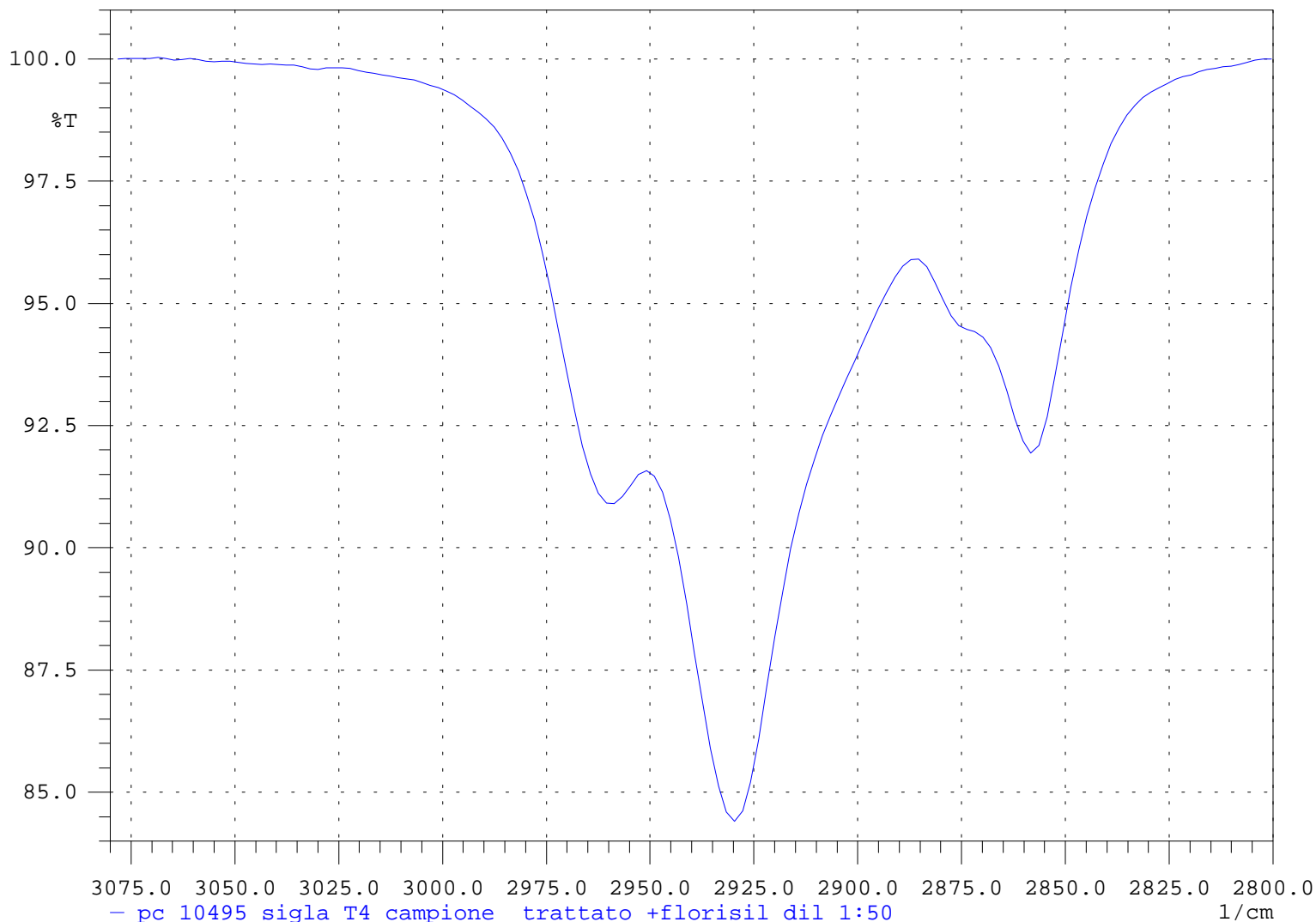
Analysis: 07-25-2003 17:35:10

Evaluation range: 3078.178467 - 2800.447998 cm⁻¹
Dilution: 50 Cell thickness [cm]: 1

***** No CH-Peak found

CH2-Peak Position [cm⁻¹]: 2929.669678 Absorbance [AU]: 0.073656 AU
CH3-Peak Position [cm⁻¹]: 2945.099365 Absorbance [AU]: 0.042901 AU

Coefficient correction: 1
Coefficient global (AR): 1.300000 global (Aliph): 1.400000
CH 0.900000 CH3: 8.300000
CH2 5.4

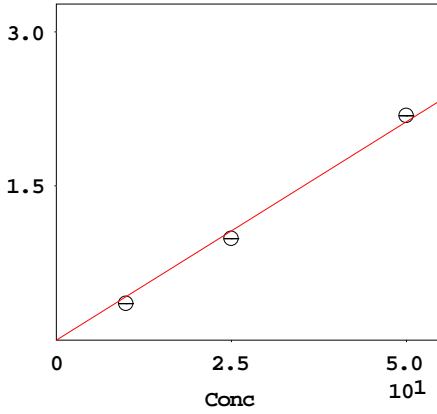


ALLEGATO 3

Curve di calibrazione degli IPA

ID # 1 M/Z : 128.00 Name : naftalene
 Area = 426110 * (Conc.) r2 = 0.998971

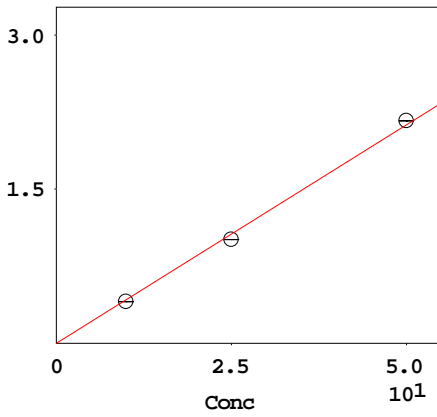
Area₁₀₇



Conc.(ppm)	Area
1 10.000	3526978
2 25.000	9873027
3 50.000	21842166

ID # 2 M/Z : 152.00 Name : acenaftilene
 Area = 426203 * (Conc.) r2 = 0.998742

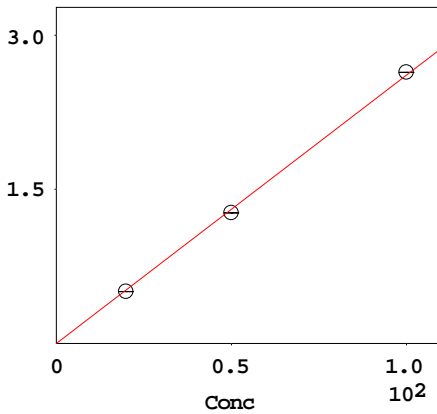
Area₁₀₇



Conc.(ppm)	Area
1 10.000	4031737
2 25.000	10080676
3 50.000	21643414

ID # 3 M/Z : 154.00 Name : acenaftene
 Area = 261547 * (Conc.) r2 = 0.999677

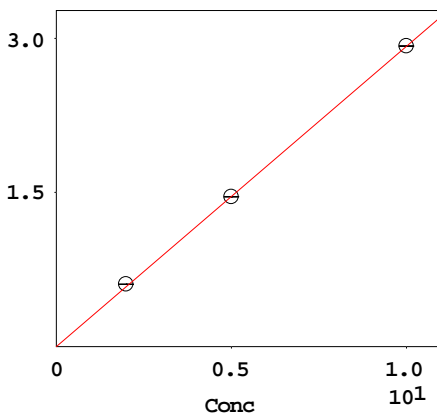
Area₁₀₇



Conc.(ppm)	Area
1 20.000	5038817
2 50.000	12702260
3 100.000	26380720

ID # 4 M/Z : 166.00 Name : fluorene
 Area = 292750 * (Conc.) r2 = 0.999920

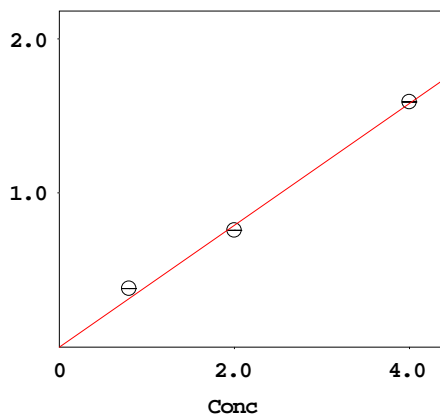
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 2.000	606353
2 5.000	1457967
3 10.000	2926224

ID # 5 M/Z : 178.00 Name : phenanthrene
 Area = 396186 * (Conc.) r2 = 0.995033

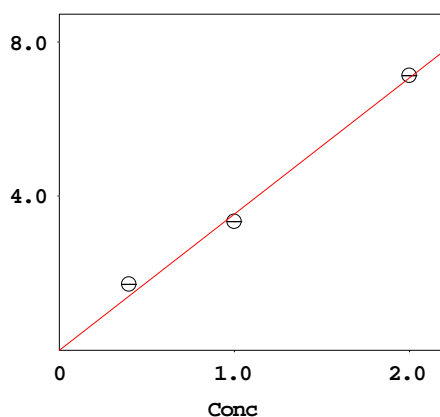
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 0.800	379469
2 2.000	757005
3 4.000	1589925

ID # 6 M/Z : 178.00 Name : antracene
 Area = 354165 * (Conc.) r2 = 0.993076

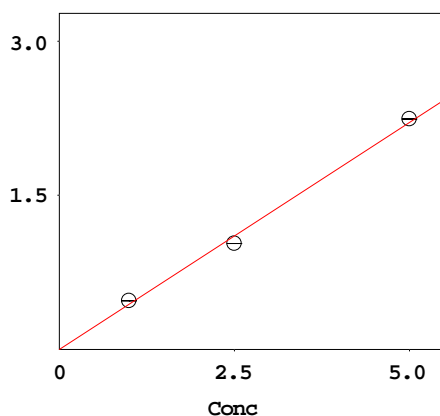
Area₁₀₅



Conc.(ppm)	Area
1 0.400	170846
2 1.000	333580
3 2.000	712787

ID # 7 M/Z : 202.00 Name : fluorantene
 Area = 442366 * (Conc.) r2 = 0.995667

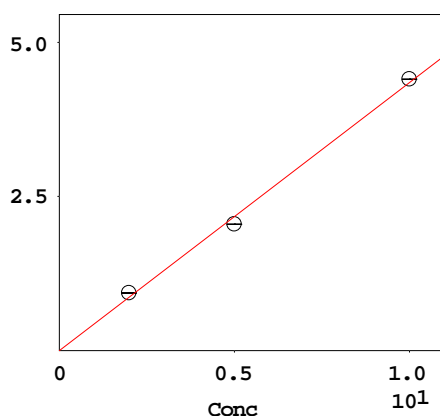
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 1.000	470693
2 2.500	1031129
3 5.000	2243559

ID # 8 M/Z : 202.00 Name : pirene
 Area = 435307 * (Conc.) r2 = 0.996444

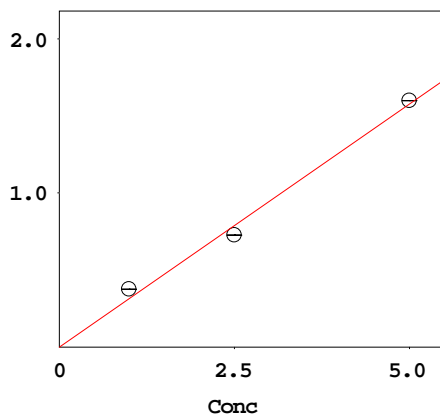
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 2.000	933117
2 5.000	2049773
3 10.000	4403947

ID # 9 M/Z : 228.00 Name : benzo(a)antracene
 Area = 315911 * (Conc.) r2 = 0.990277

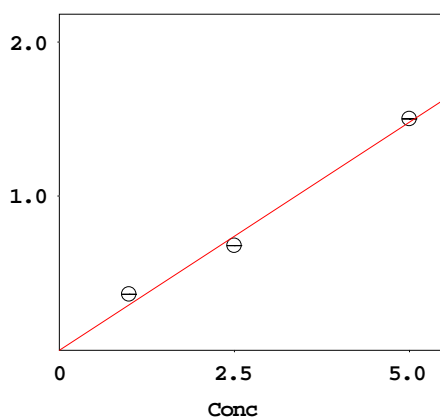
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 1.000	374954
2 2.500	725449
3 5.000	1599911

ID # 10 M/Z : 228.00 Name : crisene
 Area = 296755 * (Conc.) r2 = 0.988304

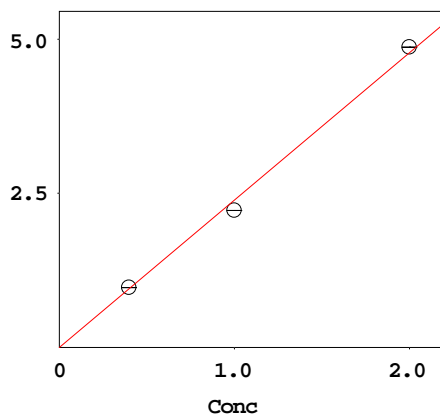
Area₁₀₆



Conc.(ppm)	Area
1 1.000	363222
2 2.500	678976
3 5.000	1501937

ID # 11 M/Z : 252.00 Name : benzo(b)fluorantene
 Area = 239344 * (Conc.) r2 = 0.996264

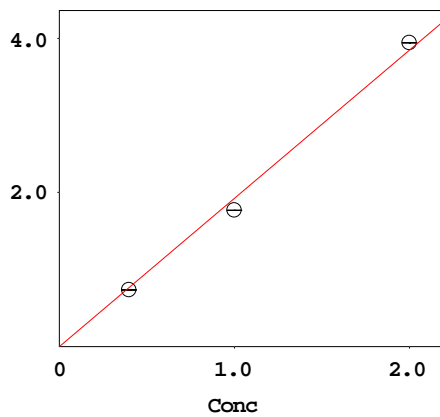
Area₁₀₅



Conc.(ppm)	Area
1 0.400	97117
2 1.000	222047
3 2.000	487060

ID # 12 M/Z : 252.00 Name : benzo(k)fluorantene
 Area = 192759 * (Conc.) r2 = 0.996544

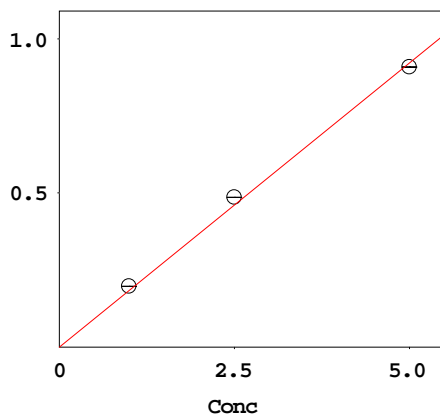
Area₁₀₅



Conc.(ppm)	Area
1 0.400	73153
2 1.000	176727
3 2.000	394324

ID # 13 M/Z : 252.00 Name : benzo(a)pirene
 Area = 184656 * (Conc.) r2 = 0.998802

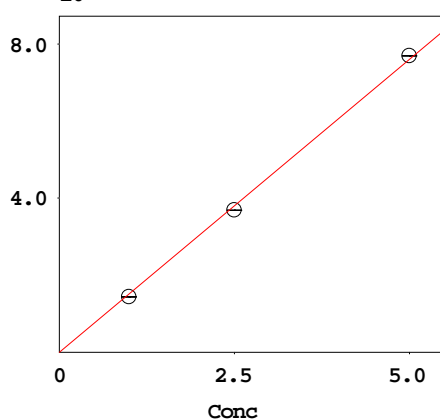
Area₁₀₆



Conc. (ppm)	Area	
1	1.000	196444
2	2.500	485383
3	5.000	909048

ID # 14 M/Z : 276.00 Name : indeno (1,2,3-cd) pirene
 Area = 152318 * (Conc.) r2 = 0.999705

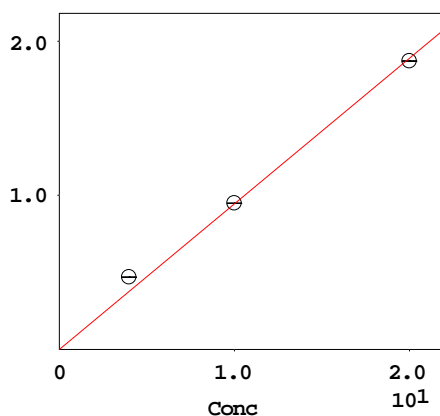
Area₁₀₅



Conc. (ppm)	Area	
1	1.000	143389
2	2.500	368635
3	5.000	769454

ID # 15 M/Z : 278.00 Name : dibenzo (a,h) antracene
 Area = 94577.8 * (Conc.) r2 = 0.998670

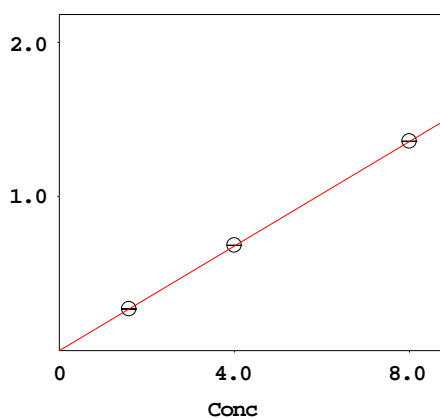
Area₁₀₆



Conc. (ppm)	Area	
1	4.000	467767
2	10.000	948859
3	20.000	1872123

ID # 16 M/Z : 276.00 Name : benzo (g,h,i) perilene
 Area = 169936 * (Conc.) r2 = 0.999980

Area₁₀₆



Conc. (ppm)	Area	
1	1.600	270022
2	4.000	682487
3	8.000	1358490