

Corso di Laurea Magistrale in
“BIOLOGIA PER LA SOSTENIBILITÀ”

Anno Accademico 2022-2023



IGIENE DELL'AMBIENTE E DEL TERRITORIO

Prof.ssa Valeria Di Onofrio

valeria.dionofrio@uniparthenope.it



SIS

Scuola Interdipartimentale
delle **Scienze**, dell'**Ingegneria**
e della **Salute**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE (DIST)

Materiale didattico - D.M. 752 del 30/06/2021

SISTEMI DI APPROVVIGIONAMENTO

I più antichi risalgono al XV – XVI sec. a. C.

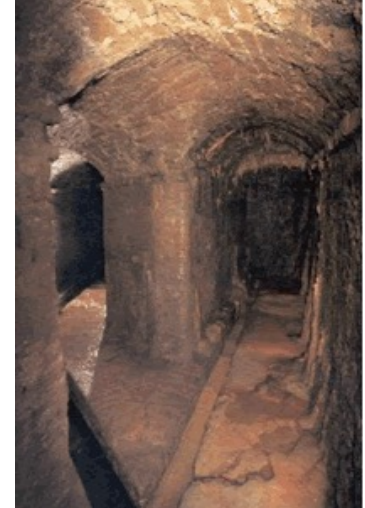
I romani svilupparono acquedotti e tubazioni (legni cavi, tubature di piombo o argilla) sia per l'approvvigionamento sia per lo smaltimento delle acque di scarico



Nel medioevo prevalgono i pozzi a carrucola e le cisterne per l'acqua piovana

SISTEMI DI APPROVVIGIONAMENTO

Nell'età moderna l'approvvigionamento idrico è centralizzato e concepito come rete idraulica sotto pressione e gli impianti gestiti da comuni o aziende private



Il fabbisogno sempre crescente di acqua ha potuto essere soddisfatto attraverso l'ampliamento delle centrali idriche e un intenso sfruttamento delle falde acquifere

FONTI DI APPROVVIGIONAMENTO

Il fabbisogno idrico crescente e il diffuso inquinamento rendono sempre più difficile il reperimento di acque potabili

Le fonti utilizzate sono:

- ❖ Acque sotterranee
- ❖ Acque superficiali
- ❖ Acque meteoriche
- ❖ Acque marine



DEPURAZIONE DELLE ACQUE

È stato necessario introdurre sistemi depurazione delle
acque con l'uso di

raggi U.V.

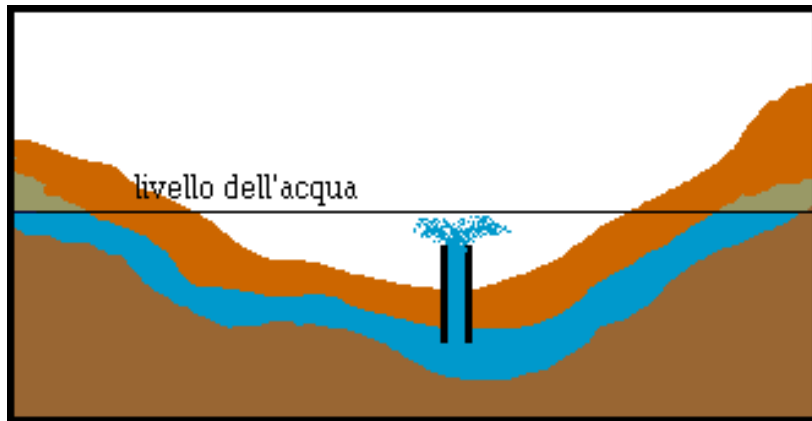
filtri

cloro



ACQUE SOTTERRANEE

Acqua di falda idrica: l'acqua si infiltra negli strati di terreno permeabili fino ad incontrare uno strato impermeabile



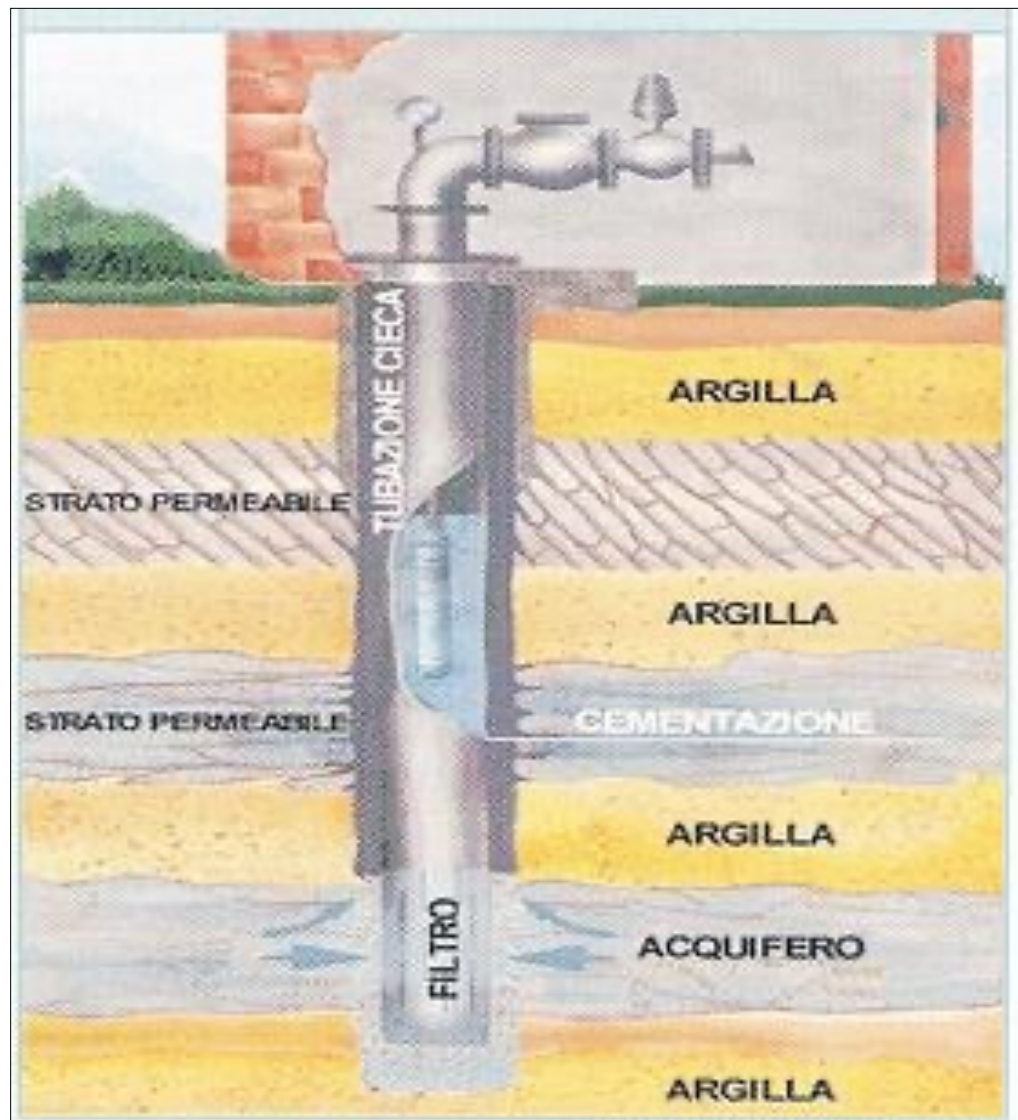
La captazione avviene
tramite pozzi

Falde idriche: l'acqua attraversa le fratture e fessurazioni delle rocce (calcaree, silicee) fino a raggiungere uno strato impermeabile in corrispondenza del quale prende origine una vena idrica



La captazione avviene nel punto in cui sgorgano

Opere di captazione



ACQUE SUPERFICIALI

Fiumi: La composizione chimica può variare entro certi limiti.

Laghi: presentano una maggiore limpidezza e una composizione chimica più costante.

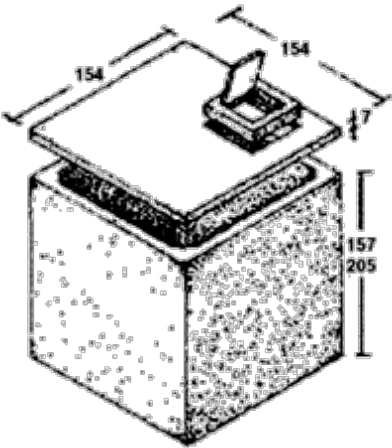


La captazione avviene tramite opere di presa poste al centro del fiume

ACQUE METEORICHE

Purissime all'origine si alterano durante il percorso in atmosfera.

La captazione avviene per raccolta su piccole superfici (tetti) oppure bacini artificiali più ampi.



ACQUE MARINE

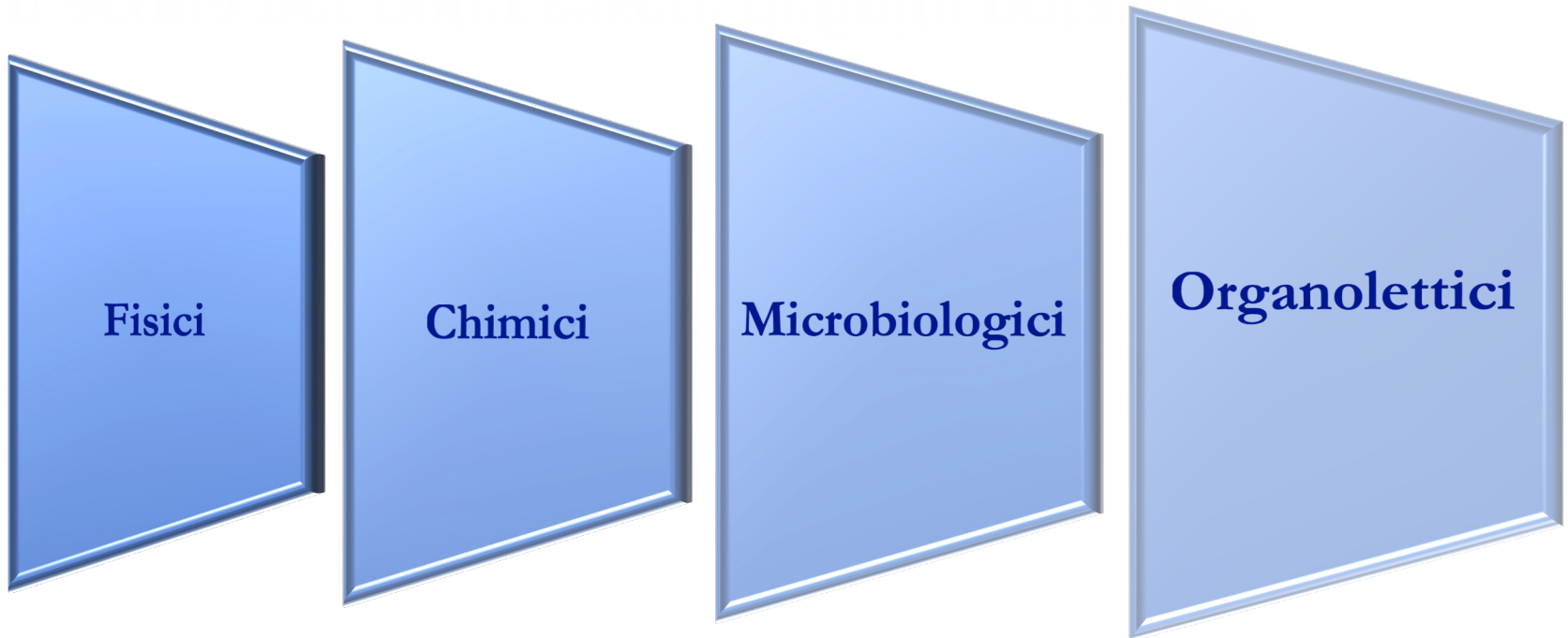
L'approvvigionamento richiede una serie di trattamenti tesi ad eliminare l'elevato contenuto salino (equilibrio salino)



Un'acqua per poter essere definita potabile*

deve possedere determinati requisiti

deve possedere determinati requisiti



*** Destinata al consumo umano**

Caratteristiche organolettiche

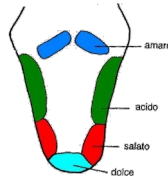
Si riferiscono ai caratteri che cadono direttamente ed immediatamente sotto il dominio dei sensi.

→ odore



→ inodore

→ sapore



→ sapore gradevole

→ aspetto



→ incolore

Le percezioni sono soggettive, tuttavia sono state stabilite alcune regole che attenuano l'arbitrarietà del responso analitico



Si prevede l'identificazione e la classificazione dell'odore e la misura della sua intensità

- ✓ origine naturale (decomposizione di materiale vegetale)
- ✓ antropica (contaminazione prodotta da effluenti urbani ed industriali, da composti secondari generati durante processi di ossidazione e disinfezione).

La determinazione dell'odore viene di norma eseguita per diluizione del campione in esame, con acqua inodore, al fine di valutare la diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito l'odore.

Tale diluizione rappresenta la soglia di percezione dell'odore ed è una misura indiretta della sua "concentrazione" nel campione.

ODORE

I vari odori, a seconda della loro natura, vengono classificati e codificati

Codice	Natura dell'odore	Descrizione dell'odore
A	Aromatico	Canfora, lavanda, limone, spezie
B	Balsamico	Fiori diversi
C	Chimico	non definibile
C _c	di cloro	Cloro libero
C _h	Idrocarburico	Petrolio e derivati
C _m	Medicinale o farmaceutico	Fenolo, iodoformio
C _s	Sulfureo	Idrogeno solforato
D	Sgradevole	non definibile
E	Terroso	Terra umida
F	Fecale	Pozzo nero
G	Erboso	Erba pestata
M	Muffa	Cantina umida
V	Vegetale	Radici vegetali

SAPORE

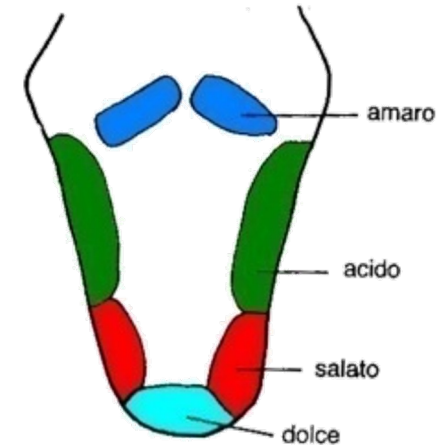
Il gusto di un'acqua è normalmente determinato dall'associazione di sapore ed odore.

Soluzioni di sali inorganici sono rivelabili al sapore, mentre tracce di sostanze organiche possono impartire ad un'acqua un sapore associato ad un odore.

- ✓ possono avere origine naturale (presenza di alghe e attinomiceti, solubilizzazione di sali minerali contenuti nel terreno)
- ✓ antropica (contaminazione da effluenti industriali ed urbani, da composti secondari generati durante processi di disinfezione, ossidazione, coagulazione).

Non esistono metodi strumentali ufficialmente riconosciuti che siano in grado di fornire una valutazione assoluta del sapore.

Il metodo descritto consiste nell'effettuare diluizioni successive del campione, con acqua priva di qualunque sapore, e quindi degustarle fino a che l'analista non avverte più alcun sapore.



La diluizione più spinta alla quale può essere ancora percepito il sapore (soglia di percezione del sapore) costituisce una misura indiretta della sua “concentrazione” nel campione.

Il metodo dipende dalla sensibilità dell'operatore; una valutazione rigorosa, basata su una maggiore rappresentatività, prevede l'impiego di almeno sei operatori

TECNICA DI ASSAGGIO

- 1) si sorseggia un po' d'acqua, la si porta da un lato all'altro della bocca, quindi la si sputa
- 2) si lascia una piccola quantità d'acqua nella parte anteriore della bocca, in contatto con le papille della punta della lingua, senza agitare, per 5-10 secondi (ciò particolarmente per acque fredde).

Ordinariamente sono necessarie più degustazioni a temperature diverse; ad esempio:

- a freddo, cioè alla temperatura ordinaria di 15-20°C
- a caldo (40°C).

Inoltre è spesso importante fare degustazioni dopo 24 ore, a circa 25°C e dopo 10 minuti di ebollizione, raffreddamento e aerazione con moderata agitazione

ASPETTO

Il colore di un'acqua è dovuto alla presenza di **ioni metallici** (ferro, manganese, rame), **sostanze organiche** (acidi umici e fulvici) e **scarichi industriali**.

Il colore di un'acqua si riferisce al “colore vero”, cioè al colore della luce trasmessa dopo eliminazione delle sostanze in sospensione, includendo fra queste le particelle pseudo-colloidalì, per distinguerlo dal “colore apparente” a cui contribuiscono non solo le sostanze disciolte, ma anche quelle in sospensione.

Il metodo si basa sul confronto visivo tra il campione in esame e soluzioni colorate a concentrazione nota ottenute con differenti diluizioni di platino-cobalto.

Si definisce 1 unità di colore (unità Hazen) quella prodotta da 1 mg Pt/L (esacloroplatinato) in presenza di 2 mg/L di cloruro di cobalto esaidrato.



REQUISITI FISICI E CHIMICO-FISICI

Temperatura

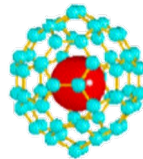


10 –15°C

Torbidità

Assente (transitoria e apparente)

Conducibilità



400 $\mu\text{S cm}^{-1}$

pH

6.5-8.5

TEMPERATURA



Grandezza fisica che esprime lo stato termico di un sistema e che descrive la sua attitudine a scambiare calore con l'ambiente o con altri corpi.

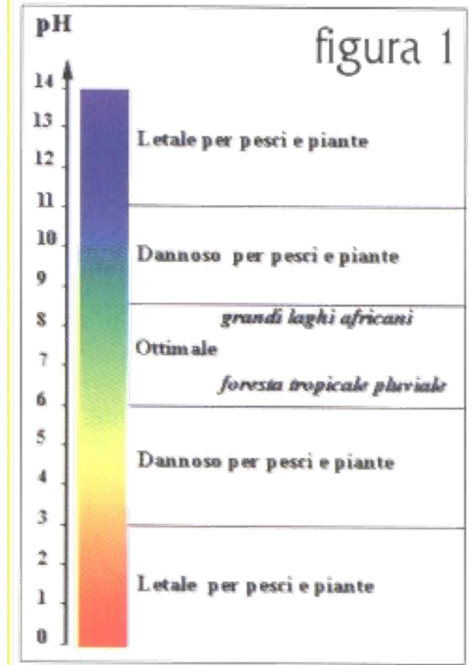
Il concetto di temperatura è associato all'idea di fornire una misura relativa di quanto i corpi risultino freddi o caldi al tatto

Una buona acqua dovrebbe avere una temperatura compresa fra i 10 e 15°C

pH

Il pH è il co-logaritmo della attività degli ioni idrossonio (H_3O^+) espressa in g-ione/l. Il suo valore è funzione di numerose variabili come la composizione ionica dell'acqua, il tipo di equilibri acido-base che si instaurano in soluzione, la temperatura, ecc. Il suo controllo è molto importante perché quasi tutti i trattamenti di potabilizzazione sono influenzati dal pH (disinfezione, chiariflocculazione, ecc.). Le proprietà corrosive ed incrostanti di un'acqua dipendono, in larga misura, dal valore del pH.



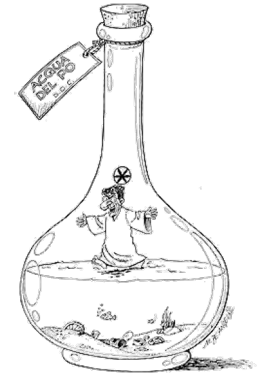


Gli elementi essenziali di un pHmetro

sono:

- una sonda ionosensibile
- un sistema di amplificazione
- un quadrante di lettura, analogico o digitale.

TORBIDITÀ



La torbidità è determinata dalla presenza nell'acqua di particelle sospese organiche ed inorganiche

temporanea: aspetto lattescente per la forte pressione con cui sgorgano, scompare subito per l'eliminazione dell'aria contenuta sotto forma di piccolissime bollicine

transitoria: presenza di argille si elimina per sedimentazione

SOSTANZE ORGANICHE

Calcolo:

- La quantità di sostanze organiche esistenti nell'acqua si esprime come ossigeno consumato per l'ossidazione, poiché 1ml di soluzione N/100 di permanganato sviluppa 0,00008 gr di ossigeno basta moltiplicare per tale coefficiente il numero di ml di permanganato usato per la titolazione. Moltiplicando per 10 si otterrà la cifra equivalente a litro
- Si deve moltiplicare poi per 1000 per esprimere il risultato in milligrammi / litro
- $0,00008 * 1000 * 10 * \text{ml di titolante}$

METODO DI KUBEL E TIEMANN



100 ml di campione



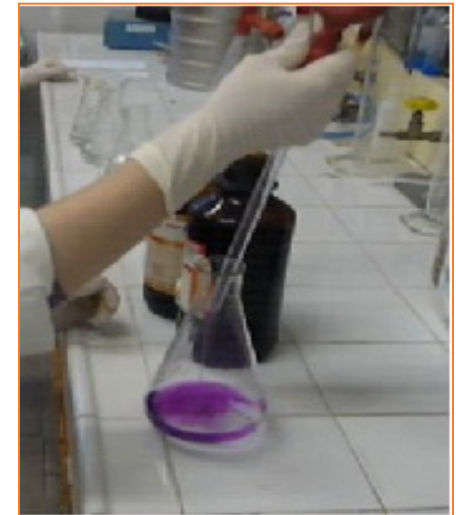
5 ml di H_2SO_4 + 10 ml di KMnO_4 N/100



Fino ad ebollizione



10 ml di acido ossalico N/100



Retrotitolazione con KMnO_4 N/100

DUREZZA TOTALE

Contribuisce a definire lo stato di mineralizzazione dell'acqua, ovvero il contenuto in Sali di metalli alcalino-terrosi (in particolare Calcio e Magnesio).

Una durezza eccessiva crea inconvenienti quali:



Unità di misura °F (gradi francesi) $1^{\circ}\text{F} = 10 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$
°T (gradi tedeschi) $1^{\circ}\text{T} = 10 \text{ mg CaO}/\text{L}$
°I (gradi inglesi) $1^{\circ}\text{I} = 1 \text{ g CaCO}_3/70 \text{ L}$

DUREZZA TOTALE = durezza temporanea + durezza permanente

DUREZZA TEMPORANEA

La **durezza temporanea** è dovuta al bicarbonato di calcio $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ e al bicarbonato di magnesio $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, i quali possono essere eliminati mediante riscaldamento dell'acqua; con questa operazione si ha una perdita di anidride carbonica CO_2 che dà luogo alla formazione di carbonati assai poco solubili che precipitano, dando origine all'**incrostazione**:



DUREZZA PERMANENTE

La **durezza permanente** invece non si elimina con il riscaldamento essendo dovuta agli altri sali di calcio e magnesio, generalmente solfati e cloruri (solfato di magnesio MgSO_4 , solfato di calcio CaSO_4 , cloruro di calcio CaCl_2 , cloruro di magnesio MgCl_2), che restano disciolti in soluzione e per questo non danno problemi di incrostazioni.

METODO COMPLESSOMETRICO

La durezza viene misurata in modo preciso titolando il campione di acqua con una soluzione di acido etilendiamminotetracetico (EDTA) a concentrazione esattamente nota in presenza di nero eriocromo T (NET), un indicatore che forma un complesso di colore rosa con gli ioni di calcio e magnesio.

All'interno di un intervallo di valori di pH ben definito, l'EDTA forma con gli ioni calcio e magnesio un complesso molto stabile, più stabile di quello con il nero eriocromo T. Il pH viene portato al valore ottimale di 10 unità per aggiunta di una soluzione tampone a base di ammoniaca e si inizia ad aggiungere EDTA al campione. Quando tutti gli ioni calcio e magnesio risultano complessati dall'EDTA, il nero eriocromo T vira da rosa a blu scuro. Titolando 100 ml di campione d'acqua utilizzando una soluzione 0,01 M di sale bisodico di EDTA è possibile ricavare direttamente la durezza in gradi °F, sapendo che ogni ml di titolante utilizzato corrisponde a 1 °F.

Lo schema delle reazioni è il seguente



Lo ione magnesio (Mg^{2+}) si comporta allo stesso modo.

È possibile discriminare la **durezza calcica** dalla **durezza magnesiacca**, sottraendo dalla durezza totale la durezza calcica, si ottiene la durezza magnesiacca

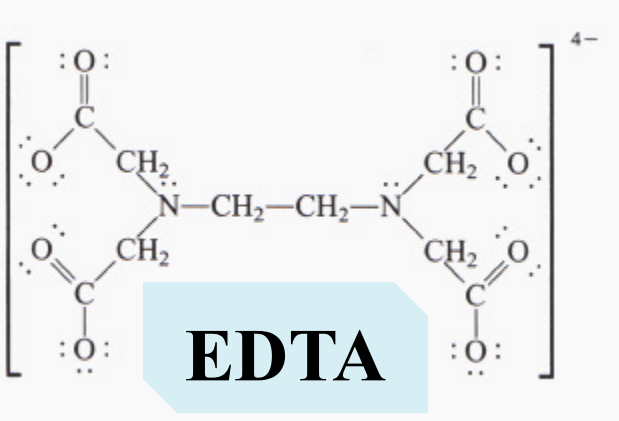
Durezza (1)



Nero eriocromo T



pH= 10 con NH₃



Durezza (2)



titolazione



viraggio dell'indicatore

$$\underline{\underline{^\circ F = \text{ml di EDTA } 0,1N * 1.79}}$$



METODO DI MOHR

Metodo di titolazione precipitometrica utilizzato nella titolazione di cloruri e bromuri, e che prevede l'utilizzo dell'**indicatore K_2CrO_4** (cromato di potassio) attraverso la titolazione diretta con il Nitrato d'argento ($AgNO_3$).

Il metodo sfrutta due reazioni, che vedono la formazione di due precipitati, uno analitico ed uno indicatore. Le reazioni sono le seguenti (supponendo di titolare Cl^-):



Si inizia la titolazione aggiungendo $AgNO_3$ in presenza dell'indicatore; in presenza di Cl^- inizierà a precipitare $AgCl$. Raggiunto il Punto Equivalente, e quindi precipitati tutti gli ioni cloruro, inizierà a formarsi Ag_2CrO_4 , come precipitato rosso-marrone. Questo poiché, essendo esauriti gli ioni Cl^- , Ag^+ si legherà all'indicatore.

Il sale **$AgCl$ si forma prima** di Ag_2CrO_4 (argento cromato) **poiché meno solubile** di quest'ultimo, quindi più stabile.

REQUISITI PER LA RIUSCITA DEL METODO

Innanzitutto il **pH** deve essere controllato, precisamente **neutro o leggermente alcalino (7-9)**. In ambiente acido infatti si formerebbe bicromato, che legandosi con l'argento porterà alla formazione di un sale più solubile dell' $AgCl$ (o $AgBr$).

In ambiente troppo basico invece l'argento può precipitare come idrossido e/o ossido, con precipitato nero.

I Cloruri



cromato di potassio



bianco



ROSSO



Nitrato d'argento

metodo di
Mohr

!!! Sono indice di contaminazione organica !!!

Metodo di Mohr



precipitato bianco



precipitato rosso

LA CONCENTRAZIONE DELLO IONE CLORURO È ESPRESSA DALLA FORMULA:

$$Cl^{-} (mg / L) = \frac{(a - b) \times N \times 35,45 \times 1.000}{V}$$

- a = volume (mL) di soluzione di riferimento di nitrato d'argento usata per titolare il campione;
- b = volume (mL) di soluzione di riferimento di nitrato d'argento usata per titolare il bianco;
- N = normalità della soluzione di riferimento di nitrato d'argento (0,1N)
- V = volume (mL) di campione d'acqua prelevato;
- 35,45 = peso equivalente del cloruro.

CARATTERISTICHE CHIMICHE

- Sostanze indesiderabili: i composti chimici che possono rinvenirsi in molte acque naturali in concentrazioni tali da non dare origine ad alcun effetto di danno.
- Sostanze tossiche: prodotti dotati di provato e consistente potere tossico e talvolta anche mutageno e cancerogeno che non si trovano di solito naturalmente presenti nelle acque nemmeno in tracce.

SOSTANZE INDESIDERABILI

La loro presenza in concentrazioni superiori a quelle normalmente riscontrabili nelle acque naturali può rappresentare una “spia” di un possibile inquinamento

Composti azotati

Fenoli

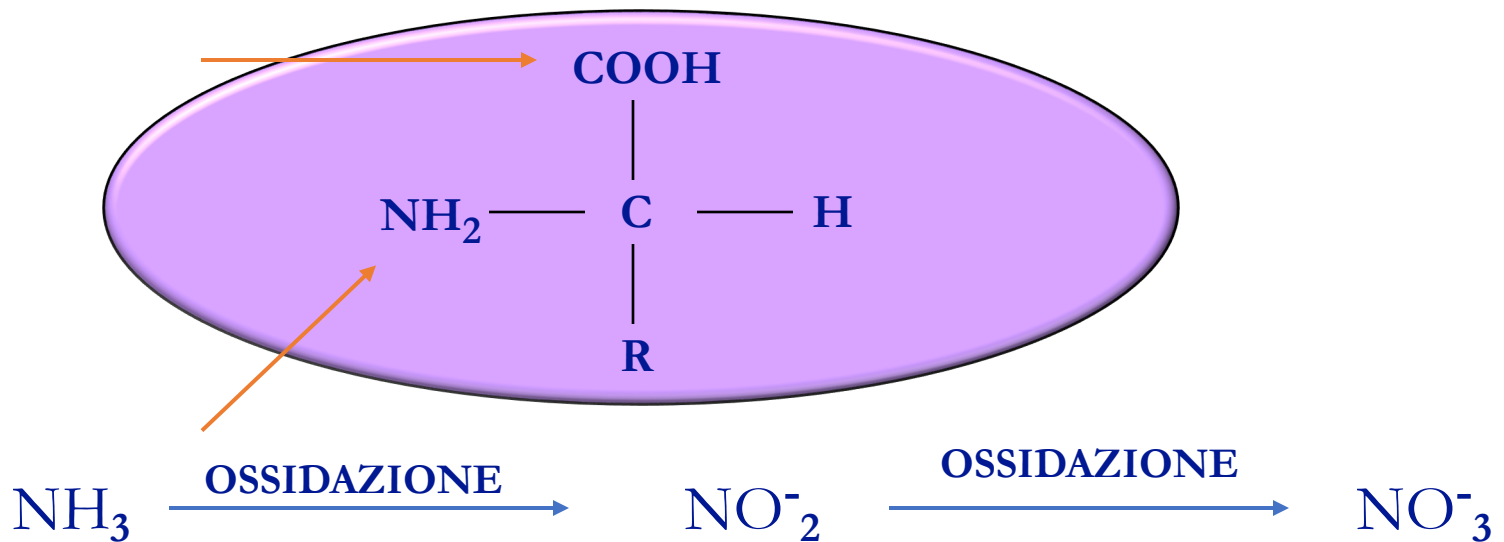
Oli minerali

Fosfati

Tensioattivi

I COMPOSTI AZOTATI

Rappresentano l'espressione di sostanze organiche in decomposizione. Gli aminoacidi possono venire decarbossilati e trasformati in ammine con liberazione di CO_2 , oppure essere desaminati e trasformati in acidi con liberazione di ammoniaca (NH_3)



Per successive ossidazioni dall'ammoniaca si passa ai nitriti sino alla formazione dei nitrati

I COMPOSTI AZOTATI

L'acqua può arricchirsi di nitriti essenzialmente per due motivi:

- li solubilizza dai terreni che attraversa e con essi raccoglie anche parecchie altre sostanze nocive (nitrati, fosfati, pesticidi ecc.)
- l'acqua è ricca di batteri e questi ultimi producono nitriti.

- Hanno effetti vasodilatatori in quanto agiscono direttamente sulla muscolatura liscia dei vasi sanguigni provocando ipotensione e cefalea;
- trasformano l'emoglobina in metaemoglobina, quest'ultima non è in grado di trasportare ossigeno nell'organismo e quindi si ha anossia, cianosi, sintomi di asfissia e collasso;
- in ambiente acido (stomaco e intestino) reagiscono con ammine secondarie e terziarie formando nitrosamine, sostanze cancerogene.

ANALISI DELL'AMMONIACA

Azoto ammoniacale

Il metodo colorimetrico, il più usato, si può eseguire direttamente sul campione quando in esso non c'è interferenze da ioni colorati (ferro ecc.), in questo caso si distilla 500 ml di campione tamponato a pH=7.4 con tampone fosfato, se ne raccolgono 50/100 ml e si determina l' NH_3 con il reattivo di Nessler. La determinazione dell' NH_3 è attendibile solo se eseguita subito dopo il suo prelevamento o addizionando 0,8 ml di H_2SO_4 (acido solforico) per ritardare l'attività biologica e mantenere il bilancio di N_2 .

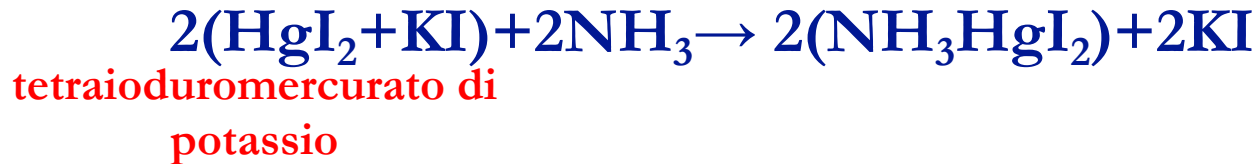
PRINCIPIO: L' NH_3 forma con il reattivo di Nessler un complesso giallo-bruno. La reazione è molto sensibile (0.1 ppm). Ca e Mg interferiscono per cui vanno eliminati per aggiunta di tartrato di sodio-potassio $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$

ANALISI DELL'AMMONIACA

Principio del metodo

Azoto ammoniacale

L'ammoniaca, (libera o idrolizzata) presente reagisce con una soluzione alcalina di iodo-mercurato di potassio (reattivo di Nessler) per formare un complesso colorato secondo la reazione:



L'assorbanza del complesso colorato viene misurata alla lunghezza d'onda di 420 nm.

ANALISI DELL'AMMONIACA

PROCEDIMENTO:

Si preleva 50 ml di campione e si aggiunge 0.5 ml di tartrato, si agita e si aggiunge 2 ml di Nessler agitando. Si legge al colorimetro dopo 20/30' a 420 nm.

50 ml
campione

0.5 ml di
tartrato

2 ml di
Nessler



Confronto retta di
taratura



420 nm

ANALISI DEI NITRITI

Azoto nitroso

Anche in questo caso la determinazione deve essere eseguita al più presto per impedire che i batteri lo trasformino in NH_3 o in NO_3^- .

PRINCIPIO:

La ricerca è basata sulla formazione di un colorante azoico di colore rosso, ottenuto mescolando all'acqua da analizzare il reattivo di Griess formato da una miscela di α -naftilammina (Griess A) ed acido solfanilico (Griess B), in soluzione acida (acido acetico - CH_3COOH). In queste condizioni il nitrito tende a formare acido nitroso (HNO_2), il quale reagendo con l'acido solfanilico produce un sale diazonio (diazotazione). Il sale di diazonio, a sua volta, dà una reazione di copulazione con l' α -naftilammina originando un colorante azoico di colorazione viola che presenta un picco massimo di assorbimento alla lunghezza d'onda di 540 nm. La sensibilità del saggio è di 2ppm. Il risultato viene espresso in mg/L di ione NO_2^- .

ANALISI DEI NITRITI

Azoto nitroso

PROCEDIMENTO

In un matraccio da 50 ml si introduce una aliquota di campione da analizzare, si aggiunge 1 ml di Griess A si agita e si lascia riposare per 5', quindi 1 ml di Griess B + 1 ml di sol. tampone, si agita e si porta a volume. Si legge dopo 30' a 520 nm.

Si fa presente che l' α -Naftilammina è una sostanza cancerogena di conseguenza è opportuno prendere tutte le precauzioni del caso (es. operare necessariamente sotto cappa)



ANALISI DEI NITRATI

Azoto nitrico

Questo metodo può essere applicato solo a campioni che abbiano un contenuto di sostanze organiche molto basso, come le acque potabili. Dopo aver acidificato il campione, si misura l'assorbanza rispettivamente a 220 nm (dove assorbono sia i nitrati che le sostanze organiche) e a 275 nm (dove assorbono solo le sostanze organiche) e poi si calcola l'assorbanza netta:

$$A = A_{220} - 2 * A_{275}$$

Questa relazione, puramente empirica, si basa sul presupposto che l'assorbanza delle sostanze organiche a 220 nm sia il doppio di quella a 275 nm. Tuttavia, se l'assorbanza a 275 nm supera del 10% l'assorbanza a 220 nm, il metodo non può essere usato e fornisce risultati puramente indicativi.

ANALISI DEI NITRATI

Azoto nitrico

PROCEDIMENTO: Bianco: A 50 ml di acqua dist. aggiungere 1 ml di HCl 1M

ANALISI DEL CAMPIONE: A 50 ml di campione aggiungere 1 ml di HCl agitare e leggere l'assorbanza. Ricavare la concentrazione dalla curva di taratura

50 ml
campione

1 ml di
HCl



Confronto retta
di taratura



220-275 nm

Il **NITRATO** si trova naturalmente nell'ambiente ed è un importante nutriente delle piante. È presente in diverse concentrazioni in tutte le piante ed è parte del ciclo dell'azoto.

Rappresenta lo stato di massima ossidazione dei composti azotati. La presenza dei nitrati nelle acque può avere origine sia naturale che antropica.

Nel primo caso i nitrati derivano dalle rocce e dai minerali con cui l'acqua viene a contatto durante il suo percorso, mentre la presenza di nitrati nelle acque causata da attività umane può essere ricondotta principalmente a due fonti:

- ✓ immissione nel corso d'acqua di liquami domestici o zootecnici: i nitrati costituiscono l'ultima tappa della degradazione di sostanze organiche azotate provenienti da scarichi urbani e da allevamenti. Essi, infatti, si formano dalla completa ossidazione dell'azoto ammoniacale, che viene dapprima trasformato in nitrito ad opera dei batteri del genere *Nitrosomonas* e quindi in nitrato ad opera dei batteri del genere *Nitrobacter*, che con l'ossidazione del nitrito a nitrato completano il processo della nitrificazione.
- ✓ dilavamento di terreni trattati con fertilizzanti azotati: l'azoto è uno dei principali nutrienti utilizzati per favorire la crescita delle piante. Tuttavia, il nitrato è altamente solubile e la quantità in eccesso raggiunge i corpi idrici superficiali attraverso gli scarichi di deflusso dei campi.

Livelli elevati di nitrati e/o di fosfati possono provocare il fenomeno dell'eutrofizzazione.

Il **NITRITO** non è generalmente presente in concentrazioni significative, eccetto che in un ambiente riducente, dal momento che il nitrato rappresenta lo stato di ossidazione più stabile. Esso si può formare dalla riduzione microbica del nitrato ed in vivo dalla riduzione del nitrato ingerito attraverso la dieta. Il nitrito si può anche formare chimicamente nelle tubazioni idriche in acciaio zincato ad opera dei batteri del genere *Nitrosomonas* durante la stagnazione di acque contenenti nitrato e povere di ossigeno.

Poiché i nitriti sono trasformati facilmente e rapidamente in nitrati, la loro presenza in un corso d'acqua, specie se accompagnata dalla presenza dello ione ammonio, indica un processo ossidativo ancora in atto e quindi un inquinamento organico di origine recente.

FONTI DI CONTAMINAZIONE E VIE DI ESPOSIZIONE PER L'UOMO

Il nitrato può raggiungere sia le acque superficiali che quelle profonde attraverso le acque reflue provenienti da attività agricole (ad es. utilizzo di fertilizzanti) acque di dilavamento di discariche di rifiuti, con reflui di origine umana o animale ed industriale. Alcune acque profonde possono essere contaminate da nitrati come conseguenza della lisciviazione dalla vegetazione naturale. Generalmente la principale fonte di esposizione a nitrati e nitriti avviene attraverso i vegetali ed attraverso la carne presente nella dieta (il nitrito è utilizzato come conservante in numerosi insaccati). In alcuni casi anche l'acqua potabile può contribuire in modo significativo all'esposizione al nitrato ed occasionalmente anche al nitrito.

SOSTANZE TOSSICHE

Queste sostanze dovrebbero essere totalmente assenti nella acque destinate al consumo umano. L'ampia diffusione ambientale di queste sostanze dovuto all'uso massiccio in industria e in agricoltura, rende necessario tollerarne la presenza purché rientri in concentrazioni che limitino il rischio di danno alla salute.

Piombo

Cadmio

Zinco

Cromo

Cianuri

I.P.A.

Antiparassitari

SOSTANZE TOSSICHE

Possono compromettere la vita acquatica per lunghi periodi di tempo

Per i pesci i fenoli risultano sempre tossici ma, se superano certe concentrazioni (5 mg/l), si rivelano letali

I cianuri possono risultare letali anche a basse concentrazioni



METALLI PESANTI

si concentrano nei tessuti di fitoplancton, zooplancton e macroinvertebrati, che a loro volta costituiscono l'alimento di avannotti e piccoli pesci, e così via, fino a risalire, nella catena alimentare, ai super predatori, come gli uccelli ittiofagi.

In questi animali si osserva dunque un fenomeno di bioaccumulo di queste sostanze, che a causa delle elevate concentrazioni raggiunte, può generare patologie di vario tipo

Addolcimento delle acque (1)

Metodo della "Calce e soda"

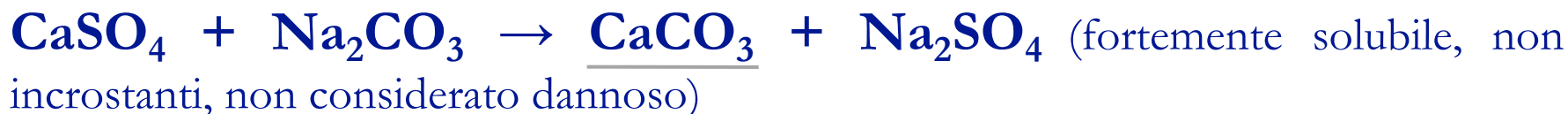
Calce \rightarrow Ca(OH)_2 (idrossido di Ca)

Soda \rightarrow Na_2CO_3 (carbonato di Na)

La calce, stemperata nell'acqua, forma idrato (o idrossido) di calcio, Ca(OH)_2 , che reagisce con il bicarbonato di Ca



Il carbonato di sodio immesso nell'acqua insieme alla calce reagisce con il solfato di Ca



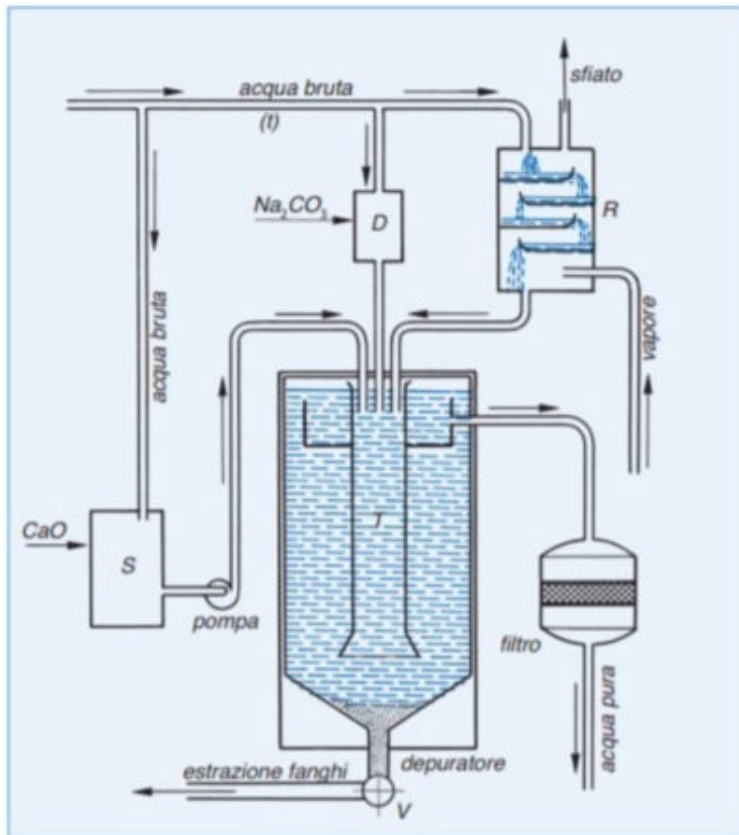
Allo stesso modo si elimina il cloruro di magnesio che reagendo con l'idrossido di calcio:

Precipita



- Azione sulla durezza temporanea
- Azione sulla durezza legata al Magnesio
- Azione sulla durezza totale

SCHEMA DEPURATORE A CALCE E SODA

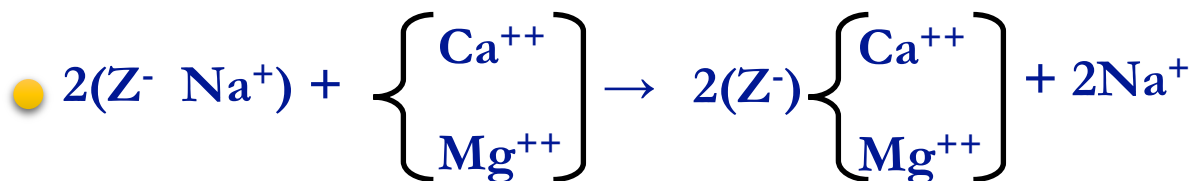


L'acqua proveniente dalla tubazione (t) si suddivide in tre rami; una parte va al saturatore di calce (S) dal quale viene prelevata con una pompa e inviata nel tubo miscelatore (T) contenuto entro il depuratore; un'altra aliquota passando attraverso il dosatore di soda (D) penetra nel tubo miscelatore, e il rimanente passa attraverso un riscaldatore a vapore (R) per essere poi inviata anch'essa al miscelatore. La presenza del riscaldatore permette di accelerare i tempi del processo riducendo la durezza fino a $2 \div 3$ gradi francesi, cosa impossibile nel trattamento a freddo, con il quale non si riesce a scendere al disotto di $5 \div 6$ gradi oltre a impiegare un tempo notevole per lo svolgimento dell'operazione. L'acqua uscente dal tubo di miscelazione (T) risale lentamente nello spazio anulare compreso fra il tubo stesso e le pareti del depuratore abbandonando le sostanze insolubili che si depositano sul fondo da dove vengono estratte mediante l'apertura della valvola (V) di spurgo.

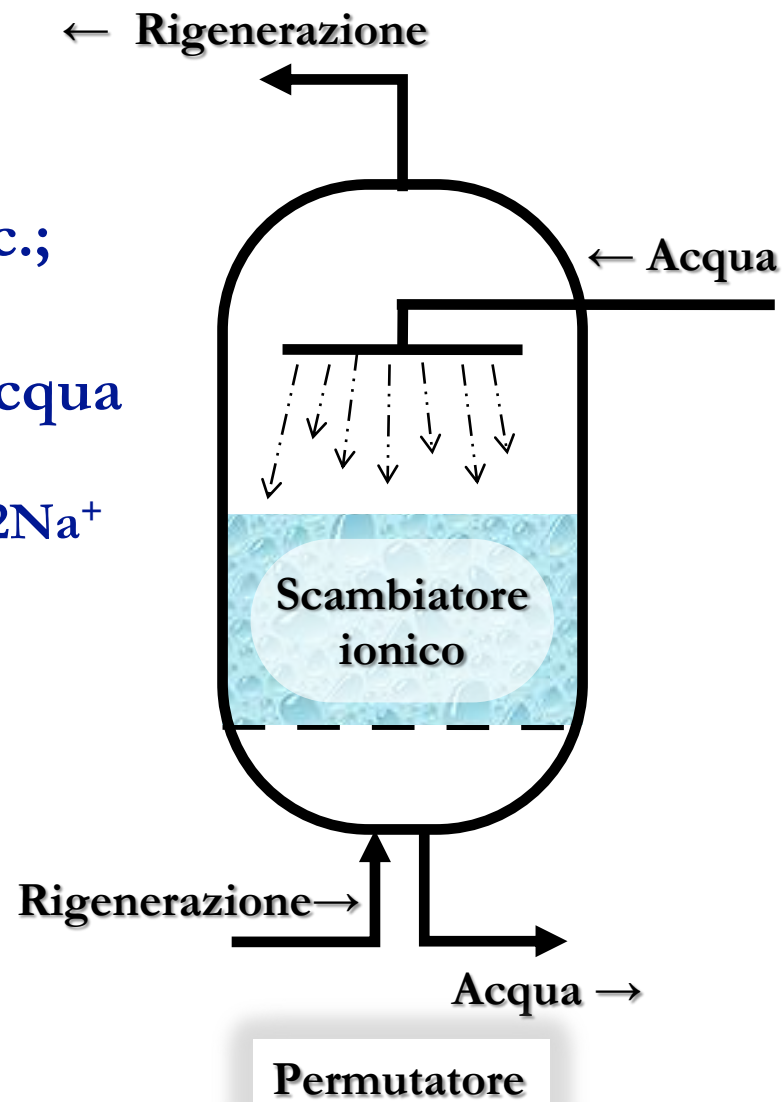
Addolcimento delle acque (2)

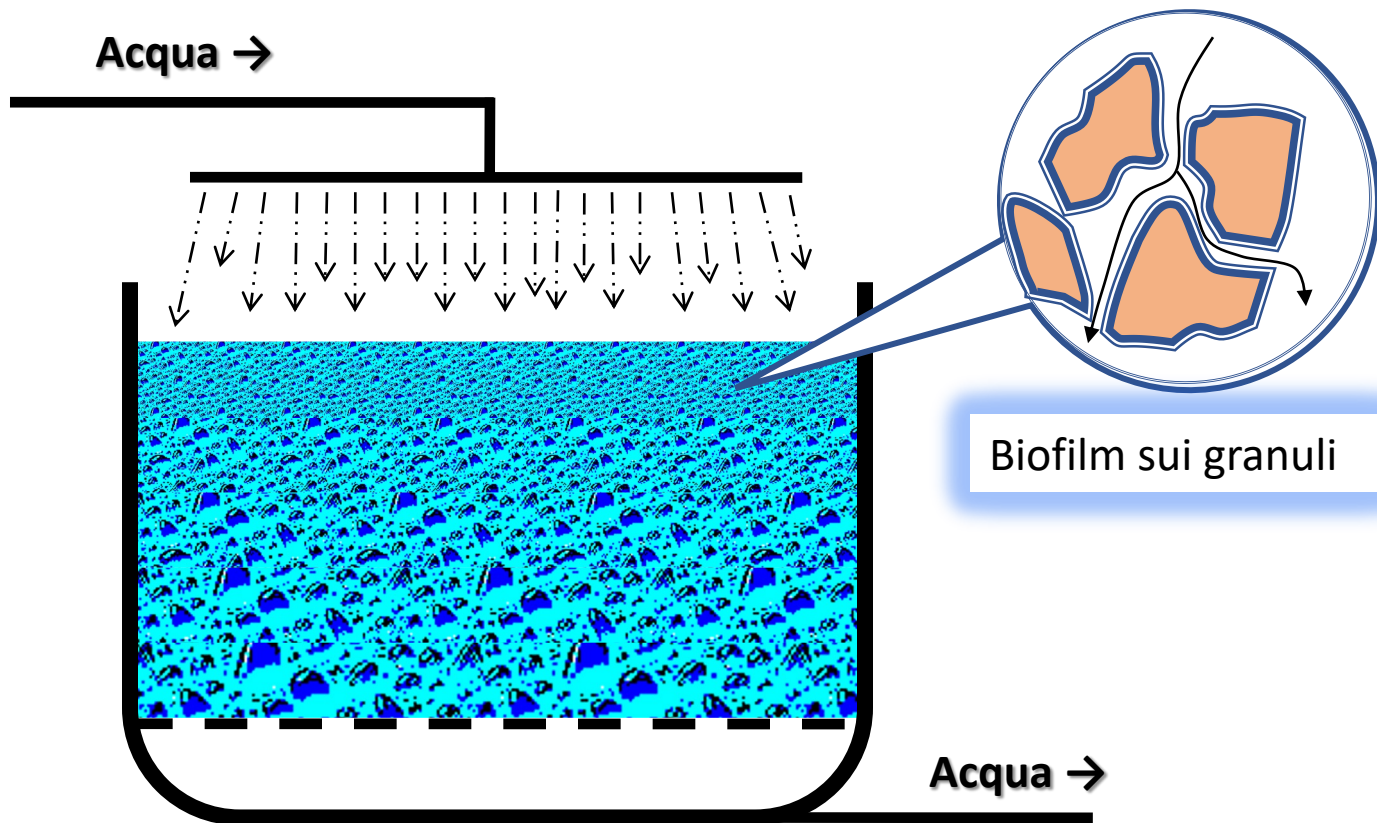
Scambio ionico

Zeoliti (naturali: argille, glauconiti, ecc.; sintetiche: silico-alluminati sodici) scambiano il sodio con Ca e Mg dell'acqua



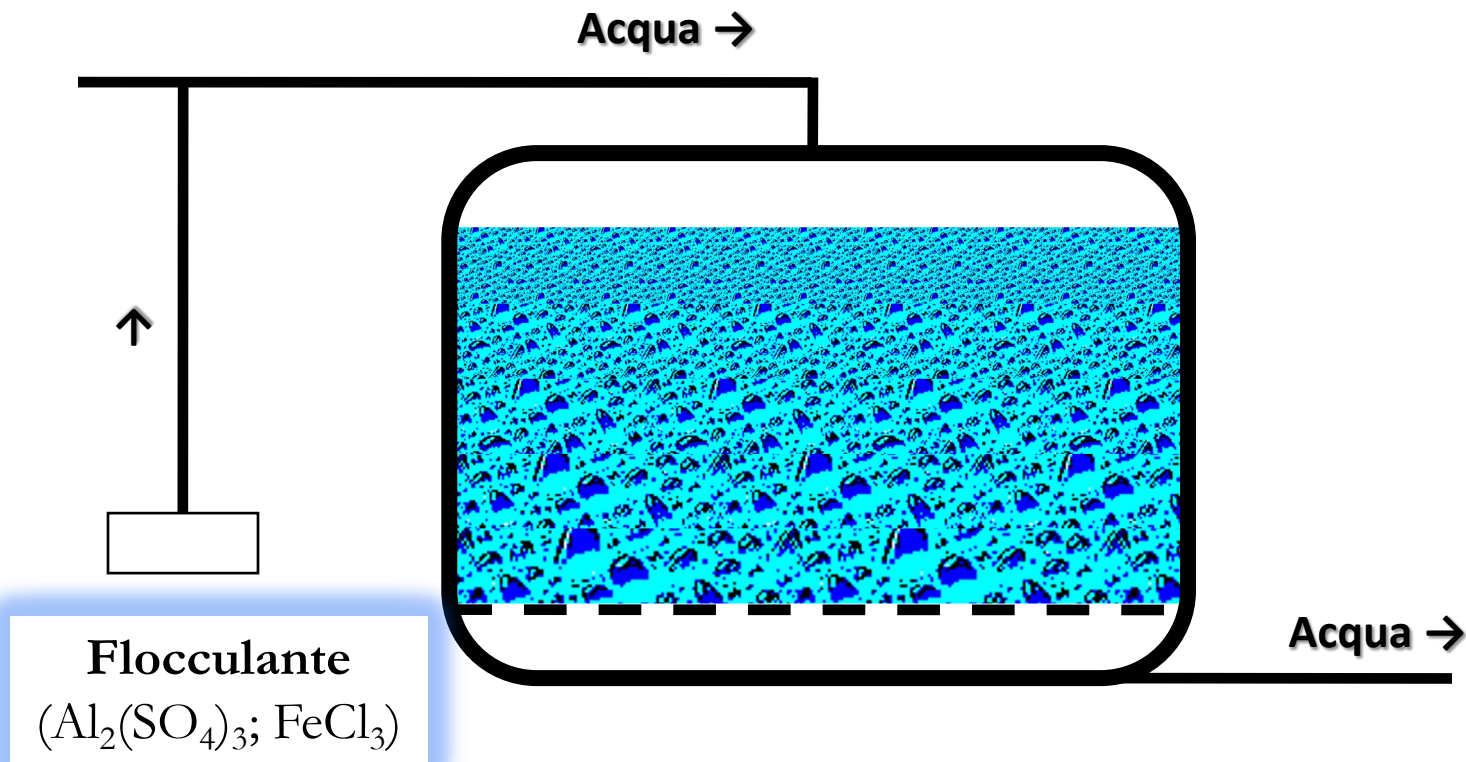
L'acqua, a contatto con le zeoliti, cede Ca e Mg acquistando il sodio, sale che non dà incrostazioni. Le zeoliti esauste vengono rigenerate ponendole in una soluzione di sale da cucina (cloruro di sodio) entro la quale il processo di scambio si inverte; le resine assorbono il sodio cedendo il calcio e il magnesio, così da essere nuovamente in condizione di esplicare azione di depurazione delle acque.





Sistema di filtri a sabbia che permette un'elevata filtrazione, nonché un'ossidazione delle sostanze organiche carboniose e dell'ammoniaca. Entro breve tempo dall'inizio del funzionamento, si forma sulla superficie della sabbia una membrana biologica (costituita da particelle organiche e minerali e da una microflora) la quale, più che esplicare un'attività mineralizzante, migliora la filtrazione.

Filtro lento o Inglese



È un sistema di filtri a sabbia che permette una rapida filtrazione del mezzo liquido. L'operazione di filtrazione è preceduta da processi di precipitazione chimica. L'eccessiva colorazione o torbidità, essendo dovute di solito a particelle colloidali, possono essere corrette con i procedimenti di coagulazione, sedimentazione e filtrazione dell'acqua.

Per la **coagulazione** si procede con l'impiego di sostanze (solfato di alluminio, o Sali di ferro) che hanno la funzione di riunire le minute particelle in fiocchi (flocculazione) che, avendo dimensioni maggiori, sedimentano oppure, se galleggiano, vengono separate per flottazione

Filtro rapido o americano

Filtro lento di Puech – Chabal

Costituito da una serie di bacini in cui sono frazionate le operazioni di filtrazione.

Questo sistema si compone di tre fasi principali:

- ✓ sedimentazione (decantazione),
- ✓ prefiltrazione,
- ✓ filtrazione frazionata.

Esso è quindi composto di “filtri grossolani”, “prefiltri” e “filtri”, costituiti tutti da ghiaie e sabbie di vario diametro e spessore riproducendo la naturale filtrazione che il terreno attua nei confronti dell’acqua piovana.

Al termine della filtrazione si ottiene una purificazione del 90% per quanto riguarda i materiali sospesi..

ESEMPI

A₁

Coli fecali/100 mL = 100

Enterococchi/100 mL = 100

Disinfezione



Disinfezione

Filtrazione



Disinfezione

Filtrazione

Disinfezione



A₂

Coli fecali/100 mL = 2.000

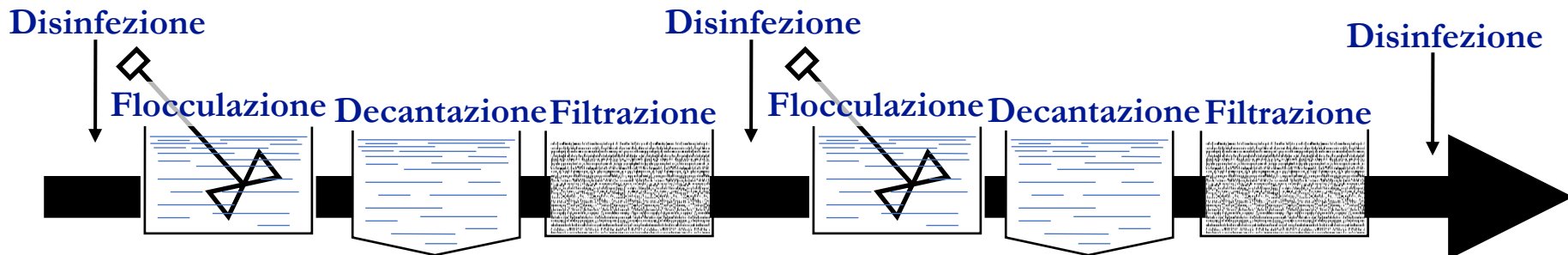
Enterococchi/100 mL = 1.000



A₃

Coli fecali/100 mL = 20.000

Enterococchi/100 mL = 10.000



L'analisi chimica può essere definita come quell'insieme di operazioni volte a mettere in evidenza gli elementi che costituiscono un composto o una miscela di composti.

qualitativa



ha lo scopo di identificare i componenti del campione da analizzare

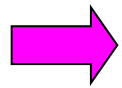
quantitativa



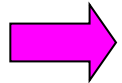
si propone di determinare le proporzioni in cui i componenti sono presenti

Nel caso dell'analisi quantitativa è necessario conoscere anche con esattezza l'equazione stechiometrica e la composizione dei prodotti ottenuti

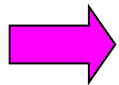
METODI ANALITICI



Metodi gravimetrici



Metodi volumetrici



Metodi chimico-fisici

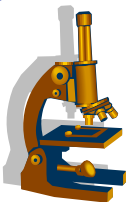
titolazione

potenziometrici

diffrattometrico

cromatografico

spettrofotometrico



METODI GRAVIMETRICI

La base dell'analisi gravimetrica è la precipitazione. In tale operazione la sostanza da determinare viene trasformata in un composto di solubilità così piccola da poter essere separato per filtrazione in modo praticamente totale.

Nella estrema semplicità concettuale del metodo sta il suo principale vantaggio; conseguentemente risulta assai facile valutare l'accuratezza e l'affidabilità dei risultati ottenuti.

Contrastano con tale vantaggio alcuni grossi svantaggi e precisamente la scarsa selettività, che obbliga spesso a faticose separazioni prima di effettuare la determinazione gravimetrica

METODI VOLUMETRICI

La volumetria si basa sull'impiego di soluzioni a titolo noto che vengono aggiunte, sotto forma di piccole frazioni volumetriche successive e note, alla soluzione che contiene la specie che si vuole dosare.

Titolazioni

Il punto finale della titolazione, dal quale perciò è possibile, sulla base della conoscenza della concentrazione della soluzione titolante, ricavare la concentrazione della soluzione titolata, viene messo in evidenza dalla variazione di colore che subisce un indicatore aggiunto a tale fine alla soluzione.

METODI CHIMICO-FISICI

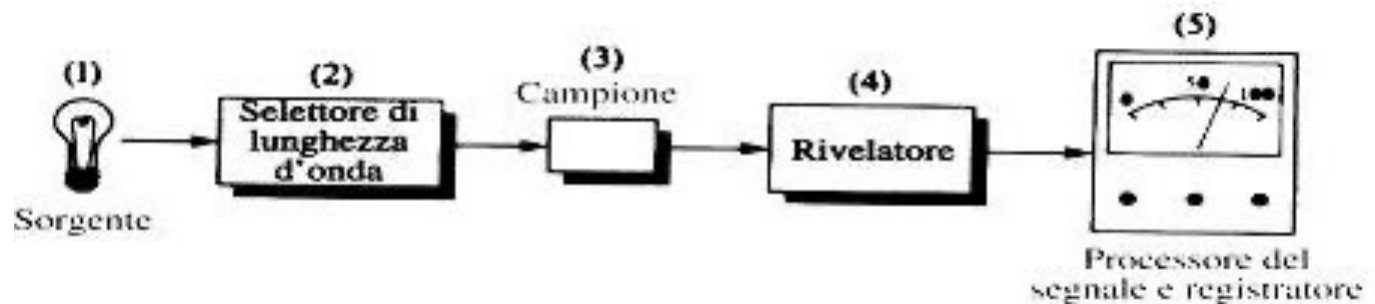
Le grandezze fisiche fondamentali che possono essere misurate direttamente sono in realtà non molte. La maggior parte delle misure che l'analista effettua in laboratorio consiste nel rilevare lo spostamento lineare od angolare di un certo indice su una scala.

Esempio: nell'impiego della buretta si registra la posizione iniziale e finale del menisco; in quello della bilancia il valore dei pesi tarati che dobbiamo aggiungere su uno dei due piatti per riportare a zero l'indice; nelle misure elettriche si misura lo spostamento angolare dell'ago dello strumento impiegato (amperometro, potenziometro, conduttimetro). Le apparecchiature più moderne, tuttavia, impiegano sistemi di rilevazione digitale.

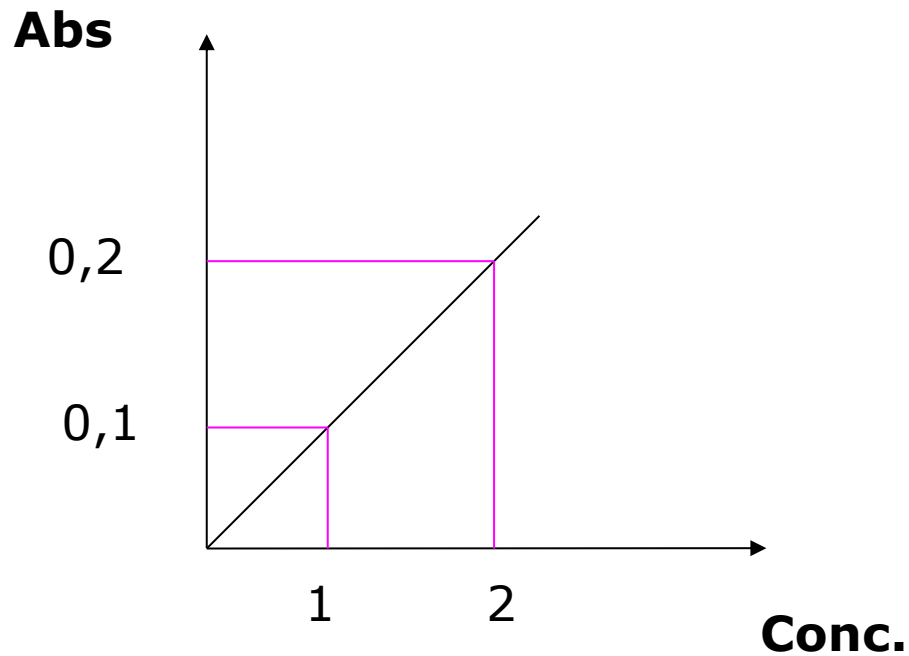
Le parti essenziali di uno spettrofotometro sono:

- la sorgente di energia raggiante (che varia a seconda del campo di lunghezza d'onda prescelto),
- il monocromatore prisma o reticolo,
- le celle che contengono il campione e la soluzione di riferimento (bianco),
- il rivelatore.

Schema di uno spettrofotometro



RETTA DI TARATURA



*Si ottiene
utilizzando delle
soluzioni a
concentrazioni
note*

PARAMETRI MICROBIOLOGICI

Un'acqua potabile deve essere *batteriologicamente pura* ovvero devono essere assenti i microrganismi patogeni.

I microrganismi patogeni che possono ritrovarsi nell'acqua sono quelli responsabili di infezioni a diffusione oro-fecale immessi nell'ambiente per eliminazione con le feci.

INDICATORE

Parametro o specie chimica, fisica o biologica avente una relazione, razionale o empirica, stretta con un fenomeno o una caratteristica ambientale, in grado di riassumere le caratteristiche generali del fenomeno o del comparto ambientale pur descrivendone solo una parte.

QUALITATIVO

La sua presenza o assenza segnala la presenza o assenza di un dato fenomeno

QUANTITATIVO

La sua presenza in quantità superiore ad un determinato limite segnala la presenza o assenza di un dato fenomeno

CRITERI DI SCELTA DEI PARAMETRI MICROBIOLOGICI DA VALUTARE

**L'OBIETTIVO CONSISTE NEL VERIFICARE
LA POSSIBILITA' DI UN INQUINAMENTO FECAL**

**PERTANTO NON SI RICERCANO DIRETTAMENTE I
PATOGENI (BATTERI, VIRUS, PROTOZOI) CHE SONO
ASSAI NUMEROSI E RICHIEDEREBBERO MOLTE
ANALISI COMPLESSE E MOLTO TEMPO PER
OTTENERE I RISULTATI E CHE – INOLTRE – NON
SEMPRE SONO PRESENTI ANCHE SE VI E' UNA
CONNESSIONE CON ESCRETI UMANI O ANIMALI
MA SI RICERCANO DEGLI “INDICATORI FECALI” CHE
SONO ASSAI PIU' NUMEROSI (n/grammo feci) E SEMPRE
PRESENTI SE VI E' TALE CONNESSIONE**

REQUISITI DI UN GERME INDICE DI CONTAMINAZIONE:

- ✓ avere la stessa nicchia ecologica del patogeno
- ✓ avere la stessa modalità di trasmissione del patogeno
- ✓ essere presente in numero elevato
- ✓ essere facilmente rilevabile

PROPRIETÀ DI UN INDICATORE

RAPPRESENTATIVITÀ

Deve essere correlabile ad un certo fenomeno

Non deve essere mascherato da altri fattori

Deve poter essere applicabile a situazioni diverse

ACCESSIBILITÀ

Deve essere facilmente campionabile e valutabile

Deve avere una soglia di rilevabilità analitica accessibile

AFFIDABILITÀ

Deve essere soggetto al minor numero possibile di errori sistemati

OPERATIVITÀ

Deve essere facilmente applicabile

INDICATORI DI INQUINAMENTO

Nelle feci degli uomini e degli animali sono sempre presenti quali costituenti della flora intestinale, alcuni batteri ad azione prevalentemente saprofitica.

Coliformi fecali

Enterococchi fecali

Escherichia coli

Coliformi totali

Conta batterica a 22°C e 37°C

Clostridi solfito riduttori

Insieme ad essi possono esserci anche germi patogeni. In nessun caso possono ritrovarsi microrganismi patogeni in assenza dei batteri saprofiti.

COLIFORMI TOTALI

bastoncini Gram (-) aerobi o anaerobi facoltativi, appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*. Batteri lattosio fermentanti con produzione di gas. Presenti nel materiale fecale di origine umana (10^9 UFC/g), colonizzano il suolo, aria, acqua e vegetazione.

Devono risultare assenti in 100 ml di acqua.

Indicatori di qualità delle acque possono fornire indicazioni sull'efficienza dei trattamenti

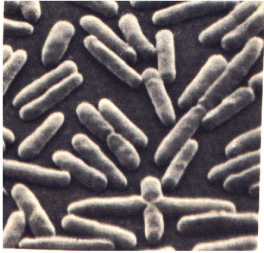


COLIFORMI FECALI

bastoncini Gram (-) aerobi o anaerobi facoltativi, appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriacee*. Batteri lattosio fermentanti con produzione di gas. Presenti nel materiale fecale di origine umana (10^8 UFC/g). Termotolleranti. Sono considerati indicatori di contaminazione in atto.

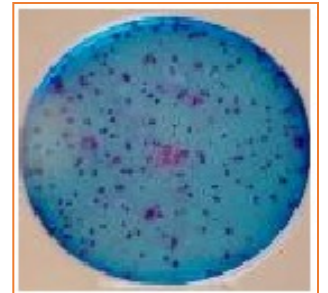


Escherichia coli



È un'ospite normale dell'organismo umano di cui rappresenta la specie predominante nella popolazione batterica residente nell'intestino.

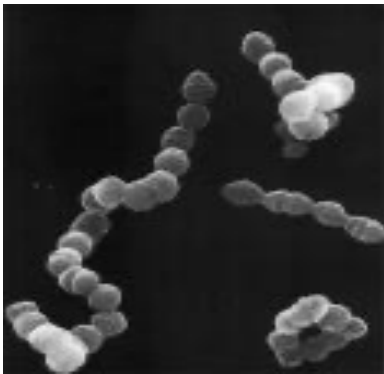
Si ritrova nelle acque di scarico, negli effluenti trattati e nei suoli sottoposti a contaminazioni fecali recenti, dovuti all'uomo, agli animali da allevamento e selvatici, agli uccelli. La sua presenza nell'acqua può essere considerata indizio sicuro di contaminazione fecale. È l'agente eziologico più frequente ed importante di infezioni delle vie urinarie e alcuni stipiti sono agenti eziologici di enteriti.



Enterococchi

cocchi Gram (+) con tendenza a disporsi a catena aerobi anaerobi facoltativi del genere *Enterococcus*. Si trovano nel tratto gastrointestinale di animali a sangue caldo.

Devono risultare assenti in 100 ml di acqua.



Si moltiplicano raramente nelle acque inquinate e sono più persistenti di *E. coli* e dei batteri coliformi. Il loro valore primario per l'esame della qualità dell'acqua è perciò quello di indicatori aggiuntivi. Inoltre, gli enterococchi sono altamente resistenti all'essiccamento e possono essere utili per il rilevare la contaminazione di acque sotterranee o superficiali causata dal dilavamento del suolo.

Clostridi solfito riduttori

Sono organismi anaerobi e sporigeni, il più caratteristico dei quali *C. perfringens* è normalmente presente nelle feci, sebbene in numeri molto minori di *E. coli*.

Tuttavia i clostridi non hanno esclusivamente una origine fecale e possono derivare da altre fonti ambientali. Le spore dei clostridi possono sopravvivere in acqua molto più a lungo degli organismi del gruppo dei coliformi e, inoltre, resistono alla disinfezione. A causa della loro longevità, trovano il loro impiego migliore come indicatori di contaminazione intermittente o remota. Poiché tendono a sopravvivere e ad accumularsi, possono essere rilevabili per lungo tempo dopo la contaminazione e in punti distanti dalla fonte contaminante.

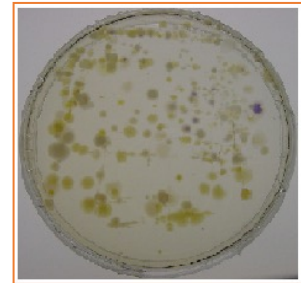


Conta batterica a 22°C e 37°C

Permette di evidenziare la presenza di microrganismi eterotrofi aerobi ed anaerobi facoltativi.

La flora che si sviluppa a 22°C veniva tradizionalmente considerata espressione della flora batterica autoctona dell'acqua, delle specie telluriche.

La flora che si sviluppa a 37°C è invece considerata espressione della presenza di batteri ospiti degli animali a sangue caldo. Attualmente tale distinzione non viene più considerata valida in senso stretto. La carica batterica totale indica la potenzialità che un'acqua ha di sostenere la moltiplicazione microbica. Inoltre la Conta batterica deve essere considerata un indice di qualità integrativo ad altri parametri analitici.



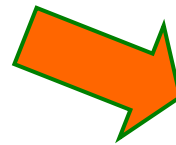
metodi di indagine dei parametri microbiologici

Momenti dell'analisi

- Conteggio
- Isolamento
- Identificazione

conteggio

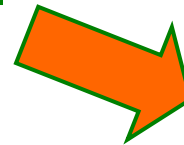
Numerazione in terreno solido



Tecnica di inclusione nella
massa

Tecnica delle membrane
filtranti

Numerazione in terreno liquido



MPN

RICERCA DEGLI INDICATORI

Alcuni esempi

Tecnica delle membrane filtranti:

Parametro

- coliformi totali
- coliformi fecali
- streptococchi fecali
- *Escherichia coli*
- *Spore di clostridi solfito riduttori*

Terreno selettivo

- Endo agar
- Mfc agar
- Kf agar
- Tbx agar
- SPS agar
(anareobiosi)

Metodo delle membrane filtranti



RICERCA DEGLI INDICATORI

Conta batterica a 22°C e 37°C

Tecnica dell'inclusione nella massa

Terreno nutritivo

- Conta batterica totale a 22°C
- Conta batterica totale a 37°C

Nutrient agar

Nutrient agar

TECNICA DI INCLUSIONE NELLA MASSA



1 ml di campione



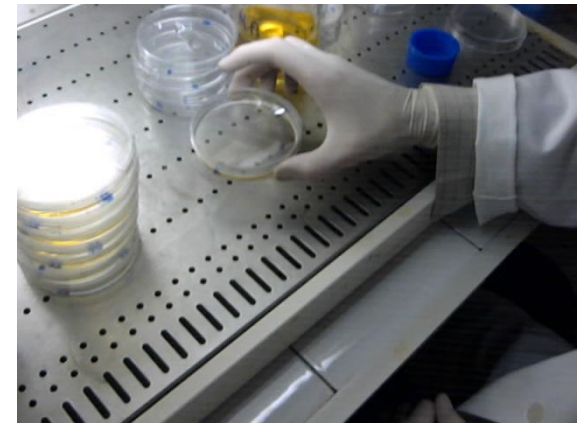
Inoculo del campione

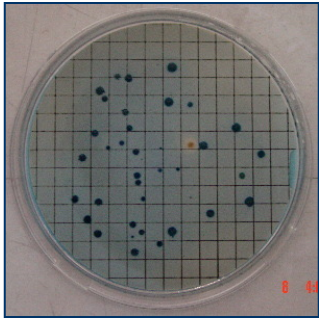


Terreno fuso



mescolare

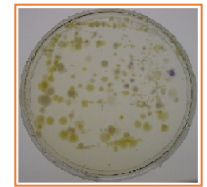




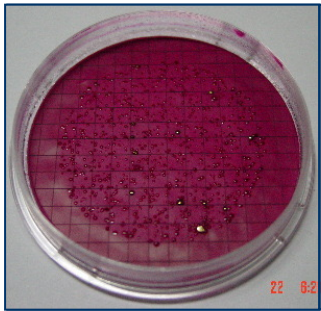
Membran fecal coliform
agar (MFC)



KF agar



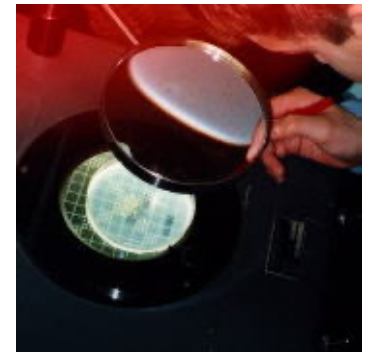
Nutrient
agar



Endo agar les

*Riconoscimento di
colonie con colore e
forma caratteristiche*

identificazione
e
conteggio



- Pre-trattamento del campione a 80°C



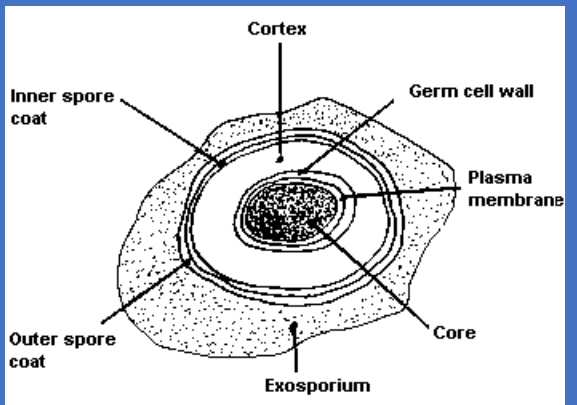
Shock termico che determina la germinazione delle spore



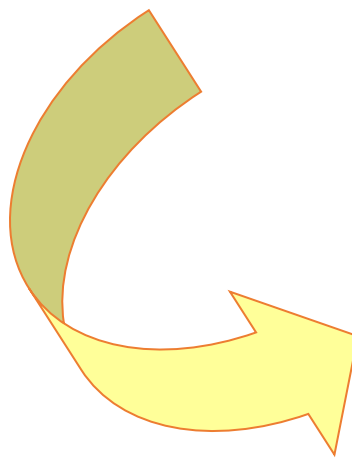
SPS Agar



spore



Giara per anaerobiosi



Conta microbica: tecniche indirette in terreno liquido

MPN (coliformi totali)

MPN = *Most Probable Number* (Numero Più Probabile)

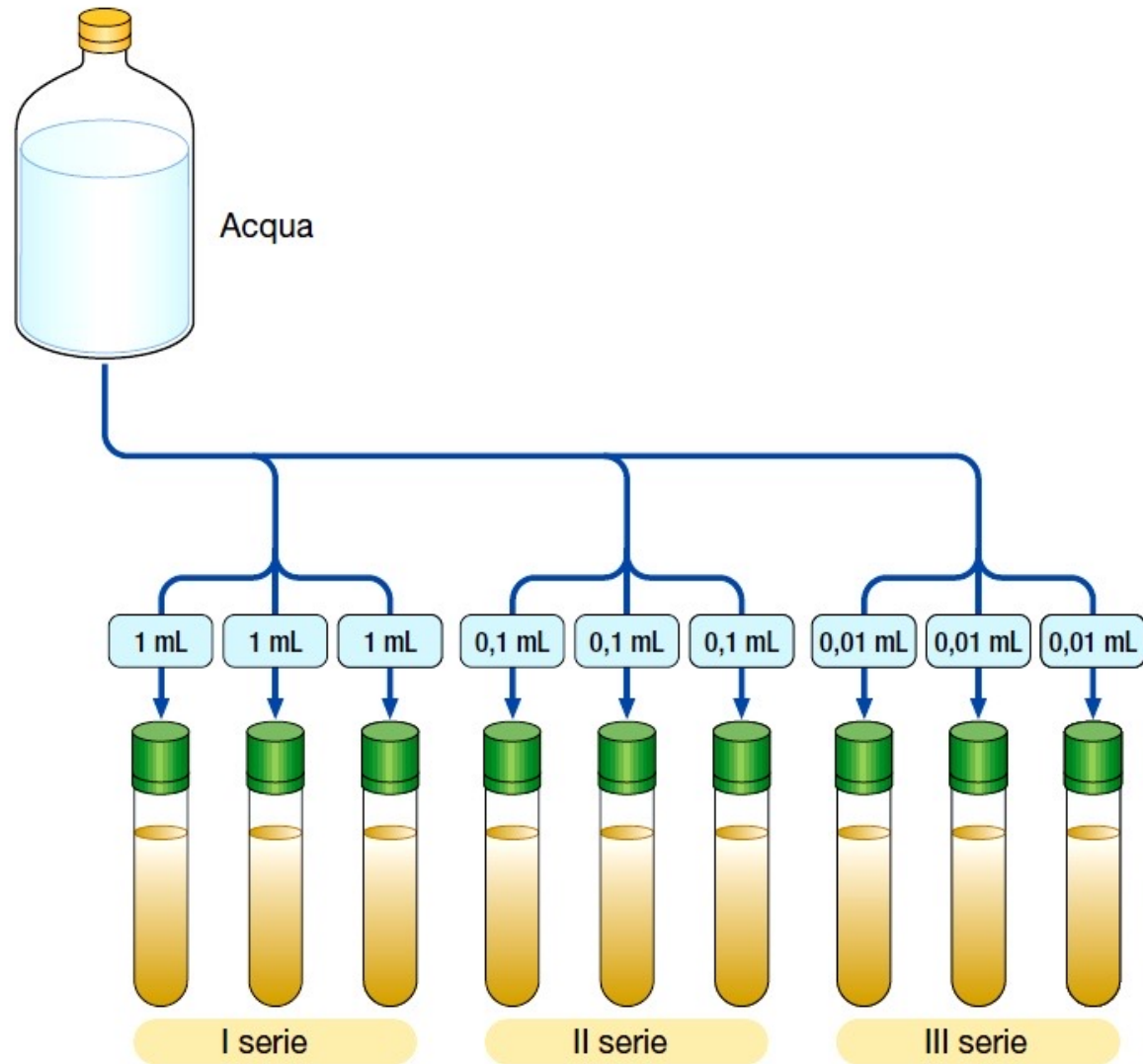
principio del metodo

- ✓ distribuzione casuale e non uniforme dei microrganismi nel campione
- ✓ elaborazione statistica dei risultati

MPN: tecnica

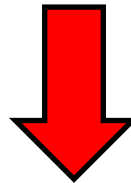
- allestire 3 serie di colture in provette (3 o 5 provette per ogni serie)
- le provette di ogni serie contengono la stessa quantità di campione
- ogni serie viene inoculata con aliquote decrescenti del campione
- valutare, sul totale di provette per ogni serie, quelle positive (torbidità e/o sviluppo di gas)

MPN: schema operativo



MPN: lettura

Serie	Tubi positivi
I	3
II	2
III	0



numero caratteristico di riferimento per tabelle Mc Crady = 320

MPN = 9,5

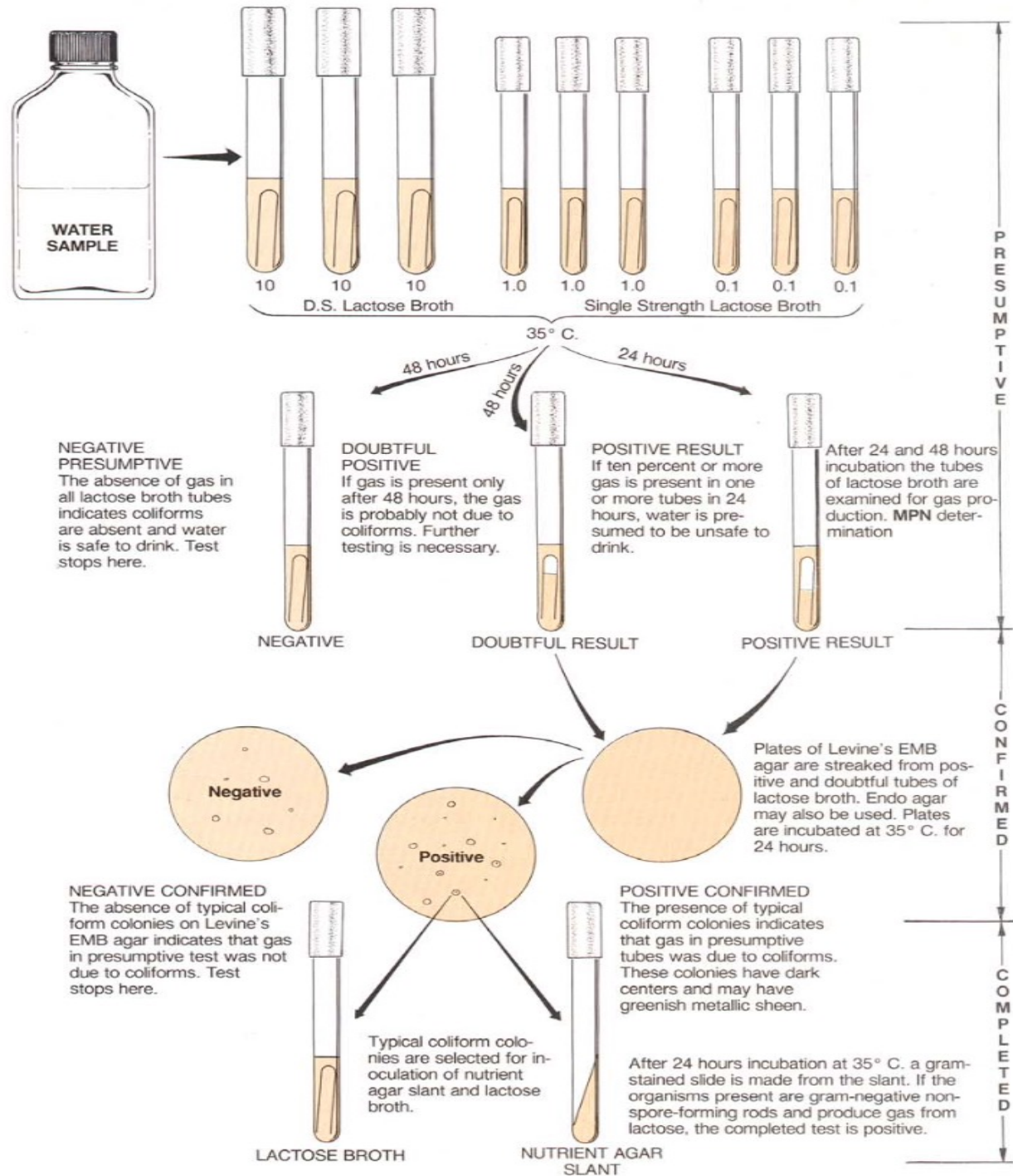
MPN

tabelle di McCrady

Tavola di McCrady. Tre tubi per diluizione, inoculi 1; 0,1; 0,01 g o mL. Numero caratteristico MPN/g o mL

NUMERO CA- RATTERISTICO	NUMERO DI MICROGANI- SMI	NUMERO CA- RATTERISTICO	NUMERO DI MICROGANI- SMI	NUMERO CA- RATTERISTICO	NUMERO DI MICROGANI- SMI
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		

M O S T P R O B A B L E Z E R S A R E





ENUMERAZIONE BATTERICA

Formula di Thomas per MPN

$$X = \frac{P}{\sqrt{NT}} \bullet 100$$

P = numero di tubi positivi

N = volume del campione nei tubi negativi

T = volume totale del campione inoculato in tutti i tubi

X = numero di germi per 100 ml

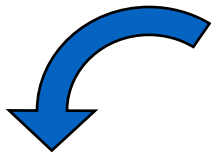


ENUMERAZIONE BATTERICA

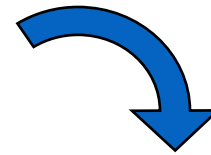
Tecnica MPN

SVANTAGGI

- ❖ Metodica lenta (48-96 h) e laboriosa
- ❖ Procedimento costoso
- ❖ Manca di precisione nei risultati
- ❖ I risultati possono essere inficiati da fenomeni di interferenza dovuti alla presenza nel campione di:



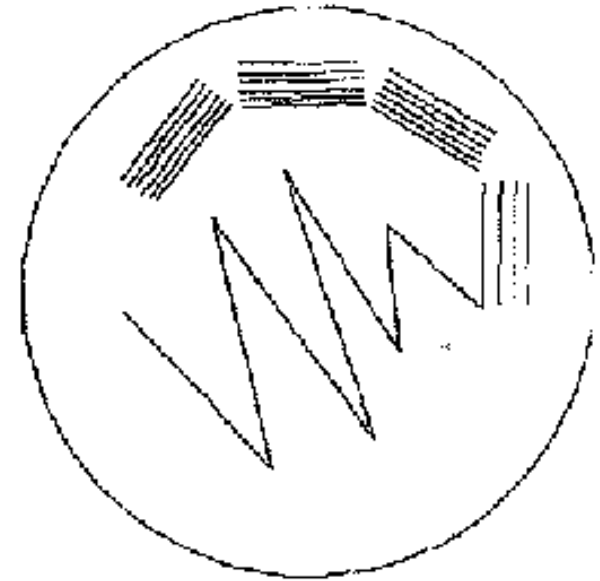
Flora microbica
concorrente



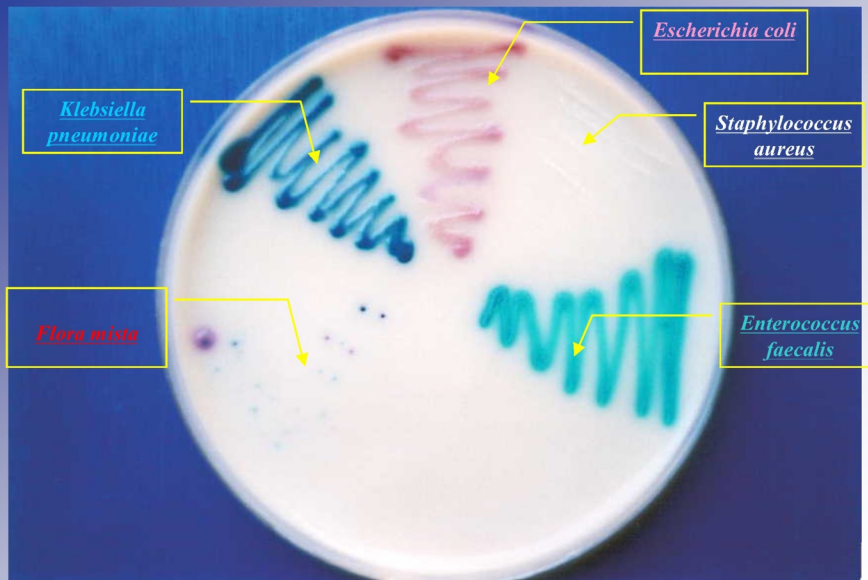
Elevata concentrazione di nitrati che inibisce
l'attacco fermentativo dei coliformi agli
zuccheri (EFFETTO ANAEROGENICO)

isolamento

Scegliere una colonia separata su una piastra di agar inoculata con il campione e strisciarla con un'ansa da batteriologia



Identificazione batterica su piastra cromogena



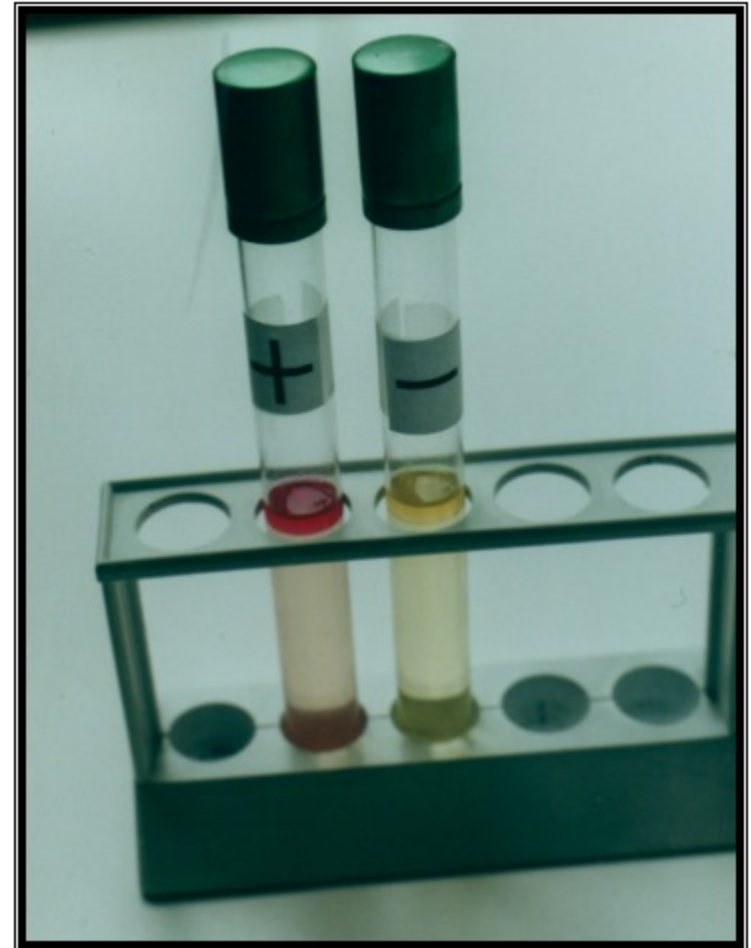
Terreno cromogeno

identificazione

Prova di conferma della presenza dell'indolo con acqua triptonata e reattivo di Kovacs*



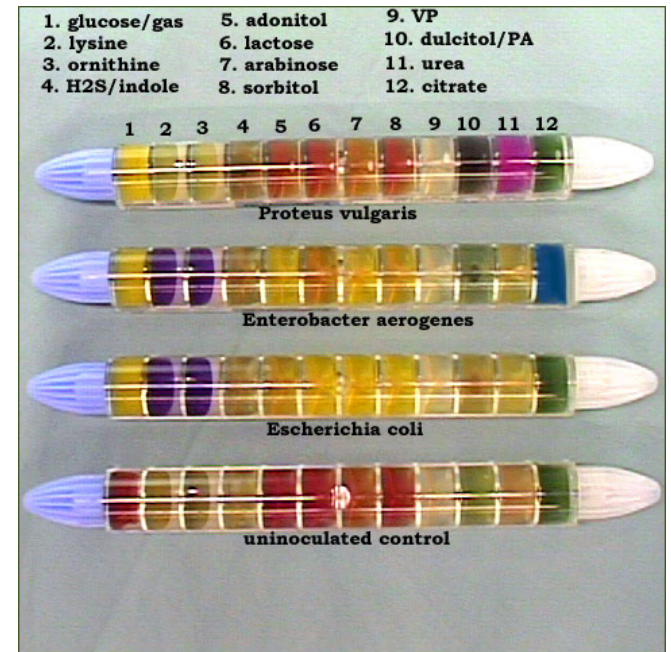
* I batteri che hanno l'enzima triptofanasi sono capaci di idrolizzare e deaminare il triptofano contenuto in un terreno colturale con produzione di indolo, acido piruvico e ammoniaca. L'indolo reagisce con il gruppo aldeidico della p-dimetilaminobenzaldeide con la formazione di un complesso rosso. La produzione di indolo è un importante carattere per l'identificazione di molte specie microbiche ed è particolarmente utile nel separare *E. coli* (+) dai membri del gruppo *Klebsiella-Enterobacter-Hafnia-Serratia* (per lo più negativi al test)



identificazione

enterotube

Test
Biochimici



api

RIFERIMENTI LEGISLATIVI

Acque potabili

- DPR n°236 del 1988
- D.Lvo n° 31 del 2001

Acque ad uso umano

- DL n°258 del 2000
- DL n°152 del 1999



D. Lgs 2 febbraio 2001

Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano



ACQUE DESTINATE AL CONSUMO UMANO

ACQUE DESTINATE AD UN USO DIRETTO

⇒ Acque trattate e non trattate, destinate ad uso potabile, per la preparazione di cibi e bevande, o per altri usi domestici, a prescindere dalla loro origine, siano esse fornite tramite una rete di distribuzione, mediante cisterne, in bottiglie o in contenitori

ACQUE UTILIZZATE DA IMPRESE ALIMENTARI

⇒ Acque utilizzate in un'impresa alimentare per la fabbricazione, il trattamento, la conservazione o l'immissione sul mercato di prodotti o di sostanze destinate al consumo umano



Art. 2 comma 1 lettera a)

D.Lgs 2 febbraio 2001

Non si applica



- ⇒ Acque minerali naturali
- ⇒ Acque medicinali riconosciute
- ⇒ Acque destinate esclusivamente a quegli usi per i quali la qualità degli stessi non ha ripercussioni, dirette o indirette, sulla salute dei consumatori interessati



ACQUE DESTINATE AL CONSUMO UMANO

Devono essere

Salubri & Pulite

Non devono contenere microrganismi e parassiti, né altre sostanze, in quantità o concentrazioni tali da rappresentare un potenziale pericolo per la salute umana

Conformità ai parametri indicatori (art. 14)



CONTROLLI



I controlli (interni ed esterni) devono essere effettuati:

- a) Ai punti di prelievo delle acque superficiali e sotterranee da destinare al consumo umano
- b) Agli impianti di adduzione, di accumulo o di potabilizzazione
- c) Alle reti di distribuzione
- d) Agli impianti di confezionamento di acqua in bottiglia o in contenitori
- e) Sulle acque confezionate
- f) Sulle acque utilizzate nelle imprese alimentari
- g) Sulle acque fornite mediante cisterna, fissa o mobile

In sede di controllo debbono essere utilizzate, per l'analisi dei parametri dell'allegato I, le specifiche indicate nell'allegato III

CONTROLLI INTERNI



Quelli effettuati dal gestore del servizio idrico

Sono concordati con l'ASL

Si avvalgono di laboratori interni ovvero stipulano convenzioni con altri gestori. Non possono essere eseguiti dai laboratori che effettuano controlli esterni

I risultati dei controlli devono essere conservati 5 anni

CONTROLLI ESTERNI



Vengono svolti dall'ASL competente che comunica al Ministero della Salute e alla Regione i punti di prelievo e le frequenze di campionamento

..che assicura una ricerca supplementare per le sostanze o microrganismi non previsti dall'allegato I, qualora vi sia rischio per la salute pubblica

..e tiene conto dei risultati delle acque di cui all'art. 43 del D.lgs 152/99 (Art. 6 comma 1 lettera a) del presente decreto)

Ove gli impianti ricadano in territori interregionali, le Regioni d'intesa individuano l'azienda a cui attribuire i controlli

Per le attività di laboratorio si avvalgono delle ARPA che mensilmente inviano i risultati al Ministero della Salute e alla Regione



POSSIBILI CONTAMINAZIONI DELLE ACQUE

INTRODUZIONI INTENZIONALI

- Trattamenti per controllare flora e fauna
- Scarichi industriali
- Smaltimento di prodotti utilizzati
- Smaltimento di derrate contaminate
- Trattamenti di decontaminazione
- Pulizia in campo degli apparecchi distributori



POSSIBILI CONTAMINAZIONI DELLE ACQUE

INTRODUZIONI NON INTENZIONALI

- Deriva durante i trattamenti
- Trasporto per via eolica o idrica dalle aree di trattamento
- Utilizzo di acque di irrigazione provenienti da aree trattate
- Incidenti ai carichi trasportati
- Applicazioni con scopi e prodotti sbagliati



Conformità ai parametri indicatori

Art. 14 comma 1

In caso di non conformità ai valori di parametro l'Autorità d'ambito mette in atto i necessari adempimenti, sentito il parere della ASL in merito al possibile rischio per la salute umana, dispone che vengano presi provvedimenti intesi a ripristinare la qualità delle acque ove ciò sia necessario a per tutelare la salute umana.



Conformità ai parametri indicatori

Art. 14 comma 2

Entro il 31 gennaio l'Autorità d'ambito (Regione o Provincia autonoma) comunica al Ministero della Salute e dell'Ambiente le informazioni relative alle situazioni di non conformità:

- 1. parametro interessato e relativo valore, i risultati la durata dei controlli effettuati negli ultimi 12 mesi*
- 2. l'area geografica, la popolazione coinvolta e gli effetti sulle industrie alimentari interessate*
- 3. Sintesi dell'eventuale piano relativo all'azione correttiva, calendario degli interventi, stima dei costi nonché disposizioni in materia di riesame*



Campionamento

Costituisce la prima fase di ogni procedimento di analisi fase estremamente complessa e delicata

Determinazione dei parametri microbiologici

Prendere tutte le precauzioni per evitare la contaminazione

- ⇒ **Utilizzare bottiglie di vetro neutro sterilizzabili con tappo a vite**
- ⇒ **Rispettare le condizioni di asepsi: la parte interna del tappo e il collo della bottiglia non devono venire a contatto con fonti di contaminazione (es. mani operatore)**
- ⇒ **Riempire la bottiglia completamente**
- ⇒ **Chiudere accuratamente la bottiglia**



I campioni devono essere conservati a 4°C per non più di 24 h

Campionamento

Costituisce la prima fase di ogni procedimento di analisi fase estremamente complessa e delicata

Determinazione dei parametri chimici

Prendere tutte le precauzioni per evitare la contaminazione

- ⇒ Utilizzare bottiglie di vetro o plastica scure con tappo a vite
- ⇒ Non c'è la necessità di rispettare le norme di asepsi
- ⇒ Procedere all'ambientamento della bottiglia sciacquandola un paio di volte
- ⇒ Non riempire la bottiglia completamente
- ⇒ Chiudere accuratamente la bottiglia



I campioni possono essere conservati anche parecchi giorni previa acidificazione

ISO

(International Standardization Organization – Ente Mondiale di Normazione)

ha emesso fin dal 1987 una famiglia di standard (**NORME**) che definiscono le prescrizioni da adottare in azienda per realizzare un **SISTEMA di QUALITA'**: si tratta della famiglia di standard (**ISO 9000**)

CEN

(Comitato Europeo di Normazione – Ente Europeo di Normazione)

ha recepito le norme **ISO** come **EN ISO 9000**. In **ITALIA**

UNI

(Ente Italiano di Normazione)

le ha recepite come

UNI EN ISO 9000

ALLEGATO III

Specifiche per l'analisi dei parametri

D. lgs. n° 31 del 2 febbraio 2001

Attuazione della direttiva 98/83 CE relativa alle acque destinate al consumo umano

Escherichia coli

Metodo: filtrazione su membrana secondo ISO 9308-1

Lactose Tergitol 7 TTC CM0793B

Membrane lauryl sulfate MM0615B

LES endo agar MM0551B

MFC broth 501805

MFC agar 501806

Enterococchi

Metodo filtrazione su membrana secondo ISO 7899

Slanetz-Bartley CM0377B

Pseudomonas aeruginosa

Metodo: filtrazione su membrana secondo ISO 12780

Pseudomonas CN agar CM0559B + SR0102

Conteggio delle colonie a 22 e 37°C

Metodo: inclusione secondo ISO 6222

Water Plate Count agar CM1012B

ISO 9308-1 *Escherichia coli*

Qualità dell'acqua.

Isolamento e conteggio di E.coli e batteri coliformi – Parte I

Metodo mediante filtrazione su membrana

Standard Test

Filtrare 100 ml di acqua, o volumi maggiori (250ml in caso di acqua imbottigliata) su membrana di 50mm di diametro e con porosità 0,45 micron. Deposare la membrana su agar Lactose TTC ed incubare a 36°C +/-2 per 21 ore +/-3.

Se necessario prolungare l'incubazione a 44 ore +/-4

E' possibile incubare una seconda membrana a 44°C al fine di superare il problema della crescita di flora microbica concomitante.

Esaminare la membrana e contare tutte le colonie caratteristiche lattosio positive che mostrano sviluppo di colore giallo nel terreno sotto al membrana.

Test ulteriori

Prelevare le colonie lattosio positive (almeno 10) ed effettuare subculture su:

a) TSA a 36°C per 21 ore per il test dell'ossidasi

b) Brodo triptofano a 44+/-0,5 °C per 21 +/-3 ore per il test dell'indolo mediante aggiunta di 0,2/0,3 ml di reattivo di Kovac (reazione positiva = sviluppo di colore rosso ciliegia)

riportare come E.coli le colonie Indolo positive ed ossidasi negative

Riportare come UFC/100 ml

Terreno Lactose agar + tergitol + TTC :

Lattosio 20gr ; Peptone 10gr ; Yeast extract 6gr ; Estratto di carne 5gr ; Blu di bromotimolo 0,05; agar 15/25 gr ; acqua distillata 1000ml.

PH 7,2

Aggiungere TTC (0,05gr/100ml acqua) e Tergitol (0,2gr/100ml)

Il terreno e' reperibile in commercio.

Pr EN 12780 Pseudomonas aeruginosa

Determinazione e numerazione di Pseudomonas aeruginosa

Metodo : Filtrazione su Membrana

Filtrare il campione, o sue diluizioni, su membrana di cellulosa da 0,45 micron.

Deporre la membrana su agar Pseudomonas CN (Cetrimide-Ac.Nalidixico) ed incubare a 36°C (+/-2) per 44 ore (+/-4), esaminando la membrana anche dopo le prime 24 ore.

Contare tutte le colonie con pigmentazione blu/verde (produzione di piocianina) e riportare come Pseudomonas aeruginosa senza necessita' di ulteriori prove di conferma.

Altri casi possibili:

- 1. Colonie non blu/verdi, ma fluorescenti esaminando la membrana sotto luce U.V. In tal caso effettuare una subcoltura in brodo acetamide e riportare come Ps.aeruginosa solo in presenza di produzione di ammoniaca (viraggio verso il giallo o rosso-mattone)**
- 2. Colonie Rosso/Marrone, NON fluorescenti. Riportare come Ps.aeruginosa solo se risultano contemporaneamente a) produttori di ammoniaca in brodo acetamide, b) ossidasi positive, c) fluorescenti sotto luce U.V. dopo subcoltura di 5 giorni a 36°C in terreno di King's B.**

Esprimere il risultato come Presenza/Assenza di Pseudomonas aeruginosa in 250 ml di acqua, oppure in accordo alla ISO 8199 (quantitativo)

ISO 6222 Carica Totale 22°C e 36°C

Carica Totale (microrganismi aerobi) 22°C e 36°C

Metodo : Inclusione in piastra

Preparare, almeno in doppio, un agar-germi con max. 2 ml di campione o sue diluizioni, in piastre Petri aggiungendo 15/20 ml di terreno Yeast extract agar (Water Plate Count agar) in precedenza fuso e raffreddato a 45-50°C.

Incubare a 22 °C (+/-2) per 68 ore (+/-4) ed a 36°C (+/-2) per 44 ore (+/- 4)

Esprimere il risultato come UFC/ml per ciascuna temperatura di incubazione

Prendere in considerazione le piastre il cui numero di colonie e' <300 /piastra.

Riportare come "non determinabile" il caso in cui non ci siano colonie in nessuna piastra ,neppure in quelle inoculate con il campione non diluito.

Riportare come >300 UFC/ml il caso in cui ci siano piu' di 300 colonie nelle piastre inoculate con la piu' alta diluizione.

ISO 7899 Ricerca e conteggio di Enterococchi intestinali

Ricerca e Conteggio di Enterococchi intestinali

Metodo : Filtrazione su Membrana

Δ

Filtrare il volume prefissato su membrana da 0,45 micron e deporre la membrana su agar Slanetz-Bartley.

Incubare a 36°C (+/-2) per 44 ore (+/-4).

Trasferire la membrana che presenta colonie tipiche (rosso/marrone/rosa) su piastre preriscaldate (44°C) di Bile Esculina Azide agar ed incubare a 44°C per 2 ore. Leggere subito, al termine del periodo di incubazione.

Riportare come Enterococchi tutte le colonie che producono una colorazione marrone-nera nel mezzo circostante.