EDITO DA:
C.S.C. Viale della Vittoria 14/b Cerea (VR) - Tel. 0442/82121

A cura di: GENEVINI PIERLUIGI e MAGGIOLO RENZO

NOTA:
La stampa degli atti delle "Giornate di studio sull'analisi del suolo" é avvenuta tramite processo fotoriproduttivo, di conseguenza la qualità grafica é legata a quella dei dattiloscritti originali pervenuti.

Vietata la riproduzione anche parziale.
Tutti i diritti sono riservati.
Prima edizione. Finito di stampare nel febbraio 1989 presso C.S.C. - Cerea (VR)

I N D I C E

P. Sequi
MODERNE METODOLOGIE PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE ORGANICA Pag. 1

P. Nannipieri
IL PROBLEMA DELLA DETERMINAZIONE DELL'AZOTO DISPONIBILE DEL SUOLO Pag. 9

A. Buondonno
STUDIO COMPARATO DI ALCUNE METODOLOGIE ANALITICHE PER LA VALUTAZIONE DELLA DISPONIBILITÀ DEL FOSFORO E DEL POTASSIO Pag. 24

N. Senesi
APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA DI RISONANZA ELETTRONICA DI SPIN (ESR) ALLO STUDIO DELLE SOSTANZE UMICHE, DEI COMPLESSI UMO-METALLICI E DELLE INTERAZIONI UMO-ORGANICHE Pag. 63

E. Arduino
TECNICHE APPLICABILI ALLO STUDIO DELLA COMPONENTE ARGILLOSA DEL SUOLO Pag. 119

G. Piccone
TECNICHE CHIMICO-FISICHE PER L'ANALISI DEL SUOLO Pag. 133

A. Piccolo
FT-NMR E FT-IR APPLICATI ALLO STUDIO DELLA SOSTANZA ORGANICA DEL SUOLO Pag. 158

B. Colombo
DETERMINAZIONE AUTOMATICA E SIMULTANEA DI C, H, N, S NEI SUOLI Pag. 192

M. Pagliai
CARATTERIZZAZIONE DELLA STRUTTURA DEL TERRENO ATTRAVERSO LE ANALISI MICROMORFOLOGICHE Pag. 208

P. Italiano
CARATTERIZZAZIONI MICROSTRUTTURALI MEDIANTE TECNICHE POROSIMETRICHE E GAS-ADSORBIMENTI Pag. 235

S. Silva
IMPIEGO DI TECNICHE RADIOISOTOPICHE Pag. 251

S. Cervelli
DETERMINAZIONE E PROBLEMATICHE DELL'USO DI 15_N Pag. 268

PRESENTAZIONE DEL CONVEGNO

Nell'ambito dell'analisi chimica e biologica del suolo, che costituisce da sempre la base degli studi chimico agrari e pedologici, si individuano tre filoni fondamentali: il primo prevede l'impiego di tecniche avanzate e apparecchiature sofisticate per studi aventi lo scopo di approfondire le conoscenze sulla dinamica del suolo; il secondo concerne le determinazioni di laboratorio che costituiscono il supporto alle osservazioni di campo per il corretto inquadramento tassonomico dei suoli; il terzo, infine, riguarda le analisi del terreno aventi la finalità di valutarne il grado di fertilità e quindi di stabilire il fabbisogno in fertilizzanti.

Mentre ai primi due sono interessati gruppi ristretti ed omogenei di studiosi, il terzo filone comprende invece persone e strutture molto eterogenee. La richiesta di servizi, caratteristica del nostro tempo, ha coinvolto infatti anche il settore agricolo che richiede, e con sempre maggiore frequenza, l'analisi di terreni, vegetali ed acque di irrigazione, oltre che l'assistenza tecnica per una più corretta pratica agricola.

Un primo contributo alla normalizzazione dei metodi per l'analisi del suolo è stato portato dalla SISS con le due pubblicazioni del 1976 e del 1985 e dall'UNICHIM attraverso il manuale di analisi del 1985. L'UNICHIM in quanto affiliato all'UNI e all'ISO (International Standard Organisation) è inoltre l'unico organismo italiano che opera a livello europeo per l'unificazione dei metodi chimici. Il processo di unificazione dei metodi analitici è quindi ad un punto avanzato; è opportuno peraltro puntualizzare, attraverso un confronto ed un dibattito, lo stato dell'arte per quanto attiene la parte analitica vera e propria, i criteri di interpretazione, i possibili sviluppi dal punto di vista analitico strumentale ed infine i sistemi informatici più idonei alla gestione dei dati.

La convergenza di mezzi, risorse ed uomini appartenenti ad enti pubblici e privati consentirà inoltre un'adeguata partecipazione dell'Italia ai lavori della Commissione ISO TC 190 denominata "Soil Quality" a cui il gruppo terreni dell'UNICHIM già partecipa e che tanta parte avrà nell'unificazione delle metodiche analitiche sia in campo chimico agrario che in quello più prettamente ecologico.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

MODERNE METODOLOGIE PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE ORGANICA

P.Sequi e C.Ciavatta
Istituto di Chimica Agraria, Università di Bologna
V.le Berti Pichat, 10 - 40127 Bologna

RIASSUNTO

Pur riconoscendo alla sostanza organica un ruolo fondamentale sia a livello pedologico che agronomico non si è giunti ancora ad una sufficiente caratterizzazione qualitativa e quantitativa. Numerose sono le tecniche utilizzate allo scopo, ma nessuna di esse è risultata decisiva, tant'è che non si dispone neppure di un metodo idoneo per la determinazione quantitativa. Recentemente con l'introduzione dell'indice (HI), del grado (DH), del tasso (HR) di umificazione e attraverso l'applicazione dell'isoelettrofocalizzazione (IEF), alcuni importanti progressi si sono conseguiti. Alla luce dei recenti risultati sembra che questo approccio possa dare ottimi risultati.

SUMMARY

Organic matter is very important for agronomic and pedological processes in soils. Several methods for a quantitative and qualitative characterization have been proposed. Recently, it has been devised a quantitative procedure that gives an Index (HI), a Degree (DH) and a Rate of Humification (HR). Also, analytical Isoelectric Focusing (IEF) techniques have been applied successfully to characterize the organic matter extracted from soils, organic fertilizers and amendments.

INTRODUZIONE

Come è noto (Sequi e Ciavatta, 1988) il ciclo del carbonio in natura è suddiviso in diversi comparti ambientali, con flussi quali-quantitativi differenziati, fra i quali il terreno costituisce una riserva di primaria importanza (Fig. 1).

La sostanza organica, per esempio, è ritenuta a ragione uno dei fattori essenziali per l'innesco e lo sviluppo dei processi pedogenetici in qualsiasi condizione ambientale e tipo di roccia madre. Anche quando prevalgono i fattori antropici il ruolo svolto dalla sostanza organica è duplice: agronomico e pedologico. Nel primo caso come essenziale fonte energetica per la biomassa che ha come risultato finale anche un generale aumento di produttività; nel secondo, meno apprezzabile, come volano dei processi evolutivi del suolo stesso.

Tuttavia, pur riconoscendo alla sostanza organica un ruolo

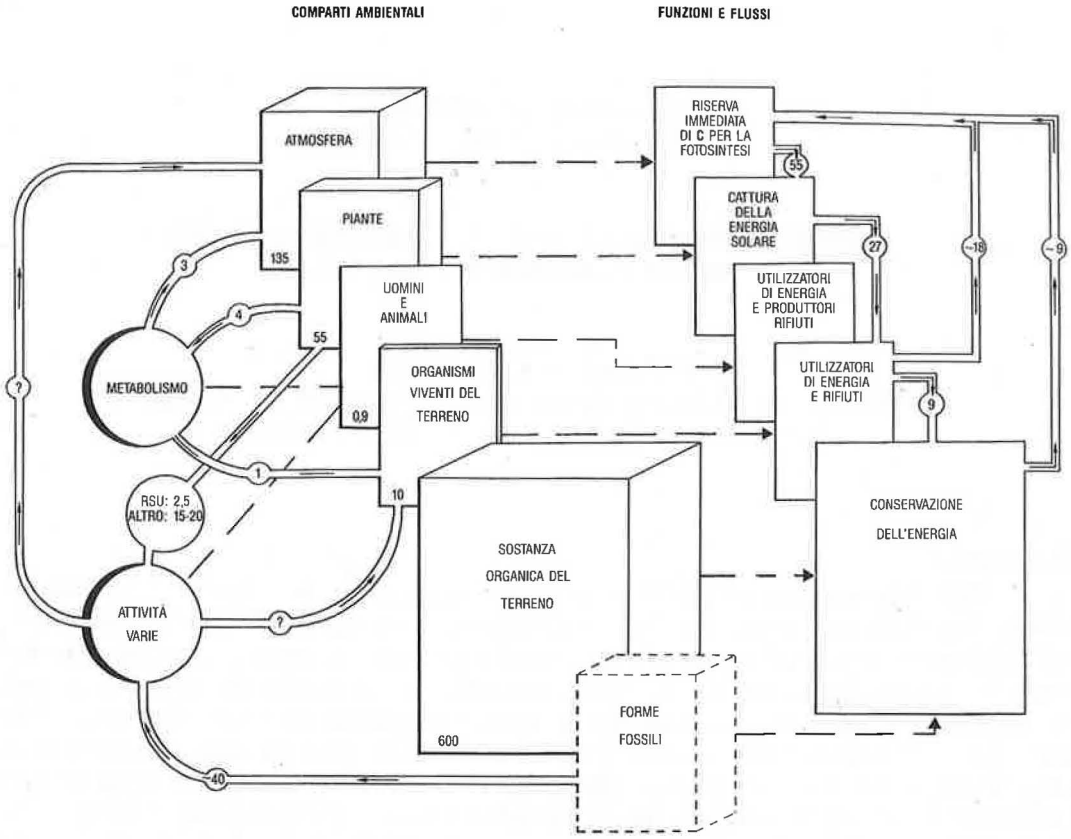


Figura 1. Importanza della sostanza organica del terreno per gli equilibri ambientali. Le stime relative alle quantità di carbonio e ai loro flussi fra i vari comparti ambientali sono espresse in q/ha.

baricentrico all'interno dei complessi fenomeni biochimici che avvengono nel terreno, non è stato ancora possibile assegnarle il posto che meriterebbe all'interno delle discipline agronomiche e pedologiche. La Soil Taxonomy per esempio, ritenuta la più completa e rigorosa classificazione dei suoli a livello mondiale, ne tiene conto solo a livello diagnostico e puramente sotto l'aspetto quantitativo. Questa situazione è da imputarsi alla inadeguatezza degli strumenti, analitici disponibili al momento, che non ne permettono una precisa caratterizzazione.

I metodi classici di frazionamento della sostanza organica estratta dal terreno portano alla separazione di entità che trovano la loro ragione di essere solo nell'avere una diversa solubilità in acidi, in alcali o magari perchè precipitano in presenza di elettroliti. Gli stessi acidi umici (HA) e fulvici (FA), indicati da sempre come i componenti principali delle sostanze umiche, derivano semplicemente da una separazione per precipitazione degli HA in ambiente acido (pH <2). Poco o nulla si conosce della loro struttura chimica se non per grandi linee e per l'essere formati da una serie di specie chimiche appartenenti alla proteine, lipidi, carboidrati, etc... e da una certa frequenza di gruppi funzionali (-COOH, -OH fenolici, -OH alcolici, $-NH_2$).

Metodi di analisi spettrofotometrica nella regione dell'ultravioletto (UV) e del visibile sono stati proposti per addivenire ad

una migliore conoscenza delle diverse frazioni organiche estratte, come ad esempio l'impiego del rapporto E_4/E_6. Questo metodo fornisce indicazioni poco precise e alquanto variabili sulla natura dei composti umici, poichè il risultato è fortemente influenzato, per esempio, dal mezzo estraente, dalla diluizione e dal pH. Inoltre può fornire solo alcune indicazioni di scarso valore sulla natura delle componenti umiche di orizzonti di "profili tipo" (es. B degli Spodosuoli, A_1 degli Andosuoli o Mollisuoli), e nulla dice sulle matrici dei concimi organici ed organo-minerali.

Metodi più sofisticati come EPR (Electron Paramagnetic Resonance) o NMR (Nuclear Magnetic Resonance) fino ad ora hanno dato solo alcune informazioni di tipo qualitativo, anche se soprattutto quest'ultima tecnica fornisce risultati incoraggianti.

Nonostante lo sviluppo delle metodologie analitiche descritte sia ancora poco soddisfacente, molte difficoltà permangono addirittura a partire dall'analisi del carbonio. Oltre all'analisi per combustione, numerosi metodi analitici che prevedono l'ossidazione del carbonio a CO_2 sono stati proposti per determinare il contenuto di carbonio presente nel terreno e nelle diverse matrici organiche. I risultati ottenuti spesso sono poco reali e riproducibili se confrontati con quelli ottenuti con l'analisi elementare del campione (CHN analyzer), a causa della parziale ossidazione delle componenti organiche più refrattarie, o per l'interferenza di altre sostanze (es. cloruri, composti del manganese, urea). Il metodo per ossidazione della sostanza organica con $K_2Cr_2O_7$ che, alla luce dei risultati ottenuti, appare più idoneo per l'analisi del carbonio è quello proposto da Springer-Klee (1954) e successivamente modificato da Ciavatta et al. (1988 d). La metodica sembra per ora possa essere ufficialmente rece-pita a livello legislativo per l'analisi degli ammendanti, mentre si auspica che analoga decisione venga presa anche per tutte le matrici organiche (concimi, fanghi, compost). Bisogna tuttavia segnalare che l'applicazione di questo metodo è particolarmente delicata e modalità non corrette di esecuzione o l'inosservanza di dettagli anche appa-rentemente banali, possono condurre a gravi errori nei risultati.

Nella presente rassegna si prenderanno sinteticamente in esame solo i metodi più comuni per la determinazione quantitativa e qualitativa delle sostanze umificate del suolo; non sarà fatto cenno all'uso di tecniche delle quali verrà riferito in relazioni specifiche.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELLE SOSTANZE UMIFICATE

La determinazione del grado di umificazione della sostanza organica è importante non solo per il terreno, ma anche per i fertilizzanti organici. Infatti la presenza o l'assenza di quantità notevoli di sostanze umificate corrispondono a due differenti filosofie di concimazione. Nel primo caso si intende somministrare al terreno materiali già stabilizzati con funzioni che si avvicinano e nel caso ideale eguagliano tutte quelle attribuite alle sostanze umiche, ivi incluse le attività fisiologiche. Nel secondo caso si fornisce al terreno carbonio, che più o meno rapidamente a seconda del substrato, è destinato a trasformarsi completamente in carbonio umificato ed energia metabolica.

Un nuovo metodo di determinazione del carbonio umificato, proposto nel 1986 da Sequi et al., si basa sulla separazione delle frazioni non umificate (NH) da quelle umificate (HA+FA) su polivinilpirrolidone solido (PVP). Tale resina, utilizzata da numerosi ricercatori (es. Quarmby, 1968; Newton Clifford, 1974; Olsson e Samuelson, 1974) per isolare i composti ricchi di polifenoli da estratti di diversa provenienza, si è dimostrata particolarmente efficace per la separazione del carbonio realmente fulvico dalla frazione solubile in ambiente acido ritenuta fino ad allora erroneamente appartenere completamente agli FA. Lo schema così modificato di estrazione della sostanza organica proveniente da qualunque substrato è illustrato in Fig. 2.

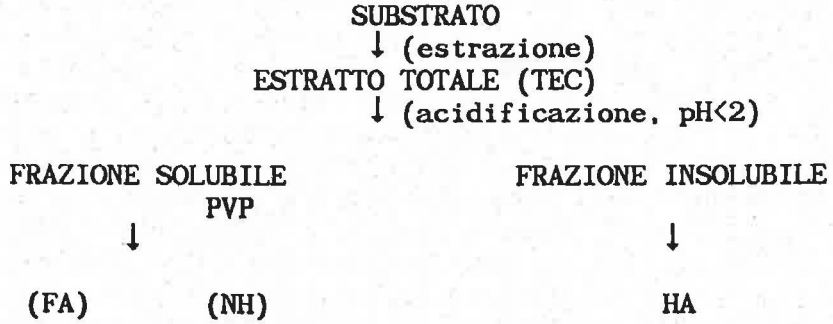


Figura 2. Estrazione e frazionamento della sostanza organica che prevede il passaggio su PVP della frazione solubile in acidi per ottenere gli FA.

Il metodo si presta assai bene per indagini sui terreni, sugli ammendanti (Sequi et al., 1986; Petrussi et al., 1988), per alcuni dei quali è già stato preso in considerazione dalla legislazione italiana, ed anche per seguire l'andamento della maturazione di singole matrici organiche, come i fanghi (De Nobili et al., 1986) ed i concimi a base di cuoio (Ciavatta et al., 1988 a) incubati in condizioni standard, o addirittura dopo la somministrazione al terreno (Ciavatta e Sequi, 1988).

Dall'applicazione del metodo si ricavano un indice (HI), un grado (DH) e un tasso di umificazione (HR).

$$HI = NH/(HA + FA)$$
$$DH\% = (HA + FA)/TEC \cdot 100$$
$$HR\% = (HA + FA)/TOC \cdot 100$$

dove TEC rappresenta il carbonio estraibile totale e TOC quello totale della matrice.

L'indice di umificazione fornisce valori sempre inferiori all'unità per materiali organici umificati (essi risultano prossimi a zero per terreni, letame maturo, leonarditi), ma superiori anche di molto a 1 per quelli non umificati (es. fanghi, compost non maturi, concimi organici).

Il metodo non appare idoneo tuttavia a fornire un valore assoluto del grado di umificazione delle singole matrici organiche, in quanto soprattutto in alcuni casi si verificano interferenze da parte di sostanze che si comportano come sostanze umiche pur non essendo

tali. Allo scopo di eliminare questi artefatti si è proceduto ad eseguire una serie di idrolisi in ambiente acido e alcalino od in presenza di ossidanti blandi. Nonostante per alcune matrici si riducesse notevolmente la formazione di artefatti, il metodo non appariva ugualmente applicabile (Ciavatta et al., 1988 b) e conduceva alla definizione di un indice, un grado e un tasso di umificazione apparenti.

E' da tempo in corso la messa a punto di un'idrolisi enzimatica preliminare all'applicazione del metodo. Il procedimento consiste nell'attacco degli estratti organici con una serie di enzimi idrolitici in successione, l'ultimo dei quali è una proteasi aspecifica, ed ha fornito risultati molto promettenti per la quasi totalità delle matrici organiche (Ciavatta et al., 1988 c). Solo un numero molto limitato di matrici conserva sostanze di tipo pseudoumico, dopo l'idrolisi enzimatica, che causano ancora leggere interferenze nell'applicazione del metodo. Tali interferenze tuttavia possono essere ridotte con un'idrolisi chimica in successione a quella enzimatica.

Sembra tuttavia più pratica l'applicazione della isoelettrofocalizzazione analitica (IEF) che consente di mettere in evidenza l'esatta natura delle sostanze di tipo pseudoumico (Fig. 3).

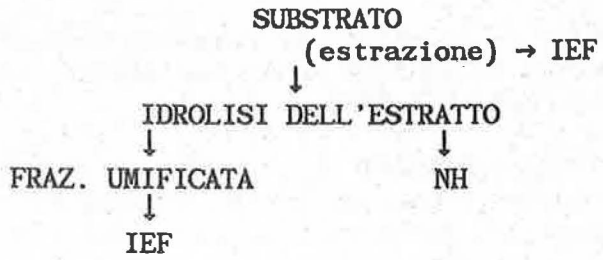


Figura 3. Applicazione dell'IEF successivamente all'estrazione della sostanza organica e sulla frazione umificata dopo idrolisi.

Questa tecnica elettroforetica, applicata da decenni in campo medico e biologico, solo di recente è stata applicata con successo su matrici organiche provenienti da terreni, fanghi (De Nobili et al. 1986) e compost (Petrussi et al. 1988). Si tratta di un approccio nuovo nella caratterizzazione qualitativa e quantitativa della sostanza organica che ha già fornito risultati notevoli proprio sotto il primo aspetto. Con l'IEF si riesce infatti a separare nettamente i diversi composti organici. Le sostanze umiche vengono fatte "focalizzare" su di un gel di poliacrilammide, nel quale era stato creato un gradiente uniforme di pH (es. pH 3-10), in funzione del loro specifico punto isoelettrico, originando una serie di bande caratteristiche, con un potere risolutivo che si aggira intorno a 0,02 unità di pH. Gli HA sono disposti solitamente nella parte iniziale del profilo perchè dotati di minore carica e maggiore peso molecolare, mentre si riscontra la situazione opposta per gli FA. Ponendo a confronto i profili ottenuti da matrici umificate (es. terreni, letame maturo, torba umificata) con quelle presunte tali, si verifica quali-quantitativamente la presenza di sostanze umiche. Il metodo risulta particolarmente efficace per seguire l'andamento nel tempo dei processi di maturazione di qualsiasi componente organica. Utilizzando poi strumenti ottici ad alta risoluzione come i

densitometri laser, è possibile ottenere una scansione molto fedele delle diverse bande focalizzate e la loro ponderazione assoluta e relativa.

L'IEF può essere utilizzata anche nell'analisi preparativa per la separazione di composti organici sui quali si voglia successivamente indagare con altre tecniche (es. NMR).

Questa stessa tecnica appare promettente anche per identificare la natura delle matrici presenti in una miscela di concimi organici o in un concime organo-minerale.

I recenti risultati ottenuti con l'impiego di questi nuovi approcci metodologici indicano che occorre intraprendere nuove vie di ricerca sulla sostanza organica del suolo e di tutte quelle matrici che la contengono (concimi, fanghi, compost). Ciò non significa necessariamente che le recenti metodologie debbano infirmare quelle correntemente in uso, ma semplicemente che queste ultime servono come valido supporto per una efficace applicazione delle nuove.

Bibliografia

CIAVATTA C., SEQUI P.: Evaluation of chromium release during organic matter evolution in leather meal fertilizers applied to the soil, *in preparazione* (1988).

CIAVATTA C., VITTORI ANTISARI L., SEQUI P.: Caratteristiche dei principali concimi a base di cuoio torrefatto disponibili in Italia, *Agricoltura Mediterranea*, in stampa (1988 a).

CIAVATTA C., VITTORI ANTISARI L., SEQUI P.: A first approach to the characterization of the presence of the humified materials in organic fertilizers, *Agrochimica*, in stampa (1988 b).

CIAVATTA C., VITTORI ANTISARI L., SEQUI P.: Humification parameters of organic fertilizers, *in preparazione* (1988 c).

CIAVATTA C., VITTORI ANTISARI L., SEQUI P.: Organic carbon determination in soils and fertilizers, *in preparazione* (1988 d).

DE NOBILI M., CERCIGNANI G., LEITA L., SEQUI P.: Evaluation of organic matter stabilization in sewage sludge, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 17, 1109-1119 (1986).

NEWTON CLIFFORD M.: The use of poly-n-vinylpyrrolidone as the adsorbent for the chromatographic separation of chlorogenic acids and other phenolic compounds, *J. of Chromatog.* 94, 261-266 (1974).

OLSSON L., SAMUELSON O.: Chromatography of aromatic acids and aldehydes and phenols on cross-linked polyvinylpyrrolidone, *J. of Chromatog.* 93, 188-189 (1974).

PETRUSSI F., DE NOBILI M., VIOTTO M., SEQUI P.: Characterization

of organic matter from animal manures after digestion by earthworms, *Plant and Soil* 105, 41-46 (1988).

QUARMBY C.: The use of polyvinylpyrrolidone in the thin layer chromatographic separation of flavonoids and related compounds, *J. of Chromatog.* 34, 52-58 (1968).

SEQUI P., CIAVATTA C.: Utilizzazione agronomica dei rifiuti solidi urbani, in : *I rifiuti solidi urbani nell'ambiente. Smaltimento, tecnologia, rischi, legislazione.* Maggioli Editore Rimini, in stampa (1988).

SEQUI P., DE NOBILI M., LEITA L., CERCIGNANI G.: A new index of humification. *Agrochimica* 30, 175-179 (1986).

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

IL PROBLEMA DELLA DETERMINAZIONE DELL'AZOTO DISPONIBILE DEL SUOLO

Paolo Nannipieri
Dipartimento di Agrobiologia ed Agrochimica
Via S.C. De Lellis 01100 Viterbo

RIASSUNTO

In questa rassegna vengono discussi gli approcci ed i metodi impiegati per determinare la quantita' di azoto che il suolo mette a disposizione della pianta, il cosiddetto azoto disponibile. Alcuni metodi si basano sull'impiego di soluzioni estraenti (metodi chimici), altri metodi prevedono l'incubazione di campioni di terreno in condizioni sperimentali controllate e determinazione dell'azoto inorganico prodotto. La variabilita' degli approcci e delle metodiche e' l'espressione di una scarsa conoscenza delle complesse interazioni tra le componenti biotiche ed abiotiche che sono alla base dei processi di mineralizzazione e di immobilizzazione dell'azoto

SUMMARY

Various methods are currently used to determine the available N in soil that is the N present in the root zone in a chemical form readily adsorbed by plants. Laboratory indices of soil N availability that have been proposed can been readily subdivided into biological and chemical tests. Biological methods involve short-term incubation under aerobic and anaerobic conditions while the chemical methods are based on the extraction of total N or inorganic N by saline or acidic solutions. The present variability in the methodology is the expression of the limited knowledge concerning the complex interactions, among biotic and abiotic components, which play an important role in the N mineralization and immobilization processes.

1. INTRODUZIONE

La determinazione della quantita' di azoto che il suolo mette a dispozione della coltura durante la stagione di crescita, il cosiddetto azoto disponibile, e' necessaria perche' tale valore viene utilizzato per calcolare la giusta qauntita' di fertilizzante azotato da applicare evitando in tal modo inutili sprechi. L'azoto disponibile e' rappresentato da quelle forme prontamente assorbite dalla pianta (Scharsbrook, 1965). E' noto che le forme organiche sono nettamente prevalenti su quelle inorganiche che vengono assorbite dalla pianta; forme azotate di tipo organico di dimensioni molecolari piccole (ad esempio, urea) possono essere assorbite dalle piante

(O Toole e Morgan, 1988) ma gli aspetti qualitativi e quantitativi del fenomeno sono poco chiari. In molti terreni agrari la forma nitrica prevale quantitativamente rispetto a quella ammoniacale e viene assorbita preferenzialmente, anche perche' i cationi NH_4^+ vengono trattenuti tenacemente dai colloidi caricati negativamente (Haynes, 1986); nei terreni acidi, cioe' in condizioni sperimentali dove la nitrificazione e' ridotta e dove alcuni colloidi si caricano negativamente, e' ovvio che la forma assorbita e' quella ammoniacale; specie vegetali provenienti da suoli acidi preferiscono la forma ammoniacale rispetto a quella nitrica (Haynes, 1986).

I terreni contengono una quantita' di azoto che varia dallo 0.08 allo 0.4% del peso totale e se si considera che il coefficiente di mineralizzazione medio e' pari al 3% la quantita' di azoto inorganico prodotta puo' oscillare da 8 a 120 Kg di N per ha e raggiungere cosi', per i valori piu' elevati, una quantita' che equivale ad una discreta fertilizzazione (Keeney, 1982). E' chiaro che si tratta di valori indicativi, ma occorre una certa cautela nell'estrapolare questi calcoli alla realta' di campo poiche' la mineralizzazione dell'azoto dipende da diversi fattori quali il tipo di intervento agronomico, il fabbisogno in azoto delle colture, le condizioni climatiche, etc (Keeney, 1982). Alcune di queste variabili (condizioni climatiche) non possono essere predette in anticipo mentre per altre, quali il tipo di intervento agronomico, e' difficile assegnare loro un effetto quantitativo; per questo motivo le quantita' di fertilizzante consigliate ricavate dalla valutazione dei valori di azoto disponibile, ottenuti da determinazioni di laboratorio possono risultare imprecise. Nonostante questi problemi la determinazione dell'azoto disponibile in laboratorio rappresenta uno tra gli argomenti piu' interessanti e dibattuti di tutta la problematica riguardante le metodiche chimiche utilizzate per determinare lo stato nutritivo del terreno.

2.DETERMINAZIONE DELLA QUANTITA' DI AZOTO DISPONIBILE PER LA PIANTA DURANTE LA STAGIONE DI CRESCITA

La quantita' di azoto disponibile per la pianta durante la stagione di crescita puo' essere calcolata direttamente dalla quantita' di azoto nitrico presente nella zona di terreno interessata dallo sviluppo radicale della coltura. Tuttavia, le condizioni climatiche devono essere tali da impedire il dilavamento ed i processi dissimilatori a carico dei nitrati; per questo motivo tale determinazione viene suggerita per gli stati a clima arido degli Stati Uniti (Keeney, 1982). I fattori critici per quanto riguarda questa determinazione non sono quelli di tipo analitico ma sono rappresentati dal periodo e dalla profondita'del campionamento, e dal numero di campioni da prelevare in modo da avere una stima sufficientemente attendibile della quantita' di nitrati

presente *in situ* (Keeney, 1982). Viene in genere suggerito di effettuare il campionamento prima della semina (Ward, 1971). Per quanto riguarda la profondita', al fine di limitare il numero dei campioni e quindi i costi dell'analisi, si suggerisce di evitare i campionamenti piu' profondi. Ad esempio, nel caso di una coltura le cui radici possono interessare una profondita' del terreno di 180 cm si consiglia di campionare sino a 60 o 90 cm e si assume che la quantita' di nitrato cosi' determinata rappresenti, rispettivamente, il 60 ed il 70% del totale presente nell'intera zona radicale (Keeney, 1982). Tuttavia, la variabilita' spaziale dei nitrati rappresenta il problema piu' critico; si e' osservato che almeno 82 campioni di suolo per un campo di dimensioni medie devono essere prelevati ed analizzati per ottenere un valore medio compreso in un intorno di $\pm$15% del valore della media geometrica (Reuss et al, 1977); se il numero dei campioni prelevati scende a 20 il range in cui si collochera' il valore medio ottenuto sara' compreso tra $\pm$26% della media geometrica; e' chiaro che per limitare i costi delle analisi ed avere dall'altra parte dei valori attendibili occorre fare una scelta non facile sul numero dei campioni da prelevare.

In genere per determinare la quantita' di azoto che un suolo puo' mettere a disposizione della coltura durante la stagione di crescita' si ricorre a metodi analitici che si basano sull'estrazione delle forme di azoto disponibili con opportune soluzioni (metodi chimici) oppure si ricorre ad incubazioni di campioni di suolo in condizioni sperimentali controllate seguite dalla determinazione della quantita' di azoto inorganico prodotta (metodi biologici). In queste condizioni si determina il cosidetto "azoto disponibile". Occorre precisare che perfino nell'ambito del Soil Survey degli Stati Uniti non esiste un atteggiamento univoco su come determinare la quantita' di azoto disponibile per la pianta durante la stagione di crescita. Nella tabella 1 viene riportata la situazione al 1978 negli Stati Uniti; un numero abbastanza considerevole di stati (13), in genere quelli occidentali caratterizzati da un clima arido, ha adottato la determinazione della quantita' di nitrato presente nella zona radicale interessata dalla coltura (Keeney, 1982). Solo in uno stato viene consigliato di determinare anche la quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile adottando un metodo di tipo biologico. Un solo stato (Idaho) consigliava di impiegare esclusivamente un metodo basato sulla incubazione del suolo, cioe' un metodo biologico, mentre solamente nello stato del Mississipi veniva adottato un metodo chimico. In molti stati veniva consigliato di determinare il contenuto di sostanza organica del suolo al fine di stimare indirettamente la quantita' netta di azoto mineralizzata durante la stagione di cerscita.

2a. Metodi Chimici e Metodi Biologici

I metodi che si basano sulla estrazione con particolari

soluzioni estraenti e la successiva determinazione della quantita' di azoto estratta sono definiti "metodi chimici". I metodi di tipo biologico sono basati sulla incubazione in laboratorio di campioni di suolo; in questo modo si tenta di simulare, in condizioni sperimentali controllate, i processi di immobilizzazione e di mineralizzazione i quali giocano un ruolo molto importante nel definire la quantita' di azoto inorganico disponibile per la pianta; e' infatti dalla differenza tra le velocita' dei due processi che dipende la mineralizzazione netta. Sia i metodi chimici che quelli di tipo biologico presentano i limiti di tutti metodi effettuati in laboratorio che sono basati sul pretrattamento del campione prima dell'analisi; inoltre l'attendibilita' dei metodi chimici e biologici viene verificata attraverso la correlazione con dati ricavati da esperimenti di serra, i quali pur essendo relativamente poco costosi e di rapida attuazione hanno una validita' limitata per le numerose differenze che esistono rispetto alla situazione di pieno campo (Hanway, 1973). Un altro aspetto critico e' rappresentato dalla estrema variabilita dei metodi oggi disponibili. Per quanto riguarda i metodi di tipo chimico la variabilita' metodologica riguarda il tipo di soluzione estraente, le condizioni sperimentali seguite durante l'estrazione, la durata dell'estrazione e il tipo di composto determinato dopo l'estrazione (Tabella 2). Tale variabilita' non e' solo l'espressione della difficolta' ad operare su un ambiente oggettivamente difficile quale il suolo, ma riflette anche una mancanza da parte degli scienziati del suolo a esaminare in modo critico l'approccio seguito e a confrontare i propri dati con quelli ottenuti con altri metodi; alla base di questo comportamento c'e' spesso l'urgenza di rispondere a questioni di tipo applicativo. Occorre sottolineare che e' piuttosto improbabile che una soluzione abbia la capacita' di estrarre quella frazione di azoto che e' potenzialmente mineralizzabile, cioe' si possa determinare con un approccio chimico quello che succede in situ, che e' il risultato di complesse interazioni tra le popolazioni microbiche e tra queste e le varie forme di azoto presenti nel suolo. La maggior parte dei metodi chimici attualmente disponibile e' stata pubblicata negli anni cinquanta e cio' riflette la tendenza della ricerca sulla fertilita' del suolo emersa in quel periodo che e' stata caratterizzata dalla prevalenza dell'approccio tipicamente chimico.

I dati ottenuti con alcuni dei metodi chimici sono correlabili con la quantita' di azoto inorganico assorbito dalla pianta e con la quantita' di azoto disponibile determinata con i metodi biologici (Keeney, 1982). Un confronto piuttosto ampio utilizzando vari metodi di tipo chimico e' stato effettuato da Fox e Piekielek (1978). La quantita' di azoto mineralizzabile calcolabile dal contenuto di sostanza organica del terreno, la quantita' di azoto nitrico presente nel

terreno, la quantita' di azoto estraibile con una soluzione di H_2SO_4 o quella estraibile con una soluzione di KCl non erano correlate in modo significativo con la quantita' di azoto disponibile per il mais in alcuni suoli della Pennsylvania. La quantita' di azoto ammoniacale rilasciata dopo una incubazione in autoclave e la quantita' di azoto totale del suolo erano correlate in modo significativo al 5% mentre la quantita' di azoto estraibile con una soluzione di $CaCl_2$ o con una di $NaHCO_3$ erano correlate all'1%. Tuttavia a causa del tempo richiesto per effettuare le determinazioni e del loro costo gli autori non consigliavano l'uso dei due metodi migliori come analisi di routine. Un metodo viene giudicato idoneo per le analisi di laboratorio non solo quando esso e' accurato ma anche quando e' poco costoso e non richiede un lungo tempo per essere completato.

Recentemente e' stato ideato un metodo chimico-fisico per la determinazione della quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile del terreno; questo metodo si basa sul fatto che le forme di azoto organico mineralizzabili dai microorganismi sono facilmente solubilizzate da una soluzione acquosa ed essendo caricate migrano in un campo elettrico all'anodo od al catodo (Nemeth et al, 1988). Mediante la ultrafiltrazione e' possibile determinare le quantita' di diversi cationi (K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, NO_3^-, PO_4^{--}, ect,) presenti in forma scambiabile nel terreno e percio' in una forma disponibile per la pianta. Nel caso delle forme azotate raccolte ai due elettrodi si e' accertato che la quantita totale e' inversamente proporzionale alla dose di fertilizzante azotato da aggiungere per ottenere la massima resa. Inoltre si e' osservato che le applicazioni di fertilizzante azotato non portano ad un miglioramento della resa della barbabietola da zucchero nei terreni caratterizzati da una quantita' di azoto raccolta durante la ultrafiltrazione superiore a 50-60 mg per Kg (Nemeth, et al 1988). Occorre una certa cautela nella interpretazione dei risultati ottenuti mediante la elettroultrafiltrazione poiche' lo ione ammoniacale acquista un elettrone al catodo e viene trasformato in NH_3, cioe' nella forma gassosa che viene rilasciata nell'atmosfera con conseguente perdita di azoto. Si e' accertato inoltre che alcuni amminoacidi subiscono delle trasformazioni quando vengono in contatto con gli elettrodi e non possono essere determinati. Le perdite di azoto sopra descritte sono limitate e non spiegano i valori bassi ottenuti con la elettroultrafiltrazione; la quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile determinata con questo metodo oscilla dallo 0,3% all'1% del totale nei terreni agrari, un range di valori piu' basso di quello ottenuto con altri metodi. L'analisi delle forme organiche raccolte agli elettrodi durante la elettroultrafiltrazione ha messo in evidenza che la quantita' di azoto amminoacidico libero e' pari nei terreni coltivati al 6-8% del totale; una quantita' pari

al 23-25% del totale organico viene rilasciata come azoto amminoacidico dopo la idrolisi acida (Nemeth et al, 1988); valori differenti sono stati osservati analizzando i terreni forestali.

I metodi che si basano sulla incubazione in laboratorio e la successiva determinazione della quantita' di azoto inorganico prodotto (metodi biologici) hanno avuto un grande sviluppo negli anni settanta; si ritiene che questo approccio simuli in modo piu' attinente alla realta' la capacita' del terreno a mettere a dispozione della pinta le forme di azoto. Anche in questo caso, tuttavia, la variabilita' dei metodi proposti e' piuttosto ampia e valgono le stesse considerazioni fatte per i metodi chimici (Tabella 3). I metodi biologici si distinguono in due grandi gruppi: quelli la cui incubazione viene effettuata in condizioni aerobiche e quelli in cui il terreno viene incubato in assenza di ossigeno. In alcuni metodi il protocollo sperimentale prevede un dilavamento periodico con opportune soluzioni al fine di rimuovere le forme inorganiche e simulare cosi' l'azione assorbente della pianta (Keeney, 1982). Quando vengono impiegate soluzioni di $CaCl_2$ e KCl 1 o 0,1M si puo' avere una stimolazione del processo di mineralizzazione; tale effetto non viene osservato quando vengono impiegate soluzioni piu' diluite (Singh et al, 1969). E' stato proposto l'uso di soluzioni nutritive nei metodi di tipo aerobico, il cui protocollo sperimentale prevede un dilavamento periodico del terreno con soluzioni saline (Stanford et al, 1965); tuttavia, gli effetti derivati dall'impiego di tali soluzioni non sono stati valutati in modo adeguato (Keeney, 1982).

Un altro problema relativo al dilavamento periodico del terreno con soluzioni e' dato dalla estrazione di forme organiche solubili che fanno parte del pool di azoto organico mineralizzabile; questa quantita' solubilizzata puo' ammontare al 10-20% dell'azoto inorganico dilavato (Bonde e Rosswall, 1987).

Il rapporto tra la soluzione estraente ed il terreno varia da 3.75 a 5.7 a secondo dei metodi proposti (Tabella 3); tuttavia, nel caso di terreni compatti e caratterizzati da una alta capacita' di scambio cationico, si ritiene che sia difficile estrarre in modo completo lo ione ammoniacale. Anche nel caso della suzione da applicare al terreno per rimuovere la soluzione estraente occorre una certa attenzione al fine di evitare da una parte la presenza di zone con umidita' eccessiva, con conseguente formazione di siti anaerobici, e dall'altra una decrescita dell'umidita' al di sotto dei valori ottimali per l'attivita' microbica (Keeney, 1982). Infine perdite di umidita' possono verificarsi durante la incubazione; per evitare questo inconveniente si suggerisce di ricoprire il contenitore contenente il terreno con materiale che possa permettere gli scambi gassosi con l'atmosfera.

Secondo alcuni e' preferibile lasciare il terreno per

7-10 giorni a temperatura ambiente prima di determinare la quantita' di azoto disponibile; questa incubazione preliminare consente di evitare che eventuali perturbazioni riguardanti il metabolismo del terreno possano ripercuotersi sulla determinazione dell'azoto disponibile. Anche nel caso delle determinazioni della biomassa microbica con il metodo della fumigazione ed incubazione si consiglia di preincubare per almeno 10 giorni a 4 C il terreno subito dopo il prelievo (Jenkinson e Ladd, 1981); il periodo di tempo consigliato e' sufficientemente lungo da consentire il ritorno dei valori di respirazione (produzione di CO_2) e di mineralizzazione (ad esempio, produzione di NH_4^+) a quelli preesistenti il prelievo del terreno.

I metodi che si basano su una incubazione di tipo anaerobico presentano diversi vantaggi su quelli di tipo aerobico (Keeney, 1982); ad esempio, e' possibile determinare la quantita' di azoto disponibile eseguendo una sola determinazione, quella relativa all'ammoniaca prodotta, riducendo cosi' non solo il tempo ma anche il costo delle analisi; altri vantaggi dei metodi di tipo anaerobico sono rappresentati dal fatto di evitare il dilavamento periodico del campione, dalla possibilita' di aumentare la temperatura durante l'incubazione, cosi' da incrementare la velocita' del processo, e dalla possibilita' di evitare i problemi relativi al mantenimento del livello di umidita' ottimale per il metabolismo microbico di tipo aerobico. Si e' suggerito percio', nell'ultimo volume "Methods of Soil Analysis", come metodo di tipo biologico da usare per determinare l'azoto disponibile del terreno, quello basato su una incubazione di tipo anaerobico (Keeney, 1982). Come metodo di tipo chimico si e' suggerito di usare quello che si basa sulla determinazione della quantita' di ammoniaca rilasciata quando il terreno viene incubato con una soluzione di $CaCl_2$ in autoclave a 120°C.

2b. Metodi Matematici

E'ovvio che la quantita' di azoto determinata con i metodi di laboratorio rappresenta un valore potenziale; ad esempio, anche nel caso della determinazione con un metodo biologico, che simula il processo in situ, il valore ottenuto e' il risultato di una incubazione condotta in condizioni controllate di temperatura e umidita' e percio' non puo' corrispondere alla quantita' mineralizzata in campo, dove le condizioni climatiche non sono costanti e dove il tipo di coltura ed il tipo di intervento agronomico influenzano in modo marcato il processo di mineralizzazione dell'azoto. La rappresentazione matematica del processo puo' prendere in considerazione gli effetti delle diverse variabili sulla velocita' del processo stesso e costituisce l'approccio piu' idoneo per simulare il processo in condizioni di campo. I modelli proposti per descrivere il processo di mineralizzazione in situ sono numerosi e differiscono tra loro per i pools considerati e per le variabili ritenute

piu' importanti nell'influenzare la velocita' del processo (Goh e Haynes, 1986). Un aspetto critico dell'approccio basato sui modelli matematici e' quello dovuto al fatto che per descrivere l'effetto delle variabili climatiche si utilizzano in genere dati di laboratorio ottenuti esaminando ogni singola variabile in modo separato. Recentemente, al fine di ovviare a questo inconveniente, si e' esaminato l'effetto simultaneo di due variabili, l'umidita' e la temperatura, sul processo di mineralizzazione dell'azoto organico nel terreno (Kladivko e Keeney, 1982); con una opportuna trattazione matematica si e' accertato che la velocita' del processo di mineralizzazione e' linearmente correlata con il tenore di umidita' ma non si e' osservata nessuna interazione tra umidita' e temperatura.

Si ritiene che la quantita' netta di azoto mineralizzata durante la stagione di crescita, che come valore medio e' uguale a circa il 3-4% della quantita' di azoto organico presente nel terreno, sia inferiore a quella potenzialmente mineralizzabile; in altre parole il "pool attivo" dell'azoto organico e' superiore al 3-4%; diversi modelli che cercano di interpretare il comportamento dell'azoto nel sistema terreno-pianta, considerano l'azoto organico composto da due pools (quello attivo e quello passivo) caratterizzati da una diversa resistenza alla degradazione microbica. E' ovvio che anche questa descrizione rappresenta una semplificazione poiche' e' ragionevole supporre che esistono delle situazioni intermedie tra forme prontamente disponibili e forme recalcitranti; alcuni modelli piu' sofisticati considerano uno o due pools intermedi rispetto a quelli gia' sopra citati. Al fine di ottenere una descrizione dei fenomeni piu' attinente alla realta' la sostanza organica e' stata suddivisa, in alcuni modelli, in quattro pools: biomassa attiva, biomassa non attiva, forme organiche che vengono lentamente mineralizzate e forme del tutto resistenti (Paul e Juma, 1981; van Veen e Frissel, 1981; Parton et al., 1983). L'aspetto critico di questi modelli consiste nel fatto che oggi non esistono metodi con i quali si possa determinare questi pools ed e' percio' impossibile verificare l'attendibilita' di questi modelli (Bonde e Rosswall, 1987).

La quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile puo' essere calcolata dalla equazione di Stanford e Smith (1972), secondo la quale il processo di mineralizzazione dell'azoto segue una cinetica del primo ordine; in bbase a questa equazione il processo di mineralizzazione puo' essere cosi' descritto:

$$lg(No-Nm)=lgNo-kt/2.303$$

dove No rappresenta la quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile, Nm la quantita' di azoto mineralizzata al tempo t e k e' una costante che risulto' essere uguale, nei terreni studiati da Stanford e Smith, a 0.054 settimane^{-1}. Analizzando 39 terreni, caratterizzati da

proprieta' differenti, il valore medio di No risulto' pari al 18.4% del contenuto di azoto totale. La quantita' di azoto potenzialmente mineralizzabile si ricava dal calcolo della espressione sopra menzionata, utilizzando i valori di Nm ottenuti dalla incubazione aerobica del terreno, misto con sabbia, in condizioni controllate di temperatura e di umidita'; il terreno deve essere periodicamente dilavato con una soluzione salina per determinare la quantita' di azoto inorganico prodotta.

COMPLESSITA' DEL FENOMENO: RELAZIONI TRA I DIVERSI COMPONENTI BIOTICI

Il ruolo della microfauna nel processo di mineralizzazione dell'azoto organico ha ricevuto una particolare attenzione nel corso degli ultimi anni. Uno studio accurato delle interazioni tra le diverse componenti della popolazione microbica deve prendere in considerazione non solo le quantita' di elemento che vengono utilizzate e secrete da una particolare popolazione (ad esempio, quella batterica) ma anche la dinamica delle popolazioni stesse. Uno studio di questo tipo e' stato condotto nell'ambito del "Swedish Ecology Arable Lands Programme". Si e' accertato che la fauna gioca un ruolo importante nella mineralizzazione netta dell'azoto contribuendo, rispettivamente, al rilascio di 21 e di circa 26 Kg di N per ha in un prato di erba medica ed in uno di Festuca; la quantita' rilasciata in un terreno coltivato a mais e' risultata inferiore (Rosswall e Paustian, 1984). Tuttavia, se si considera il contributo della microfauna alla mineralizzazione netta il valore ottenuto nel terreno coltivato a mais e' uguale al 30%. E' necessario osservare che quando si parla del contributo quantitativo della microfauna alla mineralizzazione dell' azoto non significa che tale apporto sia interamente a disposizione della pianta poiche' altri componenti biotici possono utilizzarlo (Anderson, 1988).

Lo sviluppo dell'apparato radicale puo' essere influenzato dalla disponibilita' delle forme di azoto nel suolo; quando tale disponibilita' diminuisce si verifica nella pianta arboree un aumento della biomassa radicale; le radici derivate presentano piu' ramificazioni cosi' da esplorare un volume di suolo maggiore (McClaugherty et al, 1982). Nel caso della prevalenza di uno ione "mobile", quale il nitrato, la densita' radicale puo' essere bassa (1 per cm^2) mentre valori di densita' piu' elevati (fino a 100 per cm^2) sono osservati in terreni caratterizzati dalla presenza di concentrazioni elevate di ammoniaca (Baldwin, 1975; Nye e Tinker 1977).

E' stata di recente ipotizzata, al fine di interpretare i risultati di un esperimento di laboratorio basato sulla crescita di piantine di grano in terreno sterile inoculato con batteri e/o protozoi, una serie di interazioni che si verificano tra le componenti biotiche ed abiotiche nella rizosfera delle piantine (Clarholm,

1985); il protocollo sperimentale prevedeva diversi trattamenti, i quali includevano, tra l'altro, l'aggiunta di glucosio e/o di solfato ammonico e la presenza di controlli costituiti da solo terreno e da terreno con piantine senza l'inoculo dei microrganismi. Si e' ipotizzato che le piantine rilasciano gli essudati radicali e quindi substrati per la crescita batterica, nella zona situata a ridosso della parte apicale della radice; poiche' tali composti sono caratterizzati da un basso contenuto di azoto la biomassa batterica e' costretta a mineralizzare ed utilizzare le forme di azoto organico del terreno per sostenere la propria crescita;in conseguenza dell'aumento della biomassa batterica si verifica la crescita dei protozoi che utilizzano i batteri; durante questo processo si ha la liberazione di azoto inorganico che puo' essere assorbito dalla pianta. Questa serie di eventi temporali interessa diverse parti della radice; con il procedere dell'allungamento radicale nuove zone di terreno vengono interessate dal fenomeno per cui la mineralizzazione delle forme di azoto organico non interessa mai la stessa area di suolo.

4. CONCLUSIONI

Le complesse interazioni biotiche che sono alla base dei processi di mineralizzazione e di immobilizzazione dell'azoto e le interazioni tra le popolazioni e le diverse forme di azoto organico del terreno sono in gran parte ancora da capire, per cui e' difficile trovare dei metodi di laboratorio che possano quantificare, in modo accurato, la mineralizzazione netta dell'azoto e quindi la stima dell'azoto disponibile per le pianta. Gli approcci oggi seguiti per aumentare le conoscenze del problema sono essenzialmente due; da una parte si cerca di definire e stimare altri pools, oltre all'azoto organico ed a quello inorganico; si e' cosi' trovato un metodo attendibile (quello della fumigazione con $CHCl_3$ e della successiva estrazione) per determinare il contenuto di azoto della biomassa microbica; ulteriori sviluppi in questa direzione saranno costituiti dalla messa a punto di metodi che possono stimare almeno due pools organici caratterizzati da una diversa resistenza alla degradazione microbica (pool attivo e pool passivo).

L'altro approccio e' quello costituito dagli esperimenti del tipo di quelli condotti dalla Clarholm (1985) dove si tenta di semplificare la situazione esistente nel sistema terreno-pianta in modo da mettere in evidenza le interazioni che esistono tra le diverse componenti biotiche.

Tuttavia occorre anche una ricerca piu' incisiva che possa chiarire la struttura chimica delle diverse forme di azoto organico; come e' noto una gran parte delle forme organiche dell'azoto (dal 30 al 50% del totale) presenti nel terreno ha una struttura che non e' ancora definita. Per le forme organiche di cui si conosce la struttura (ad esempio, proteine, peptidi, amminoacidi,

ect.) si devono chiarire i meccanismi che le rendono resistenti alla degradazione microbica e quindi al rilascio dell' azoto inorganico.

Per quanto riguarda la possibile risposta alla domanda sulla quantificazione precisa dell'azoto disponibile per la pianta si devono, a mio parere, seguire i suggerimenti relativi ai metodi di tipo chimico e biologico da utilizzare, riportati da Keeney (1982), considerando, nella interpretazione dei risultati,i limiti di tali metodi.

5. BIBLIOGRAFIA

Anderson J.M. 1988. Spatiotemporal effects of invertebrates on soil processes. Biol. Fert. Soils 6:216-227.

Baldwin J.P. 1975. A quantitative analysis of the factors affecting plant nutrient uptake from some soils. J. Soil Sci. 26:195-206.

Bonde T.A. e Rosswall T. 1987. Seasonal variation of potentially mineralizable nitrogen in four cropping systems. Soil Sci. Soc. Am. J. 51:1508-1514.

Clarholm M. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. 1985. Soil Biol. Biochem. 17:181-187.

Fox R.H. e Piekielek W.P. 1978. Field testing of several nitrogen availability indexes. Soil Sci. Soc. Am. J. 42:747-750.

Goh K.M. e Haynes R.J. 1986. Nitrogen and agronomic practice. In "Mineral nitrogen in the plant-soil system" (R.J. Haynes, ed.), pp 379-468. Academic Press, London.

Hanway J.J. 1973. Experimental methods for correlating and calibrating soil tests. In "Soil testing and plant analysis" (L.M. Walsh e J.D. Beaton, ed.), pp 55-66. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wis.

Haynes R.J. 1986. Uptake and assimilation of mineral nitrogen by plants. In "Mineral nitrogen in the plant-soil system (R.J. Haynes, ed.), pp303-378. Academic Press, London.

Jenkinson D.s. e Ladd J.N. 1981. Microbial biomass in soil measurement and turnover. In "Soil biochemistry" vol 5 (E.A Paul e J.N. Ladd, ed.), pp 415-471. Marcel Dekker, new York.

Keeney D.R. 1982. Nitrogen-availability indices. In "Methods of soil analysis" Part 2 (A.L. Page et al., ed.), pp 711-733. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wis.

Kladivko E.J. e Keeney D.R. 1987. Soil nitrogen mineralization as affected by water and temperature interactions. Biol. Fert. Soils 5:248-252.

McClaugherty C.A., Aber J.D. e Melillo M. 1982. The role of fine roots in the organic matter and nitrogen budgets of two forested ecosystems. Ecology 63:1481-1490.

Nemeth K., Bartels H., Vogel M. e Mengel K. 1988. Organic nitrogen compounds extracted from arable and forest soils by electro-ultrafiltration and recovery rates of amino acida. Biol. fert. Soils 5:271-275.

Nye P.H. e Tinker P.B. 1977. Solute movement in the soil root system. Blackwell, Oxford.

O Toole P. e Morgan M.A. 1988. Efficiency of fertilizer urea: the Irish experience. In "Nitrogen efficiency in agricultural soils (D.S. Jenkinson e K.A. Smith, ed.), pp 191-206, Elsevier Applied Science, London.

Parton W.J., Persson J. e Anderson P.W. 1983. Simulation of organic matter changes in Swedish soils. In "Analysis of ecological systems. State-of-the-art in ecological modeling (F.E. Lauenroth et al., ed.) pp 511-516, Elsevier Science Publ. Amsterdam.

Paul E.A. e Juma N.G. 1981. Mineralization and immobilization of soil nitrogen by microorganisms. In "Terrestrial nitrogen cycles. Processes ecosystem strategies and management impacts (F.E. Clark e T. rosswall, ed.), pp 179-195. Ecol. Bull. no 33, Swedish Natural Science Research Council, Stockholm.

Reuss J.O., Soltanpour P.N. e Ludwick A.E. 1977. Sampling distribution of nitrates in irrigated fields. Agron.J. 69:588-592.

Rosswall T. e Paustian K. 1984. Cycling of nitrogen in modern agricultural systems. Plant Soil 76:3-21.

Scarsbrook C.E. 1965. Nitrogen availability. In "Soil nitrogen" (W.V. Bartholomew e Clark F.E., ed.) Agronomy 10:481-502. Am. Soc. of Agron. Inc., Madison, Wis.

Singh B.R., Agarwal A.S. e Kanehiro Y. 1969. Effect of chloride salts on ammonium nitrogen release in two Hwaiian soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 33:557-560.

Stanford G.A., Aynes S. e Doi M. 1965. Mineralizable soil nitrogen in relation to fertilizer needs of sugarcane in Hawai. Soil Sci. 99:132-137.

Stanford G. e Smith S.J. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 36:465-472.

van Veen J.A. e Frissel M.J. 1981. Simulation model of the behaviour of N in soil. In "Simulation of nitrogen behaviour of plant-system (M.J. Frissel e van Veen J.A., ed.), pp 126-144. PUDOC, Wageningen, Olanda.

Ward R.C. 1971. NO_3-N soil test-approaches to use and interpretation. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 2:61-71.

TABELLA 1. Metodi analitici impiegati negli Stati Uniti per determinare la quantita' di N disponibile alle colture (Modificato da Keeney, 1982).

Tipo di analisi	Numero di stati nei quali il metodo viene usato
Concentrazione di NO_3^- nel profilo	13
Concentrazione di NO_3^- nel profilo e determinazione con metodo biologico	1
Contenuto di sostanza organica	10
Contenuto di azoto organico	2
Determinazione dell'azoto mineralizzabile	
Metodo biologico	1
Metodo chimico	1

TABELLA 2. Variabilita' nei metodi chimici impiegati per determinare l'azoto mineralizzabile (Modificato da Keeney, 1982).

Soluzioni estraenti usate	Soluzioni acide, alcaline, saline ed acqua distillata
Temperatura	Da quella ambientale ad un valore di 100 C
Modo di estrazione	Sotto riflusso, in agitazione e dopo incubazione in autoclave
Durata dell'estrazione	Da 15 min a 64 ore
Composti determinati	NH_4^+, N totale, C organico e glucosio

TABELLA 3. Variabilita' nella metodologia impiegata per determinare la quantita' di N mineralizzabile (Modificato da Keeney, 1982).

Condizioni	Periodo di incubazione (giorni)	Temperatura °C	Composto determinato	Rapporto terreno: soluzione estraente
Aerobiche	da 14 a 196	da 24 a 35	N inorganico	da 3.75 a 5.7
	Condizioni variabili di umidita'			
	Con o senza dilavamento periodico del terreno in incubazione			
Anaerobiche	da 14 a 21	da 30 a 40	N ammoniacale	

Verona 1988

STUDIO COMPARATO DI ALCUNE METODOLOGIE ANALITICHE PER LA VALUTAZIONE DELLA DISPONIBILITA' DEL FOSFORO E DEL POTASSIO.

Andrea Buondonno

Istituto di Chimica Agraria - Portici
Universita' degli Studi di Napoli

RIASSUNTO

Vengono confrontate alcune metodologie diagnostiche della disponibilita' del fosforo e del potassio nel suolo, con particolare riferimento ai metodi di estrazione con reattivi chimici, alla misura del Fattore Intensita', del Fattore Quantita' e della Capacita' Tampone, alla estrazione frazionata in Elettro-UltraFiltrazione (EUF). Sulla base dei riferimenti bibliografici e dei risultati sperimentali si evidenzia l'applicabilita' dell'EUF quale metodo di routine per la caratterizzazione delle frazioni dei nutritivi a differente livello di disponibilita' per le colture.

SUMMARY

Some procedures for the diagnosis of phosphorus and potassium availability in the soil are compared, with particular reference to the nutrients extraction by chemical reactants, to the measurements of the Intensity Factor, the Quantity Factor, the Buffering Capacity, and to the nutrients fractionating extraction by Electro-Ultra Filtration (EUF). On the basis of both literature references and experimental results, it is shown the suitability of the EUF as a routine method for the evaluation of the nutrients fractions which are differently available to the crops.

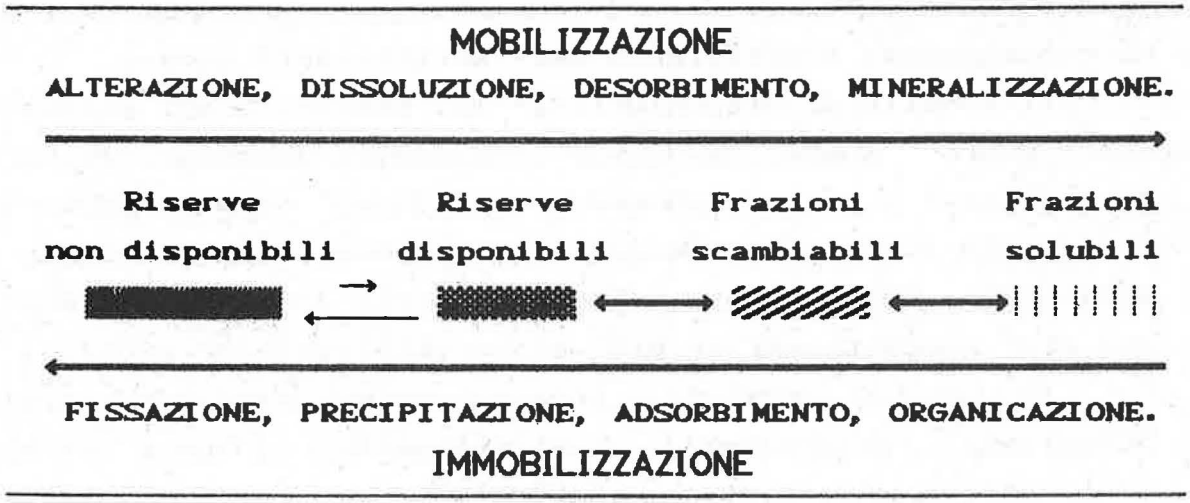
1. INTRODUZIONE

La valutazione dello stato di fertilita' del suolo rappresenta uno campi di indagine della Chimica Agraria di rilevante interesse pratico. Fin dal secolo scorso, le ricerche sono state indirizzate verso l'elaborazione di una metodologia analitica unificata, capace di fornire, con procedure semplici e rapide, un esauriente quadro diagnostico della disponibilita' dei nutritivi nel suolo *[Hesse 1971; Jackson 1958; Mengel & Kirkby 1982; Beringer 1985]*.

Il conseguimento di tale scopo e' attualmente ancora

incompleto, e risulta particolarmente complesso nel caso del fosforo e del potassio *[Mengel 1982]*. Infatti, la dinamica di questi elementi nel suolo e' controllata da numerosi parametri che, in misura diversa, ne influenzano la assimilazione da parte delle piante *[Grant & Hipp 1968; Haynes 1984; Hendrix 1967; Khasawneh 1971; Mattingly & Talibudeen 1967; Mengel & Kirkby 1982; Mengel & von Braunschweig 1972; Nèmeth 1975, 1979; Nye 1977; Nye & Tinker 1977; Rex & al. 1979; Sauchelli 1965; Schroeder 1984]* (Figura 1).

Figura 1. Rappresentazione schematica dell'influenza di alcuni fattori sulla mobilita' del fosforo e del potassio nel suolo.



Tra i fattori di maggior rilievo, vanno considerati:

- le caratteristiche chimiche, fisiche, e pedologiche del suolo, e quelle della rizosfera in particolare;
- la concentrazione nella fase liquida delle forme solubili;
- la quantita' e la natura delle frazioni associate alla matrice in forme facilmente scambiabili, o come riserve differentemente disponibili;
- i fenomeni di mobilizzazione dei nutritivi che, per processi di alterazione dei minerali primari, di dissoluzione, di desorbimento, o di mineralizzazione della sostanza organica, rendono disponibili le forme di riserva;
- i fenomeni di immobilizzazione che, per processi di

adsorbimento selettivo, di fissazione, di precipitazione, o di organicazione, retrogradano le forme disponibili verso le riserve non disponibili.

In particolare, i processi di organicazione ↔ mineralizzazione della sostanza organica, e quelli di precipitazione ↔ dissoluzione delle fasi cristalline condizionano notevolmente la mobilita' del fosforo, mentre risultano irrilevanti nei confronti del potassio.

Altri fattori di variabilita' sono introdotti dall'uomo stesso: le pratiche agronomiche influiscono sulla struttura, sul grado di reazione e sulla conservazione del suolo, alterando gli equilibri tra le fasi; l'impianto di cultivar selezionate e l'apporto di ammendanti, pesticidi, fitoregolatori, modificano l'assimilazione dei nutritivi e, di conseguenza, l'efficienza dei fertilizzanti stessi.

Il livello di disponibilita' del fosforo e del potassio nel suolo viene pertanto valutato secondo criteri metodologici e procedimenti analitici sostanzialmente differenti *[CSSC 1978; Hesse 1971; Jackson 1958; Mattingly & Talibudeen 1967; Németh 1979; Sauchelli 1965; SISS 1985]*, dai piu' semplificati ai piu' elaborati *[Beringer 1985]*.

In termini generali, possono essere individuati due principali orientamenti metodologici, l'uno basato sull'analisi del sistema suolo/pianta nel suo complesso, l'altro basato sulla sola analisi del suolo.

Al primo vanno ascritti i test fisiologici di assimilazione dei nutritivi in microorganismi o in piantine in ambiente controllato *[Hesse 1971; Neubauer & Schneider 1923]*, l'analisi della produttivita' in pieno campo ("carta di bilancio fertilizzazione/asportazione" *[Beringer 1985]*, sistema "D.R.I.S." (Diagnosis and Recommendation Integrated System) *[Beaufils & Sumner 1976; Chojnacki 1985]*), le tecniche radioisotopiche *[Larsen 1952; Williams & Knight 1963]*. Questi metodi sono altamente indicativi dello stato di fertilita' del suolo, in quanto consentono di valutare direttamente l'effettiva disponibilita' dei nutritivi. Una loro dettagliata trattazione esula tuttavia dai limiti di questa breve rassegna. Le procedure impiegate, infatti, ne

sfavoriscono l'uso come metodi di routine, a causa dei lunghi tempi richiesti dalle determinazioni, o per la necessita' di operare con sofisticate strumentazioni analitiche.

Per contro, risultano piu' frequentemente applicati i metodi di sola analisi del suolo, grazie alla maggiore semplicita' e rapidita' delle procedure. In particolare, verranno discusse le seguenti metodologie analitiche:

- estrazione del fosforo e del potassio tramite l'impiego di reattivi chimici;
- valutazione di parametri quantitativo/dinamici, quali il Fattore Intensita' (*I*), il Fattore Quantita' (*Q*) e la Capacita' Tampone (Buffering Capacity, *BC*);
- estrazione in Elettro-Ultrafiltrazione (EUF).

2. METODI DI ESTRAZIONE CON REATTIVI CHIMICI.

2.1. Fosforo

Il fosforo e' presente nel suolo in diverse forme *[Chang & Jackson 1958; Emerson & al. 1984; Haynes 1984; Hsu 1964; Larsen 1967; Mattingly & Talibudeen 1967; Marshall 1977; Nye & Tinker 1977; Sauchelli 1965; Schroeder 1984]*:

- forme native dei fosfati primari di Ca (Apatiti), di Al (Variscite, Wavellite), di Fe (Strengite, Vivianite);
- forme "occluse" in ossidi idrati di Fe e Al;
- forme organiche (fitati, fosfolipidi, acidi nucleici);
- forme adsorbite (su minerali argillosi, allumino-silicati a scarso ordine cristallino, ossidi idrati di Fe e Al, complessi organo-minerali , carbonati alcalino-terrosi);
- forme solubili (essenzialmente $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}).

L'abbondanza relativa di tali forme dipende dalle caratteristiche dei suoli *[Chang & Jackson 1958; Mattingly & Talibudeen 1967]* (Figure 2a e 2b), e non e' possibile definire in termini assoluti la disponibilita' di ciascuna di esse *[Mengel e Kirkby 1982]*. Ad esempio, l'assimilazione dei fosfati inorganici dipende sia dalla loro composizione chimica che dalle caratteristiche fisiologiche delle piante

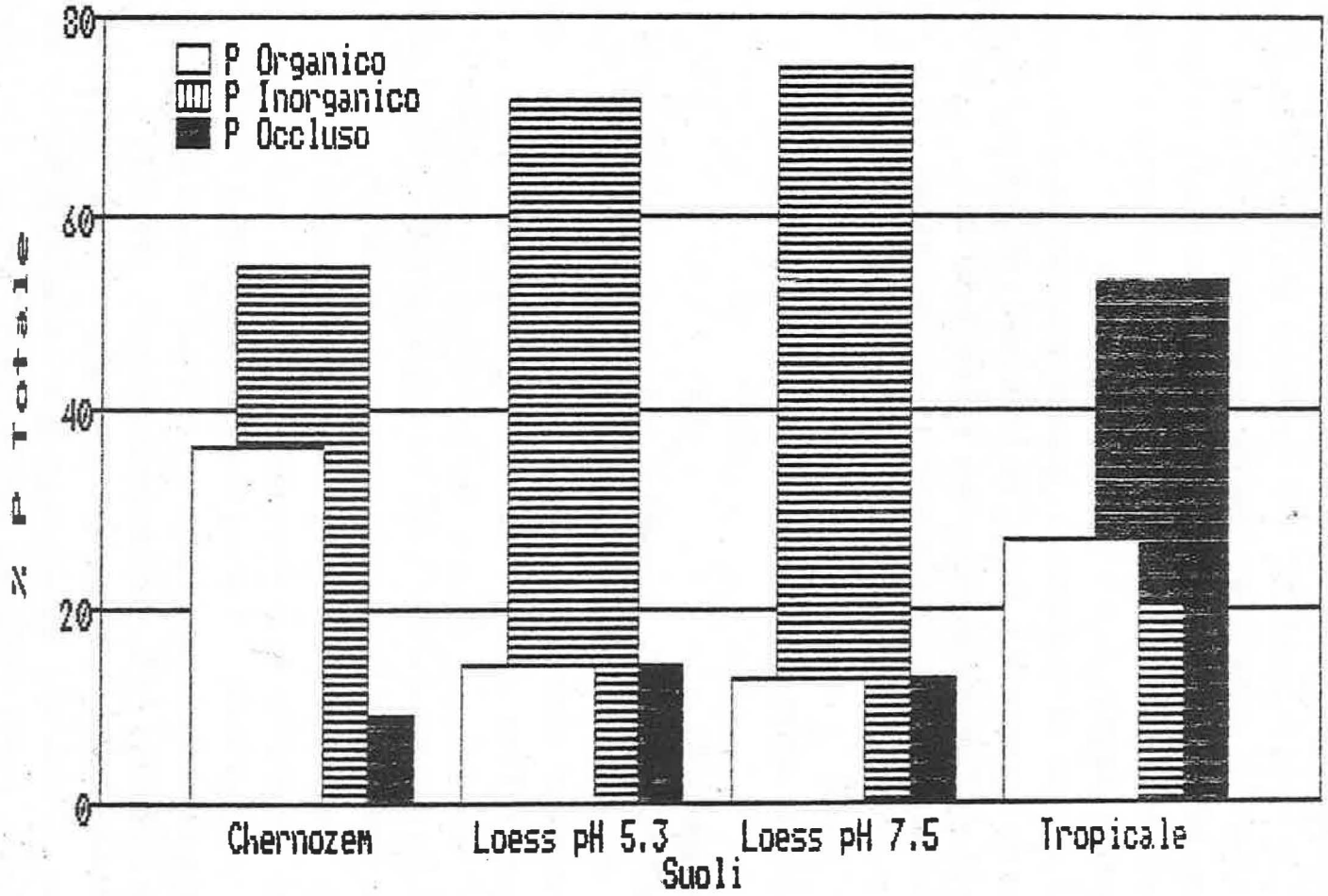


Figura 2a. Distribuzione percentuale delle forme organiche, inorganiche e occluse del fosforo in suoli di natura diversa.

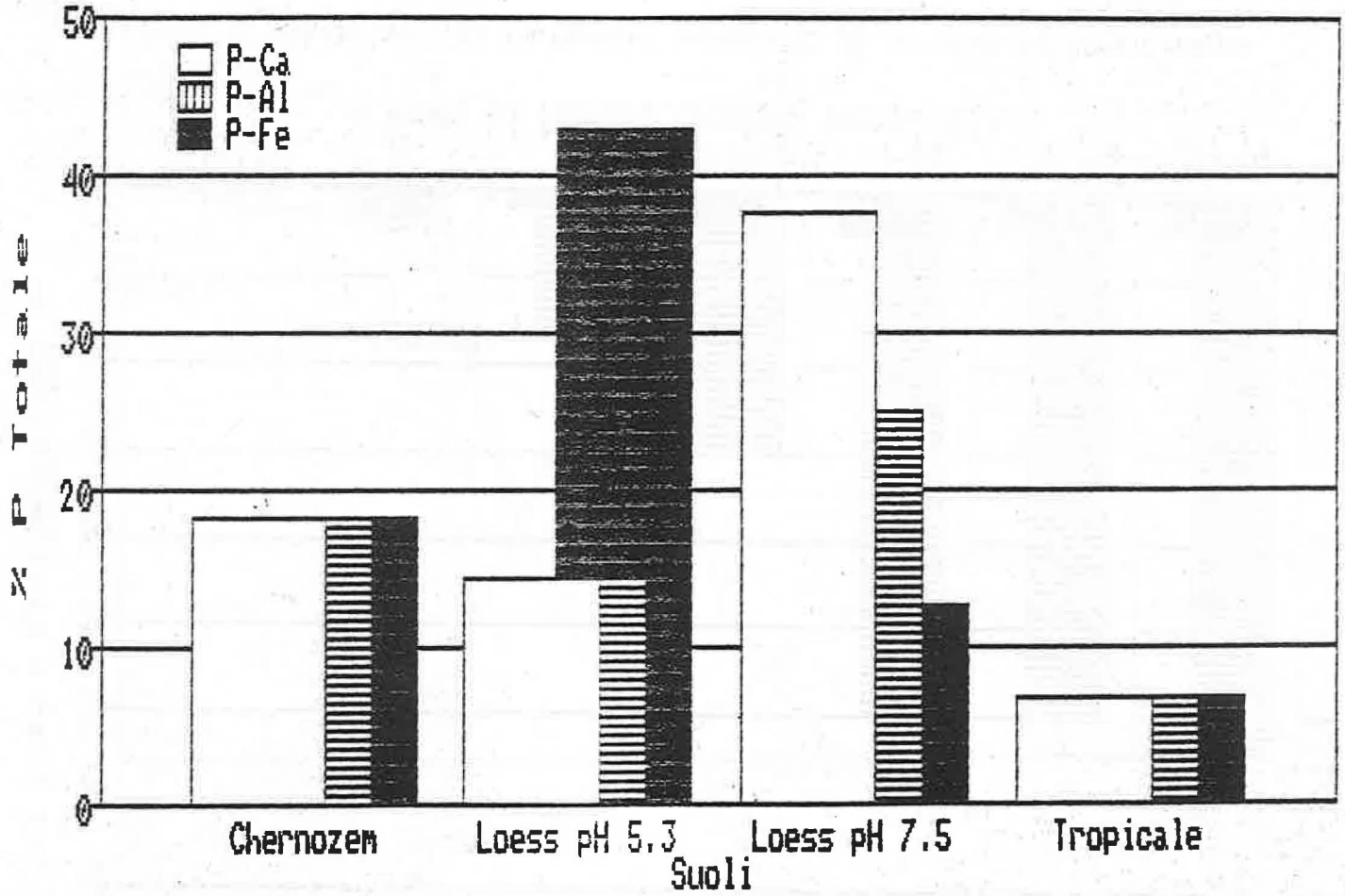


Figura 26. Distribuzione percentuale dei fosfati di Ca, Al e Fe in suoli di natura diversa.

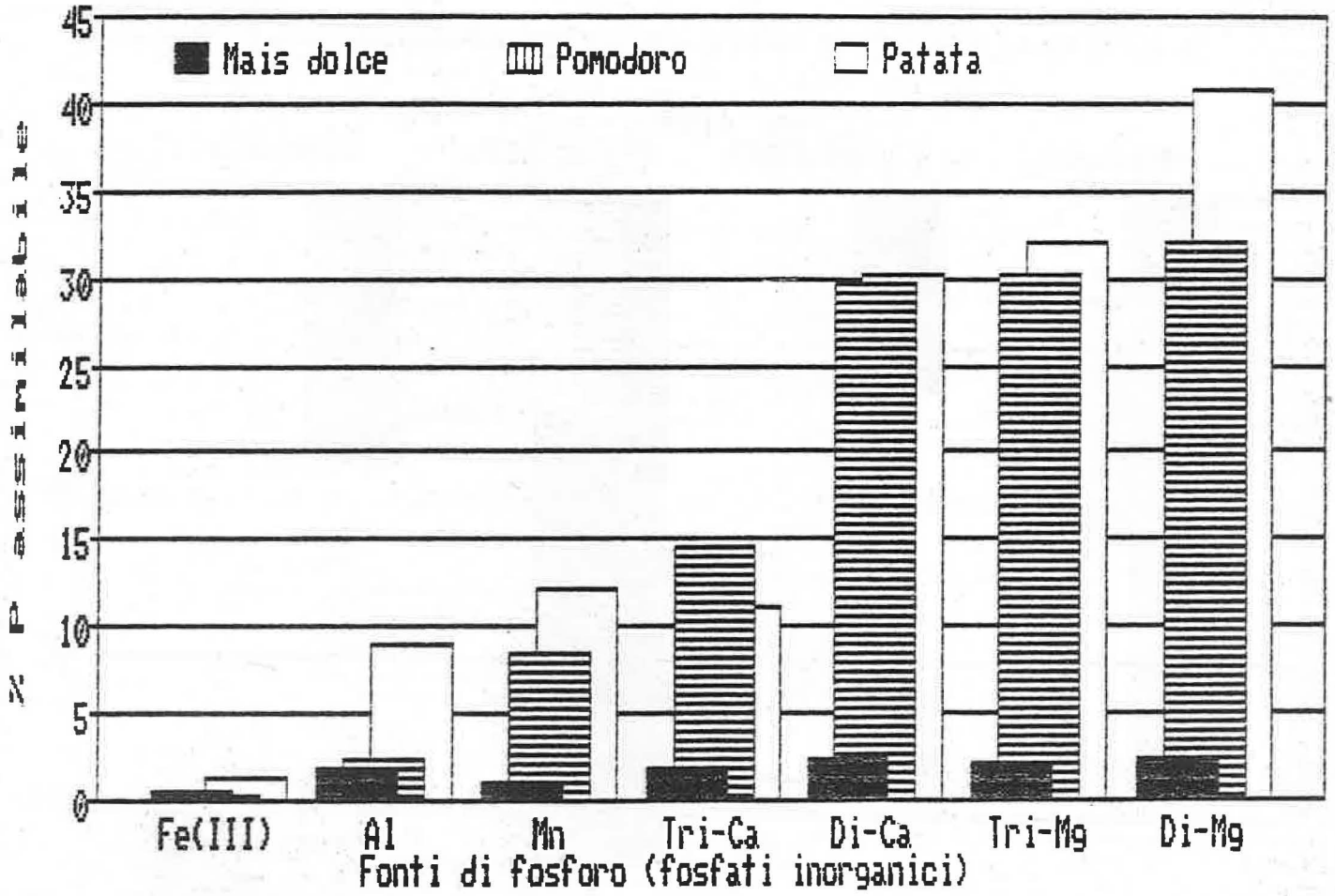


Figura 3. Assimilabilità di fosfati inorganici da parte di colture diverse.

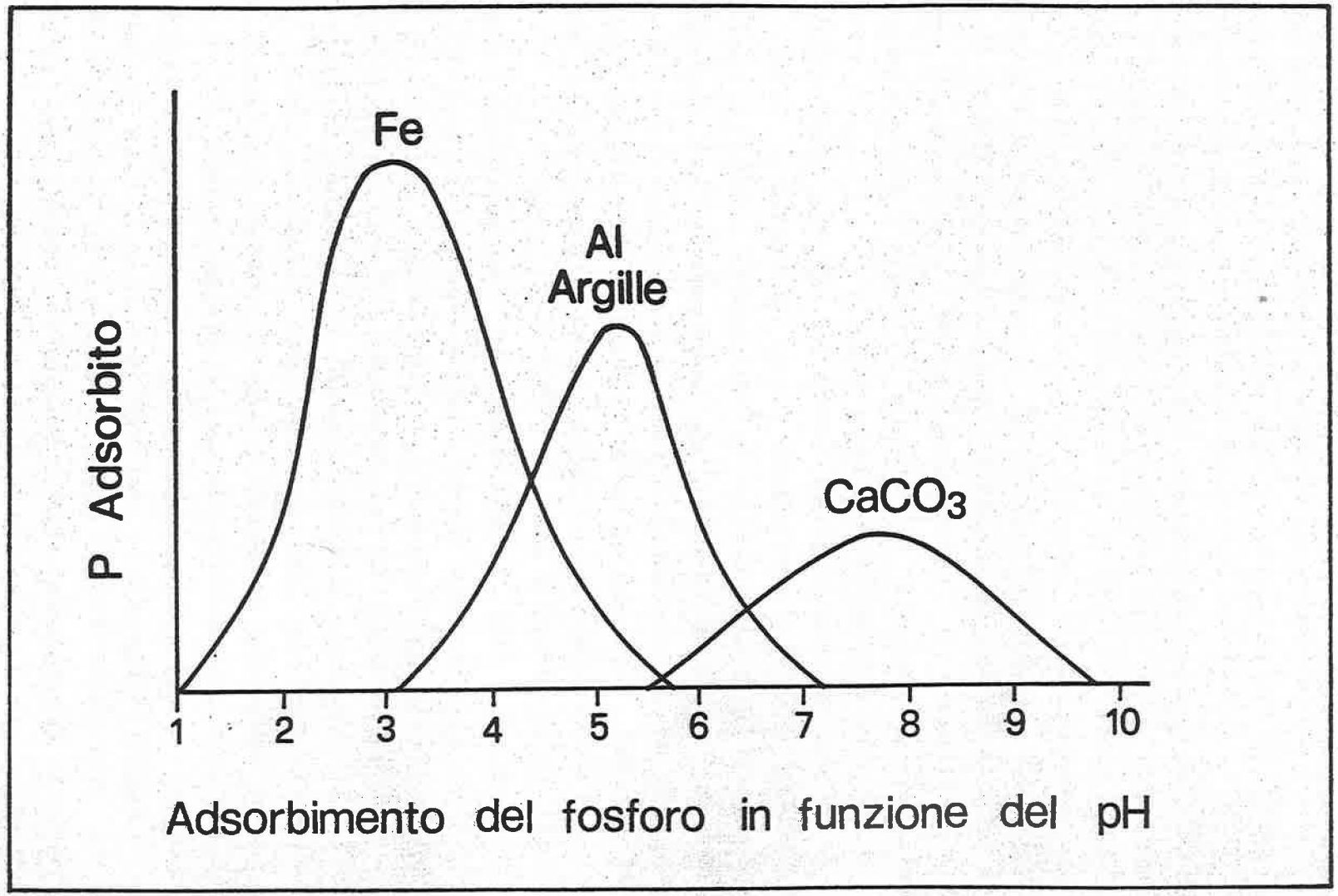

Fe
Al
Argille
CaCO3
P Adsorbito
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Adsorbimento del fosforo in funzione del pH

Figura 4.

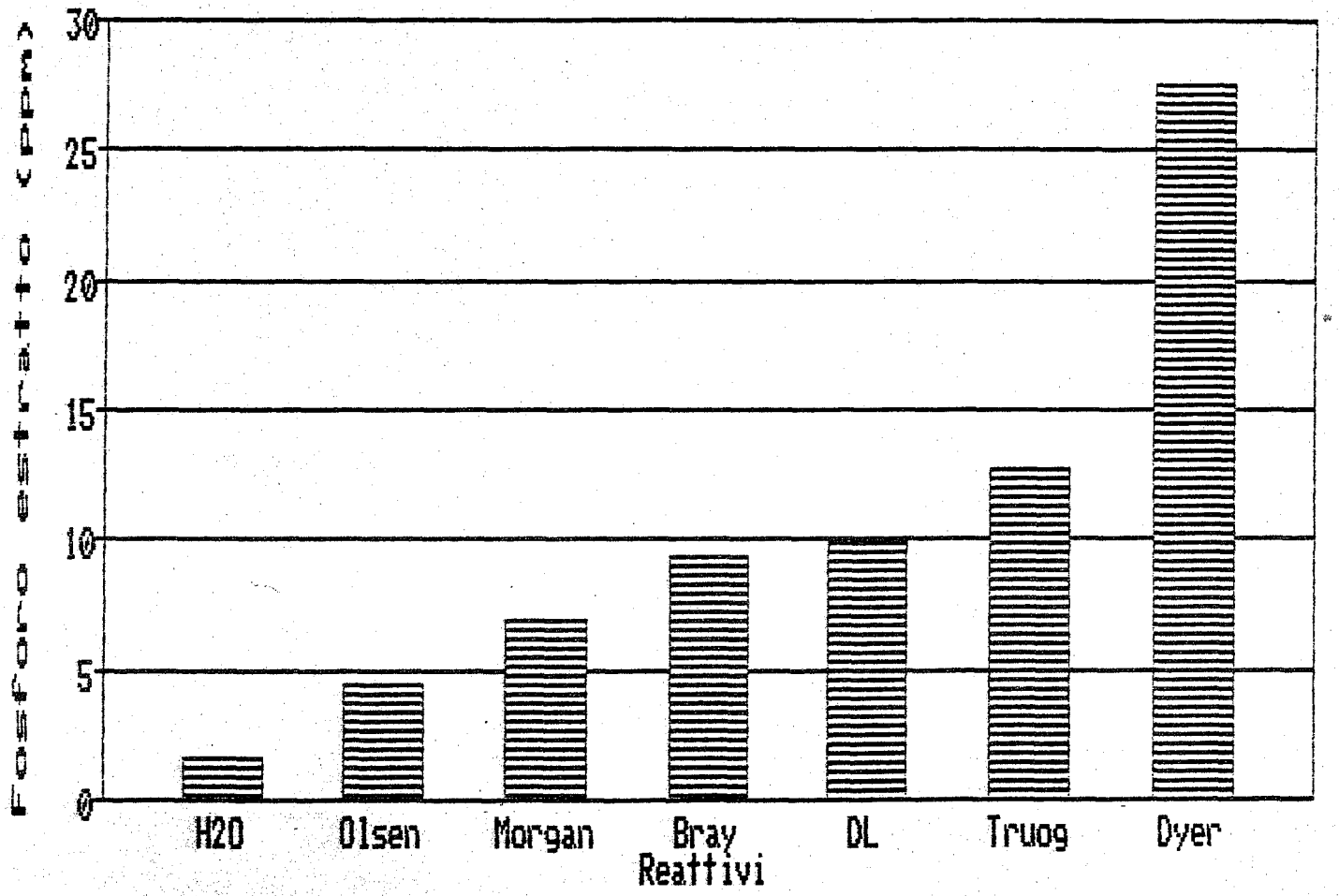


Figura 5. Confronto tra le quantità di fosforo estratte con metodi diversi (valori medi su 7 suoli, pH 6.5 - 7.5).

Tabella 1. Reattivi estraenti impiegati in alcuni Paesi per la determinazione del fosforo assimilabile.

METODI / *Paesi*	REATTIVI
Dyer (1894) *F*	H-Citr. 2% pH 2.0
Truog (1930) *USA, DK*	H_2SO_4 0.2 *N*
Morgan (1937) *F, USA, EIR*	NH_4-Ac. 10%, H-Ac. 3% pH 4.8
Bray & Kurtz (1945) *E, CDN*	NH_4F 0.03 *N*, HCl 0.025 *N*
Olsen & al. (1954) *I, GB, F, E, GR, USA*	$NaHCO_3$ 0.5 *N* pH 8.5
Egner (1955) *D, B, A, N*	NH_4-Latt. 0.1 *N*, H-Ac. 0.4 *N* pH 3.75 (AL)
Riehm (1959) *D, B, A, N*	Ca-Latt. 0.05 *N*, HCl 0.4 *N* pH 3.6 (DL)
van der Paauw (1969) *NL*	H_2O
Schüller & al. (1975) *D*	Ca-Latt. 0.1 *N*, Ca-Ac. 0.1 *N* H-Ac. 0.3 *N* (CAL)
Mehlich 3 (1984) *USA, CDN*	H-Ac. 0.2 *N*, NH_4NO_3 0.25 *N*, NH_4F 0.015 *N*, HNO_3 0.013 *N*, EDTA 0.001 M (M3)

L'efficienza di ciascun metodo dipende dalla composizione e dal grado di reazione della soluzione estraente, dal rapporto suolo/soluzione e dal tempo di estrazione (Figura 6), ma viene anche fortemente influenzata dalla natura delle forme di fosforo maggiormente rappresentate nel campione (*Hesse 1971*; *Mengel & Kirkby 1982*; *Németh & al. 1988*; *Williams & Knight 1963*).

In linea generale, il metodo di Olsen viene raccomandato per l'estrazione del fosforo disponibile dai suoli sub-alcalini e calcarei, in quanto non solubilizza le forme cristallizzate, scarsamente disponibili, del P apatitico, mentre gli altri metodi risulterebbero piu' adeguati per rimuovere le forme adsorbite presenti nei suoli neutri o acidi. Numerosi Autori, tuttavia, affermano che sono comunque preferibili i trattamenti eseguiti per brevi periodi, con estraenti blandi e in ambiente vicino alla

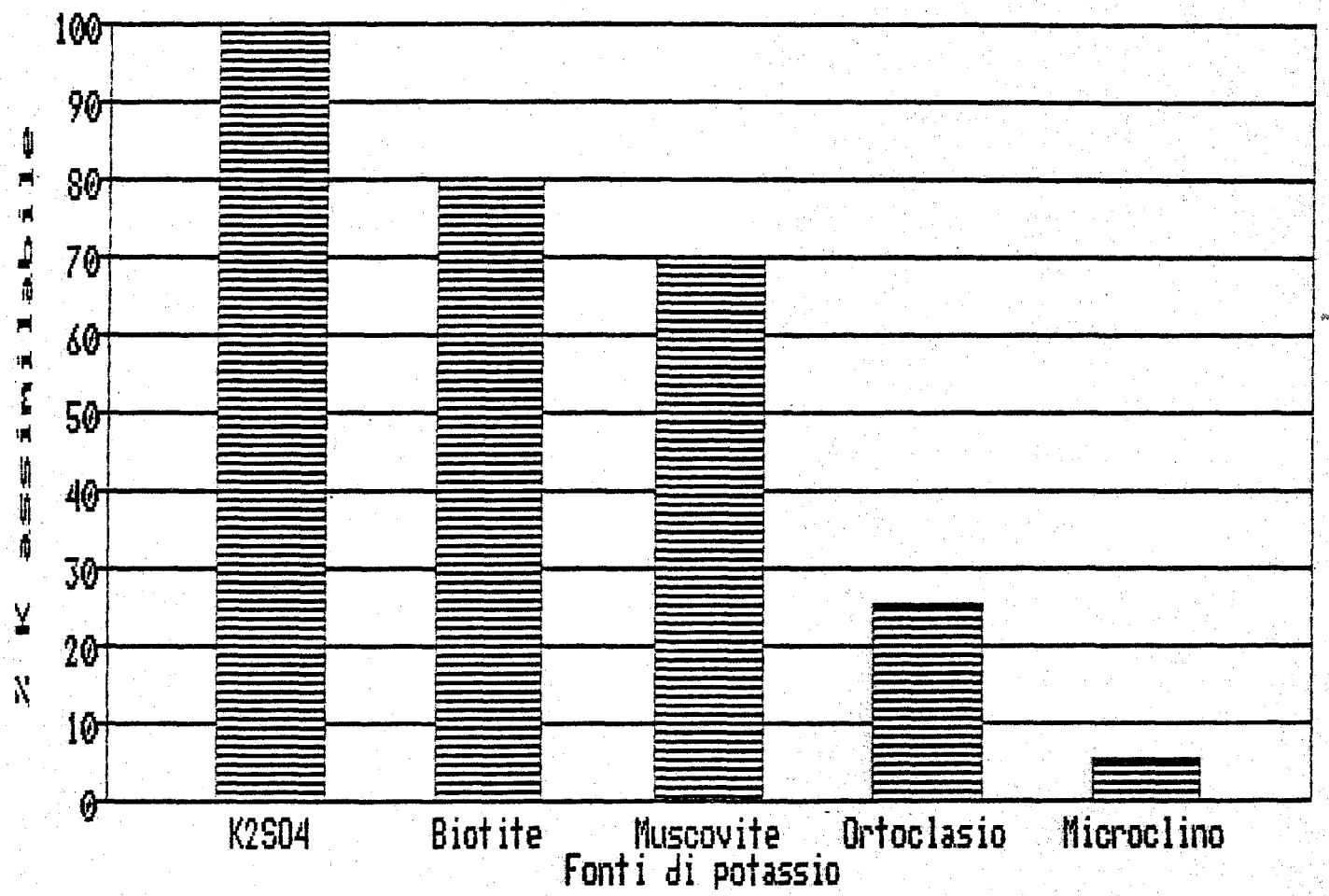


Figura 6. Assimilabilità relativa (rif. K_2SO_4 = 100 %) di potassio nativo da parte di piantine di avena (15 gg.)

neutralita', in quanto forniscono valori che risultano meglio correlati alla produzione in pieno campo *[Hesse 1971; Mengel & Kirkby 1982; van der Paauw 1969; Williams & Knight 1963]*.

2.2. Potassio

Il potassio nel suolo e' presente essenzialmente in forma nativa nei silicati primari, in forma ionica adsorbita sul complesso di scambio, in forma solubile nella fase liquida *[Rich 1968, 1972; Schroeder 1984]*. Poiche' l'idrolisi dei minerali primari e' generalmente un processo lento, che consente solo una parziale assimilazione del K nativo *[Rich 1968]* (Figura 6), la dinamica del potassio nel suolo risulta controllata principalmente da reazioni di scambio cationico *[Beckett & Nafady 1967; Grant & Hipp 1968; Goulding 1983; Nye & Tinker 1977]*. In particolare, la disponibilita' del potassio viene influenzata da:

- natura degli scambiatori, la cui tendenza ad adsorbire selettivamente lo ione K^+ cresce secondo l'ordine:
  Sostanza Organica ≤ Kaolinite < Montmorillonite <<
  << Vermiculite < Illiti < Miche;
- posizione dei siti di adsorbimento, che, nei fillosilicati 2:1, trattengono lo ione K^+ con energia crescente secondo l'ordine:
  siti esterni (superficie) < di bordo << interni;
- competizione di altri cationi di scambio, principalmente NH_4^+, Al^{3+} (suoli acidi), Ca^{2+} (suoli neutro-alcalini), Na^+ (suoli salso-alcalini).

Pertanto, per l'estrazione delle frazioni disponibili del potassio vengono impiegate soluzioni contenenti ioni capaci di scambiare, con differente efficienza, lo ione K^+ adsorbito sulla matrice (Tabella 2).

Ad esempio, il reattivo di Woodruff & McIntosh, contenente Ca^{2+}, ione poco competitivo per i siti ad alta affinita' per il potassio *[Goulding 1983, Rich 1968]*, viene utilizzato per estrarre le frazioni solubili e quelle facilmente scambiabili dai siti di superficie *[Venter 1985]*, immediatamente disponibili per le piante *[Hesse 1971]*.

Tabella 2. Reattivi estraenti impiegati in alcuni Paesi per la determinazione del potassio assimilabile.

METODI / *Paesi*	REATTIVI
Merwin & Peech (1950) §	NH_4-Ac. 1 *N* pH 7
Egner (1955) *D, B, A, N*	NH_4-Latt. 0.1 *N*, H-Ac. 0.4 *N* pH 3.75 (AL)
Riehm (1959) *D, B, A, N*	Ca-Latt. 0.05 *N*, HCl 0.4 *N* pH 3.6 (DL)
Woodruff & McIntosh (1960) *USA, CDN, Nord Europa*	$CaCl_2$ 0.01 M
Vries (1961) *NL*	HCl 0.1 *N*
Schüller & al. (1975) *D*	Ca-Latt. 0.1 *N*, Ca-Ac. 0.1 *N* H-Ac. 0.3 *N* (CAL)
Mehlich 3 (1984) *USA, CDN*	H-Ac. 0.2 *N*, NH_4NO_3 0.25 *N*, NH_4F 0.015 *N*, HNO_3 0.013 *N*, EDTA 0.001 M (M3)

§ Ampiamente diffuso a livello internazionale.

L'acetato ammonico *[Merwin & Peech 1950]* estrae anche le frazioni potenzialmente disponibili *[Hesse 1971]*, grazie alla elevata competitivita' dello ione NH_4^+ *[Mengel & Kirkby 1982]*, che ha volume e densita' di carica prossimi a quelli dello ione K^+ *[Goulding 1983; Rich 1968]*, e puo' pertanto rimuovere il potassio anche dai siti di bordo e, almeno parzialmente, da quelli interni.

L'efficienza degli altri metodi varia in relazione alla composizione della soluzione estraente ed alle caratteristiche dei suoli. Ad esempio, le determinazioni effettuate secondo il metodo di Vries portano a sovrastimare il contenuto di potassio disponibile, a causa della elevata acidita' del reattivo estraente (HCl 0.1 *N*), e vanno corrette per un fattore *K* che tiene conto del valore di *pH* e del contenuto di argilla e di sostanza organica del suolo *[Hesse 1971; Mengel & Kirkby 1982]*. Per contro, il nuovo reattivo di Mehlich 3, anch'esso acido ($pH \cong 2.6$) estrae potassio in quantita' che risultano leggermente superiori e significativamente correlate a quelle rimosse dall'acetato

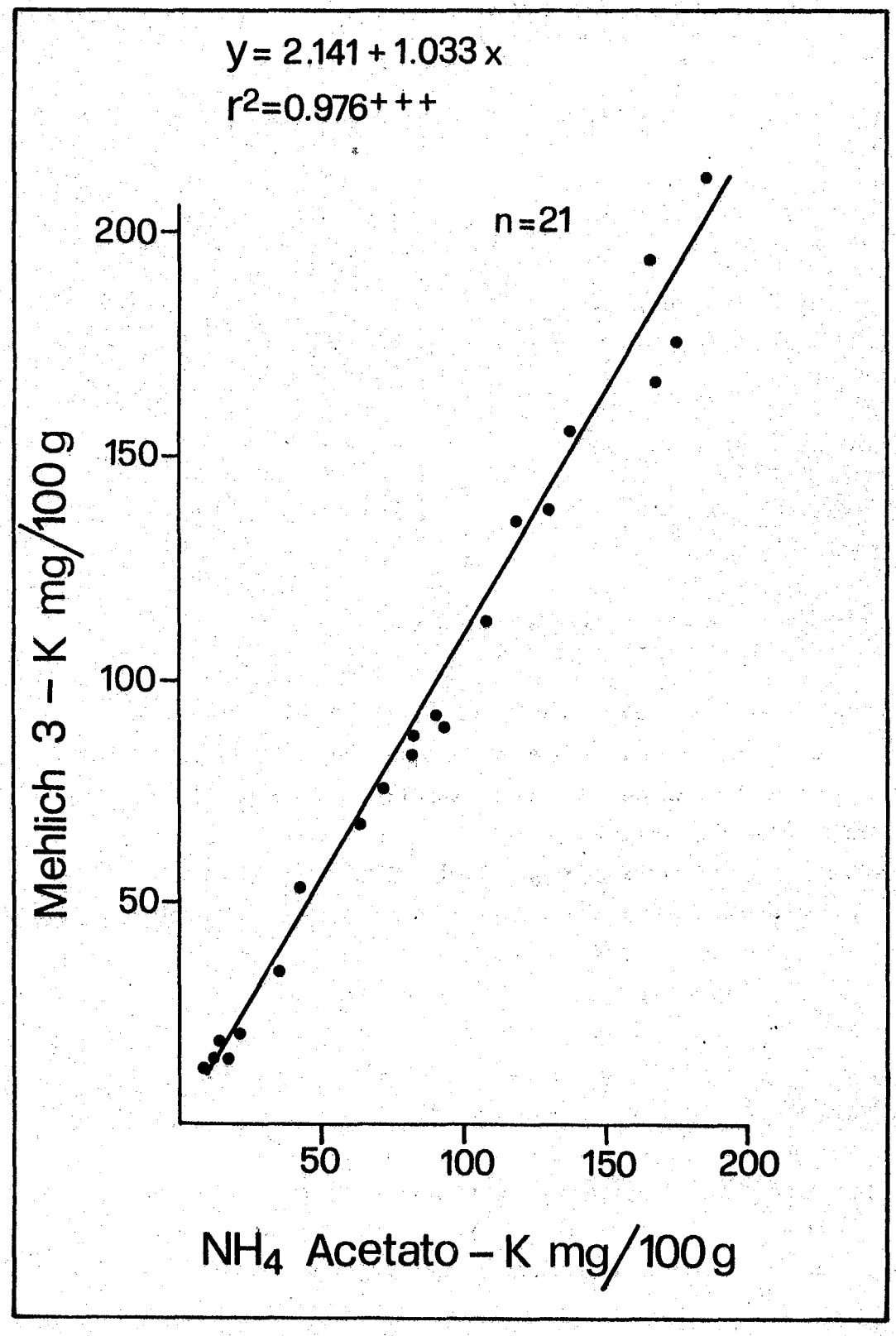


Figura 7. Correlazione tra le quantità di potassio estratte dal reattivo di Mehlich n°3 e quelle estratte dall' ammonio acetato.

ammonico *[Buondonno & al. 1988-c, Buondonno & Nèmeth 1988-b]* (Figura 7).

3. DETERMINAZIONE DI PARAMETRI QUANTITATIVO-DINAMICI: FATTORE INTENSITA', FATTORE QUANTITA', CAPACITA' TAMPONE.

L'insieme delle forme del fosforo e del potassio presenti nel suolo possono essere suddivise in tre frazioni, o *"pool"*, a differenti livelli di disponibilita':

- *"pool non labile"*, costituito da quelle forme che, generalmente, sono scarsamente disponibili per le piante, quali i fosfati occlusi negli ossidi idrati di Fe e Al, o il potassio fissato nei fillosilicati 2:1;
- *"pool labile"*, costituito dalle forme potenzialmente disponibili, quali le frazioni di P e di K adsorbite su siti a bassa affinita', o le forme fosfatiche moderatamente solubili;
- *"pool delle forme solubili"*.

Le forme solubili, fonte primaria di approvvigionamento per le piante, vengono rapidamente asportate, e la loro concentrazione in soluzione diminuisce costantemente. Da questo possono risultare due contrapposti effetti sulla mobilita' del fosforo e del potassio. Il primo effetto, derivante dalla variazione dei rapporti ionici in soluzione, e' quello di favorire l'azione competitiva di ioni antagonisti, che altera lo stato chimico-fisico delle forme solubili, e ne limita, pertanto, la mobilita'.

Il secondo effetto, derivante dalla perturbazione del sistema matrice $\leftrightarrow$ fase liquida, e' invece quello di mobilizzare le forme di riserva del *pool labile*, che tendono ad essere rilasciate in soluzione per ripristinare le iniziali condizioni di equilibrio, rendendosi cosi' disponibili per le piante.

La globale disponibilita' del fosforo e del potassio puo' quindi essere piu' dettagliatemente valutata dalla analisi di tre fattori principali *[Mengel & Kirkby 1982; Nye & Tinker 1977; Schroeder 1984]* (Figura 8):

- fattore Intensita' "*I*";

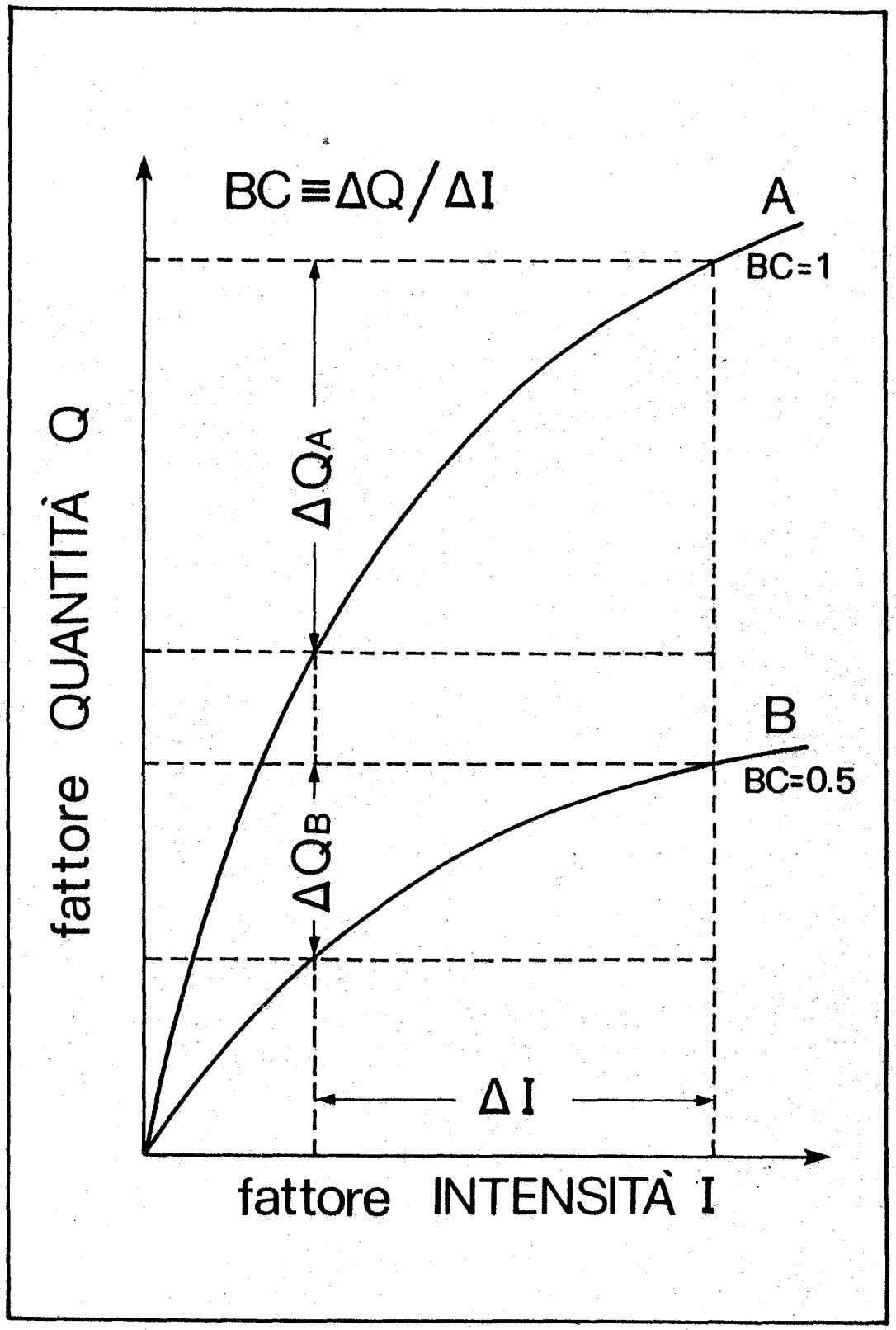
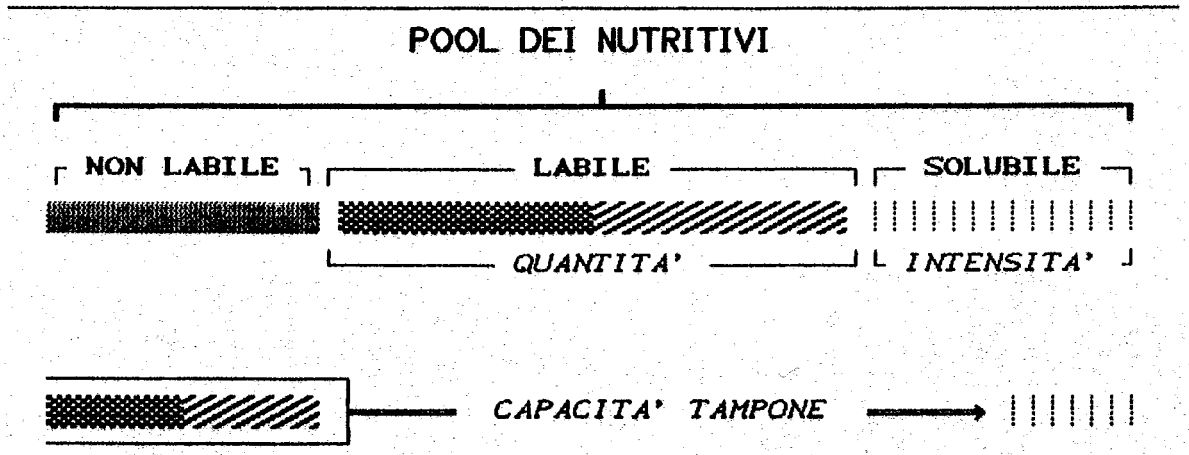


Figura 9. Relazioni tra fattore "Quantità", fattore "Intensità" e Capacità Tampone (Buffering Capacity, "BC").

- fattore Quantita' "*Q*";
- Capacita' Tampone, (Buffering Capacity), "*BC*".

Figura 8. Relazioni tra "*pool*" dei nutritivi e fattore Intensita', fattore Quantita', Capacita' Tampone. (Simbologia grafica come in Figura 1).



Il fattore Intensita' e' espressione della mobilita' del *pool labile*, ed e' determinato, in prima approssimazione, dalla concentrazione nella fase liquida delle forme ioniche (K^+, $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) immediatamente disponibili per le piante.

Il fattore Quantita' e' determinato dall'ammontare del *pool labile*, e corrisponde alle frazioni di nutritivi che sono associate alla matrice in forme potenzialmente disponibili.

La Capacita' Tampone e' caratterizzata dalla dinamica degli equilibri tra le frazioni del *pool labile* e le forme in soluzione, e definisce la tendenza della matrice a reintegrare nella fase liquida le quantita' dei nutritivi asportate dalle radici.

Le relazioni che intercorrono tra fattore *Q*, fattore *I* e Capacita' Tampone sono schematizzate in Figura 9, dove vengono riportate le curve *Q/I* per due casi esemplificativi di suoli con differente Capacita' Tampone. Nel suolo A, una determinata diminuizione del fattore Intensita', ΔI, sollecita il desorbimento di una aliquota del *pool labile* pari a ΔQ_A. Nel suolo B, invece, per lo stesso valore ΔI si

verifica una variazione ΔQ_B pari alla meta' di ΔQ_A. La Capacita' Tampone *BC*, proporzionale alla pendenza di ciascuna curva , viene misurata dal rapporto $BC = \Delta Q/\Delta I$, e risulta quindi piu' elevata nel suolo A ($BC_A = 1$) che nel suolo B ($BC_B = 0.5$).

Nella pratica, il fattore Intensita' *I* puo' essere convenientemente misurato in termini di potenziale chimico *[Schofield 1955]*, o variazione di energia libera standard dei nutritivi *[Woodruff 1955]*, in riferimento alle attivita' di ioni antagonisti. In particolare, i valori *I* del fosforo e del potassio vengono calcolati, rispettivamente, dalle seguenti espressioni *[Hesse 1971; Talibudeen 1974]*:

$$I_P \equiv \Delta G_P = \text{colog}\,[a_{H_2PO_4^-} \cdot (a_{Ca^{2+}})^{1/2}] \qquad [1]$$

$$I_K \equiv AR_K = a_{K^+}/(a_{Ca^{2+}} + a_{Mg^{2+}})^{1/2} \qquad [2]$$

dove:

ΔG_P = potenziale del fosfato;

AR_K = rapporto di attivita' del potassio;

$a = \gamma \cdot C$ = attivita' ionica *[Adams 1971]*;

γ = coefficiente di attivita';

C = concentrazione molare.

La determinazione della Capacita' Tampone e' piuttosto complessa. Generalmente, viene valutata trattando uguali aliquote dello stesso campione di suolo con soluzioni a concentrazioni crescenti di fosforo o di potassio, in presenza di quantita' fisse di ioni antagonisti (Ca^{2+}, Mg^{2+}) *[Beckett 1964-a, 1964-b; White & Beckett 1964]*. Ad equilibrio raggiunto (tipicamente dopo 12 ore), si determinano, per ciascuna sospensione, le concentrazioni finali di fosforo e di potassio all'equilibrio, e si calcolano, secondo le espressioni [1] e [2], i rispettivi valori di I_P e I_K

Le variazioni del fattore Quantita' del fosforo, $\pm\Delta Q_P$, o del fattore Quantita' del potassio , $\pm\Delta Q_K$, vengono misurate dalle differenze tra le concentrazioni iniziali e finali di fosforo o di potassio di ciascun campione. In particolare, i valori di ΔQ risulteranno negativi quando

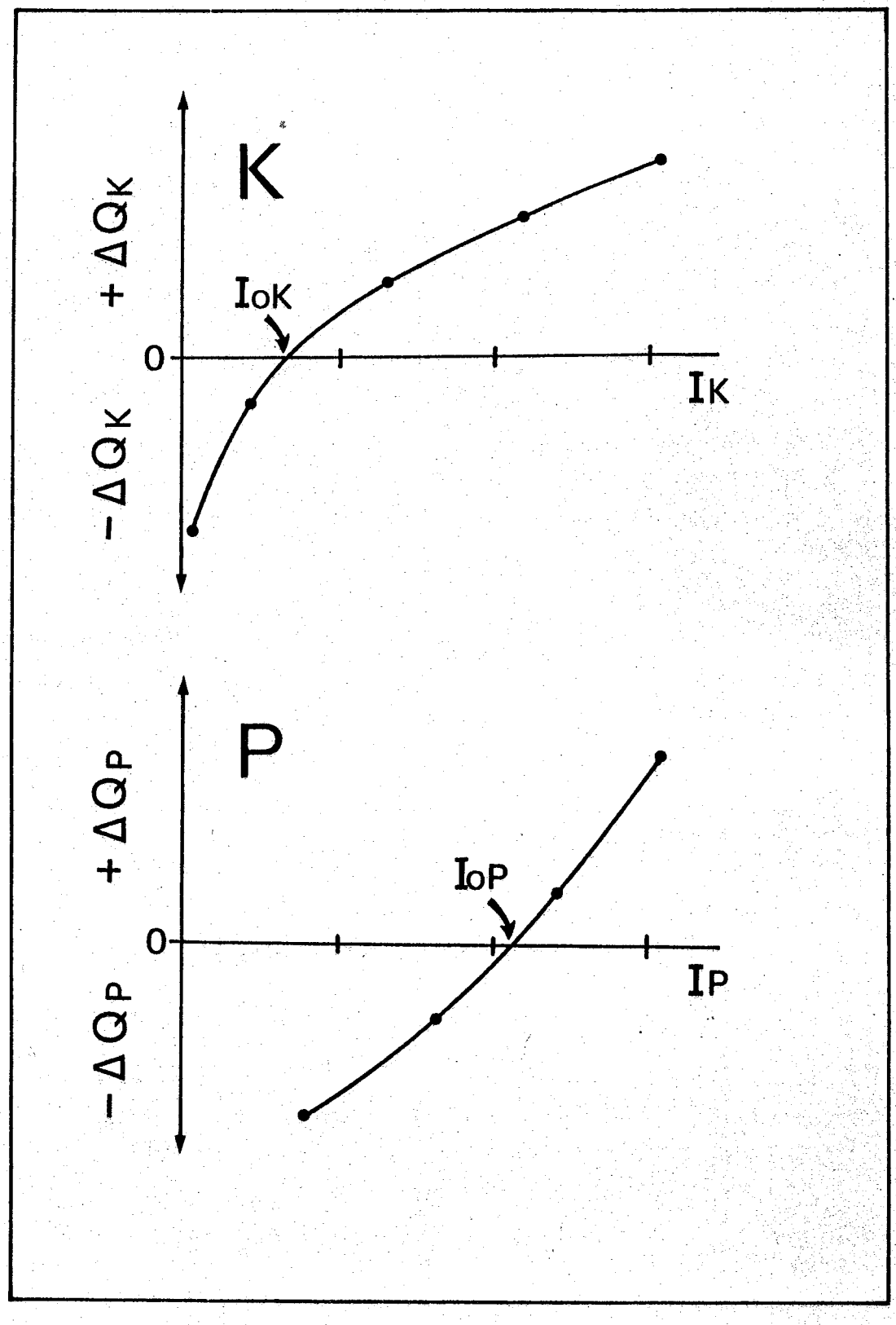


Figura IO. Rappresentazione schematica di curve "Q/I" per il potassio e per il fosforo.

parte del *pool labile* e' stato rilasciato in soluzione, ad esempio nelle sospensioni a bassa concentrazione iniziale di P e di K; viceversa, saranno positivi se parte delle frazioni solubili, presenti nelle sospensioni ad elevata concentrazione iniziale di P e di K, si ritrovano, all'equilibrio, come frazioni adsorbite sulla matrice. Ne consegue una diminuizione della concentrazione nella fase liquida, che e' pari all' incremento dell'aliquota del *pool labile* nelle fasi solida e colloidale.

Una volta determinati, i valori di ΔQ vengono diagrammati in funzione dei rispettivi valori di *I* (Figura 10). L'intercetta *Io* della curva *I* sull'asse delle ascisse definisce le condizioni di equilibrio tra la quantita' dei nutritivi presenti nel *pool labile* e la concentrazione delle frazioni solubili, e corrisponde allo stato ideale di non variazione dell'energia libera dei nutritivi, essendo $\Delta Q = 0$ per $I = Io$. Pertanto, la derivata della curva *I* nel punto *Io* misura in termini quantitativi la Capacita' Tampone iniziale del suolo, *BCo*.

L'importanza del fattore Intensita', del fattore Quantita' e della Capacita' Tampone quali indici dello stato di fertilita' del suolo e' stata accertata da numerosi Autori [*Holford 1976*; *Nair & Grimme 1979*; *Nielsen & Sörensen 1984*; *Nèmeth 1975*; *Nye 1966*; *Page & Talibudeen 1982-a, 1982-b*; *Olsen & Watanabè 1970*; *Prabhakaran & Mengel 1984*]. E' da rilevare, tuttavia, che l'attendibilita' delle misure del fattore *I* si basa sull'assunto che la concentrazione iniziale degli ioni antagonisti nella soluzione di contatto resti pressocche' invariata all'equilibrio, e non venga influenzata dalle caratteristiche del suolo.

Questa condizione non si verifica per suoli ad elevato contenuto salino e con grado di reazione non neutro, dove le specie ioniche gia' presenti nella matrice (quali H^+, Al^{3+} e NH_4^+ nei suoli acidi, Ca^{2+} e Mg^{2+} nei suoli alcalini, Na^+ nei suoli salso-alcalini) possono alterare in misura rilevante i rapporti di equilibrio ed il grado di reazione della soluzione [*Åsling 1964*; *Moss & Beckett 1971*; *Talibudeen 1974*; *Tinker 1964*], inducendo notevoli errori di

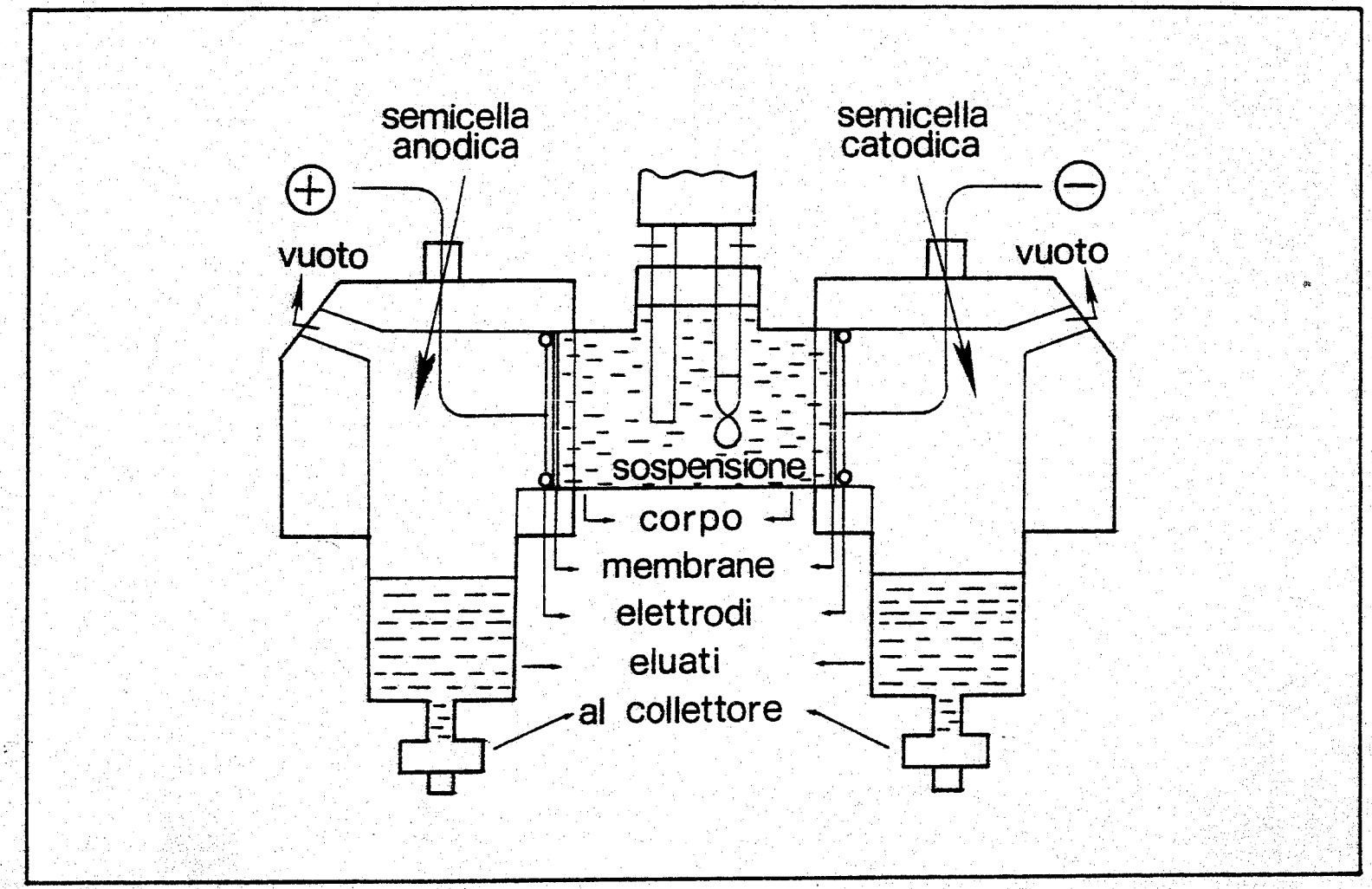


Figura II. Schema di funzionamento dell'apparecchio per Elettro-Ultrafiltrazione (VOGEL 1987).

stima, per eccesso o per difetto, del valore *Io* [*Beringer 1985; von Braunschweig & Mengel 1971; Wild & al. 1969*].

4. ESTRAZIONE IN ELETTRO-ULTRAFILTRAZIONE (EUF)

Il metodo della Elettro-Ultrafiltrazione (EUF), proposto da K. Németh [*Németh 1979, 1982, 1985, 1988*], associa la tecnica della elettrodialisi [*Hesse 1971*] a quella della filtrazione su membrana sottile. (Figura 11)

Le specie ioniche presenti in una sospensione acquosa di suolo vengono trasferite, per effetto di un campo elettrico generato da una corrente continua, verso i rispettivi elettrodi. Una depressione applicata alle membrane che separano le semicelle anodica e catodica dal corpo centrale consente di filtrare la sospensione, raccogliendo di continuo gli eluati contenenti le forme anioniche e cationiche in soluzione. Di conseguenza, vengono alterati gli equilibri *pool labile* $\leftrightarrow$ frazioni solubili, e la matrice viene ininterrottamente sollecitata a reintegrare la concentrazione dei nutritivi in soluzione.

La tendenza alla reintegrazione e' inversamente dipendente dalla forza con la quale i nutritivi sono trattenuti dalla matrice, e puo' essere controllata regolando opportunamente le condizioni di estrazione.

Nella pratica vengono generalmente effettuate due serie consecutive di estrazioni (EUF-I, EUF-II) in differenti condizioni di temperatura, differenza di potenziale e intensita' di corrente (Figura 12):

- la prima serie, **EUF-I**, consiste di sei estrazioni ad intervalli di 5 minuti, a una temperatura di 20 °C, differenza di potenziale limitata a 200 V, intensita' di corrente limitata a 15 mA;
- nella seconda serie, EUF-II, i limiti di temperatura, differenza di potenziale e intensita' di corrente vengono innalzati, rispettivamente, a 80 °C, 400 V, 150 mA, mentre gli intervalli di estrazione restano fissati a 5 minuti.

Tale procedura apporta alcune sostanziali innovazioni in confronto ai metodi chimici. In questi ultimi,

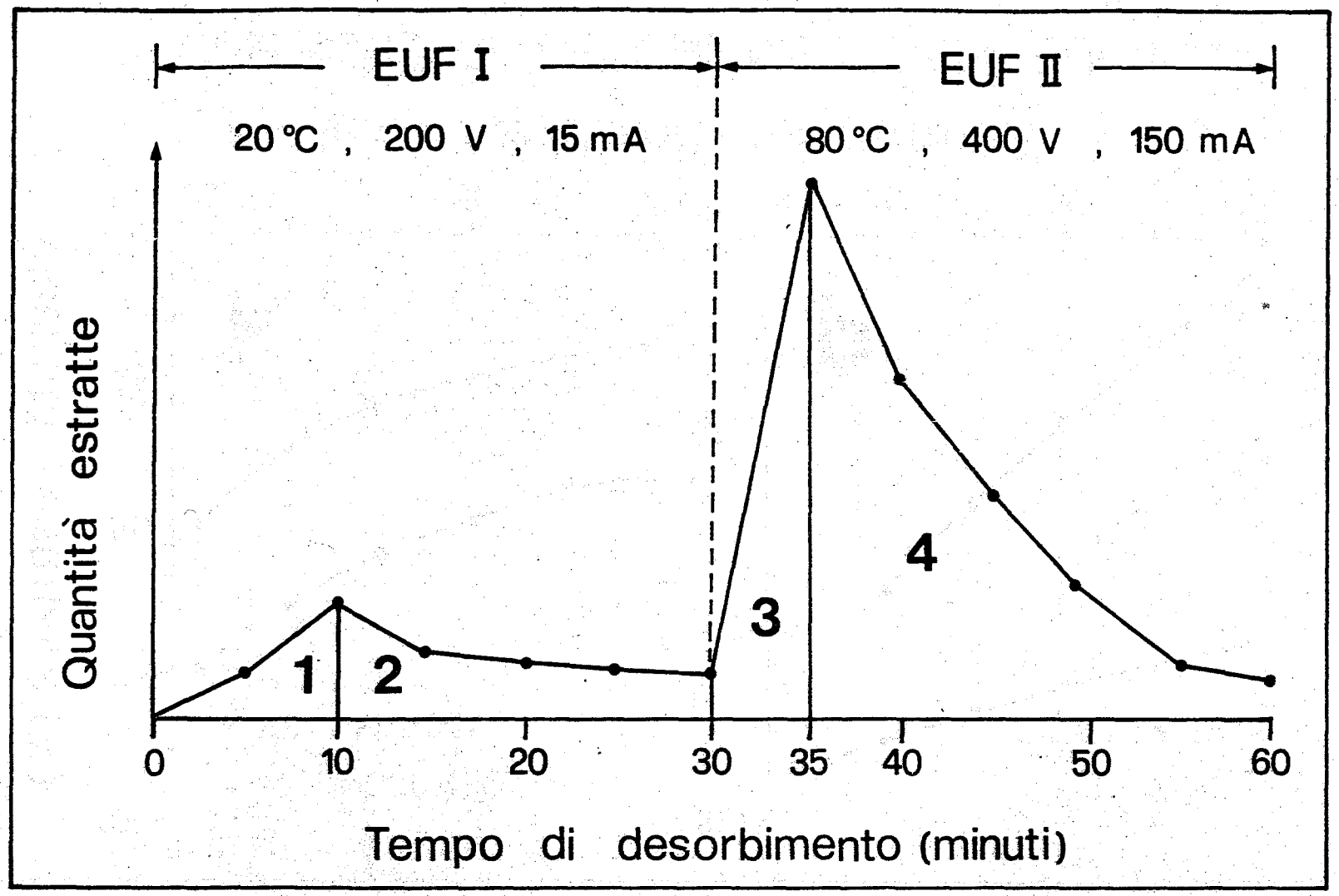


Figura I2. Diagramma di estrazione in EUF. I=frazioni solubili; 2= frazioni immediatamente disponibili; 3=frazioni di riserva disponibile; 4=frazioni di riserva a lento rilascio.

l'efficienza della estrazione e' condizionata sia dalla composizione del reattivo, sia dalle caratteristiche dei suoli. Nell'**EUF**, invece, l'impiego dell'acqua pura come veicolo estraente minimizza l'interferenza della matrice, e rende possibile il confronto tra determinazioni effettuate su suoli di differente natura.

Inoltre, l'efficienza dell'estrazione in **EUF** e' controllata essenzialmente da parametri termodinamici (differenza di potenziale elettrico, intensita' di corrente, temperatura). Questo consente di rimuovere il *pool* dei nutritivi in relazione alla forza con la quale sono trattenuti dalla matrice, e, quindi, di suddividere le quantita' estratte in frazioni a differenti livelli di disponibilita' per le colture.

Infatti, come schematizzato in Figura 12, un diagramma di estrazione in **EUF** puo' essere suddiviso in quattro settori, corrispondenti a quattro differenti frazioni successivamente rilasciate *[Buondonno & Nèmeth 1988-b, 1988-c; Buondonno & al. 1988-c; Nemeth 1982, 1985; Nèmeth & Makhdum 1981; Nemeth & al. 1988]*:

- 1: frazione solubile (**EUF-I** 0'-10');
- 2: frazione immediatamente disponibile (**EUF-I** 10'-30');
- 3: frazione di riserva disponibile (**EUF-II** 30'-35');
- 4: frazione di riserva a lento rilascio (**EUF-II** > 35').

In particolare, in riferimento al potassio, l'intensita' dei picchi di estrazione a 10' e a 35' risultano proporzionali, rispettivamente, al valore di equilibrio del fattore Intensita', *Io*-K, ed alla Capacita' Tampone, *BC*-K, delle riserve *[Sinclair 1982]*. Inoltre, dal confronto tra i valori di **EUF-K I** e quelli di **EUF-K II** e' possibile ottenere una stima significativa del contenuto di argille K-selettive del suolo *[Buondonno & Nèmeth 1988-a, 1988-b; Diez 1988; Nèmeth 1982; Rivillo & al. 1988; Venter 1985]*.

Ulteriori informazioni, di fondamentale importanza per lo studio della dinamica dei nutritivi, vengono fornite dallo studio delle isoterme di desorbimento in **EUF** *[Bufo & al. 1988-a, 1988-b; Buondonno & al. 1988-a, 1988-b; Diez &*

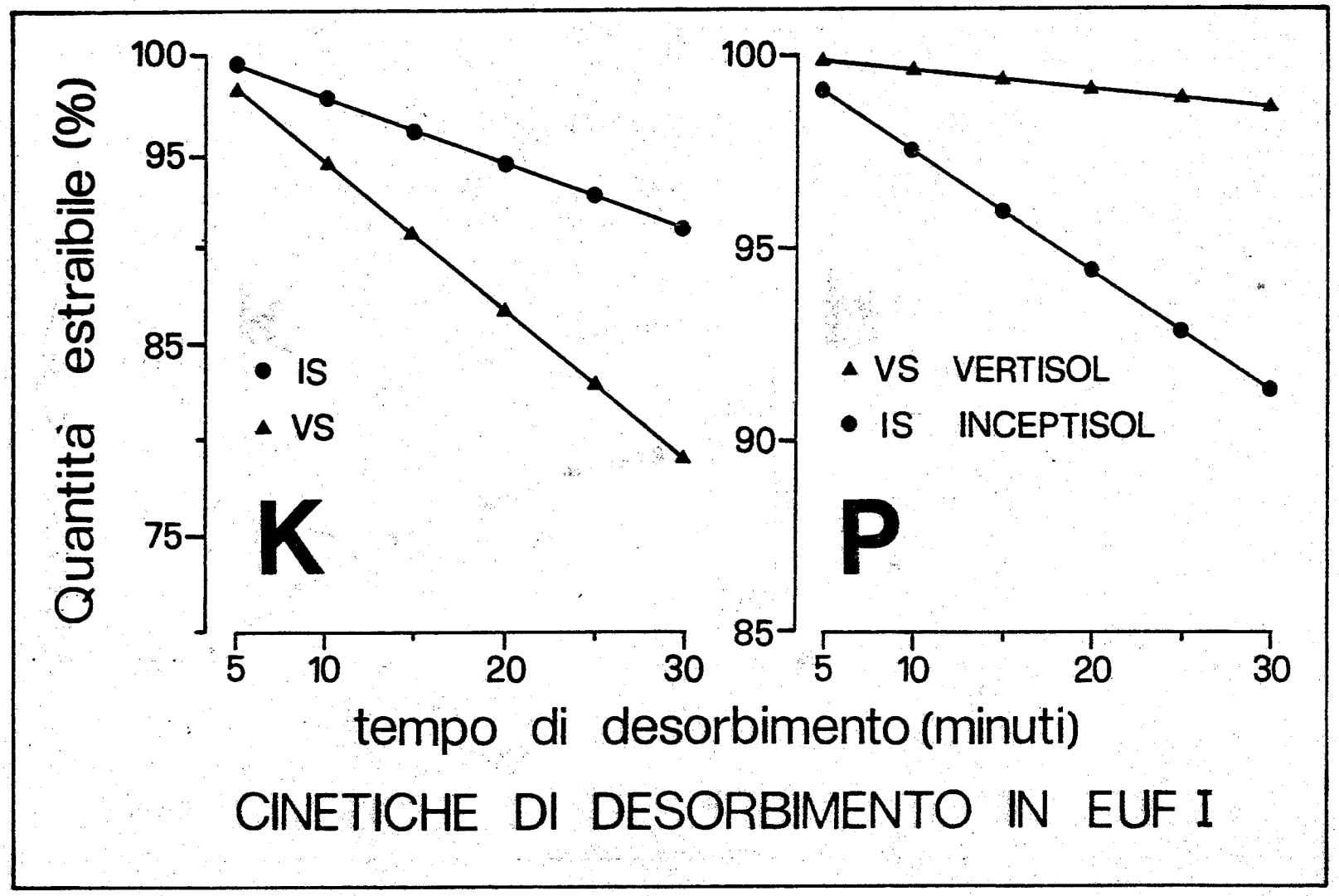

Quantità estraibile (%)
100
95
85
75
IS
VS
K
5
10
20
30
100
95
90
85
VS VERTISOL
IS INCEPTISOL
P
5
10
20
30
tempo di desorbimento (minuti)
CINETICHE DI DESORBIMENTO IN EUF I

Figura I3.

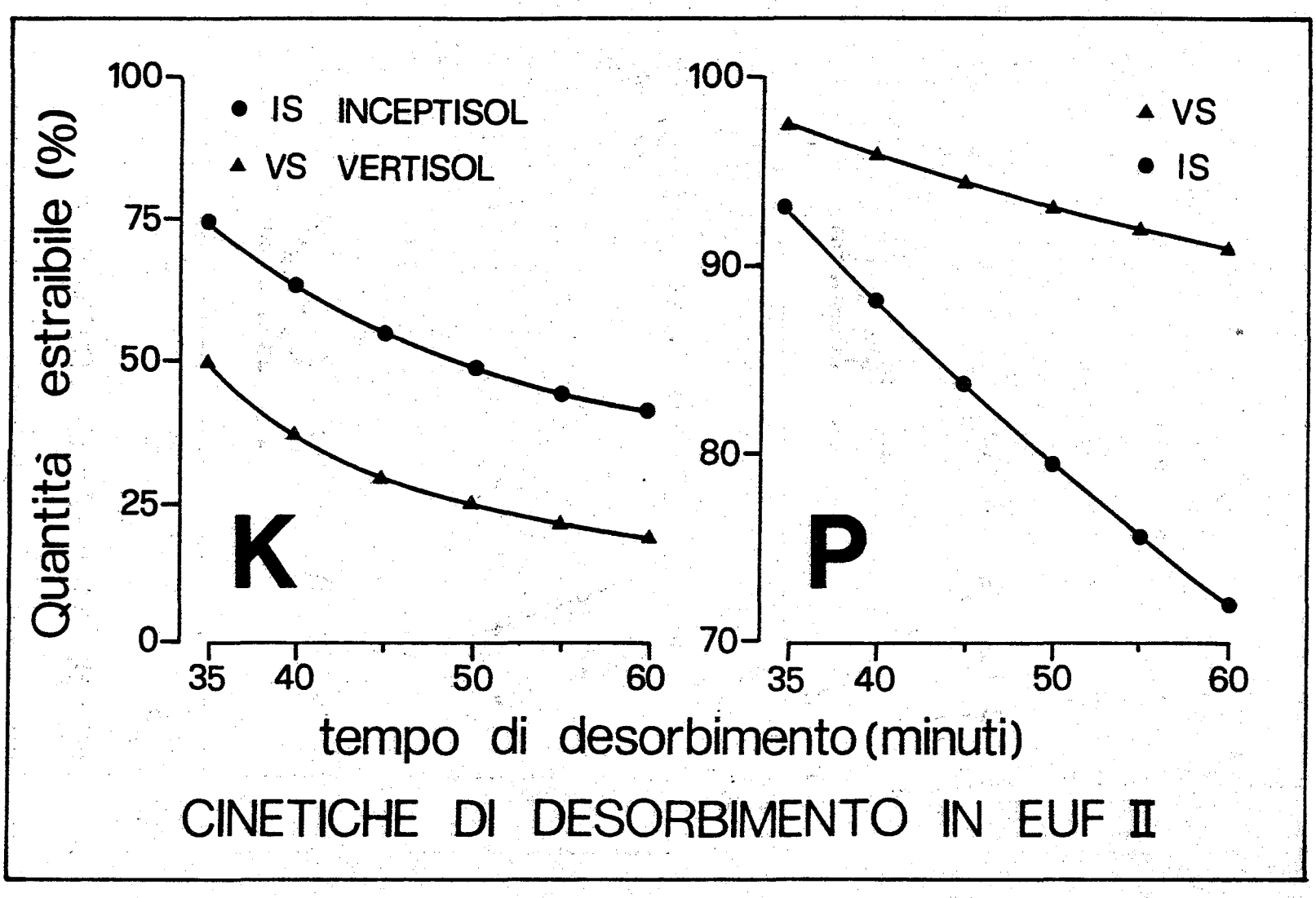

Quantità estraibile (%)
100
75
50
25
0
IS INCEPTISOL
VS VERTISOL
K
35
40
50
60
100
90
80
70
VS
IS
P
35
40
50
60
tempo di desorbimento (minuti)
CINETICHE DI DESORBIMENTO IN EUF II

Figura I4.

Pardo 1983; Garate & al. 1986; Grimme 1979, 1980, 1982; Grimme & Nèmeth 1979, 1982; Pizzigallo &al. 1988]. Generalmente, le reazioni di desorbimento in **EUF-I** seguono una cinetica di ordine 0, indicando che la velocita' di rilascio dei nutritivi e' costante nel tempo, e caratterizzano quindi l'immediata capacita' di reintegrazione della matrice (Figura 13).

Le reazioni di desorbimento in **EUF-II** sono caratterizzate, invece, da velocita' di rilascio decrescenti nel tempo, e consentono pertanto di valutare la variazione della capacita' tampone in funzione dell'esaurimento delle riserve (Figura 14). In particolare, e' stato osservato che la cinetica di desorbimento del potassio in **EUF-II** presenta strette analogie con la cinetica di assimilazione radicale di questo stesso elemento *[Mengel 1988].*

La tecnica della Elettro-Ultrafiltrazione, attualmente impiegata in oltre 30 Paesi *[VOGEL 1987]*, si e' notevolmente diffusa nell'ultimo decennio come metodo di analisi dei suoli sostitutivo dei tradizionali metodi di routine *[cfr. Proceedings 1st Euf-Symposium 1982; Proceedings 2nd EUF-Symposium 1985; Proceedings 3rd EUF-Symposium 1988].*

Numerosi Autori hanno accertato che le determinazioni delle frazioni disponibili di fosforo e di potassio effettuate in **EUF** sono altamente riproducibili *[Buondonno 1987; Buondonno & al. 1988-c; Nèmeth & Recke 1982; Sheehan 1985; Siman 1982;]*, e risultano significativamente correlate a quelle ottenibili secondo i metodi chimici piu' diffusi (Tabelle 3a e 3b).

Test di assimilazione e di produttivita' hanno inoltre dimostrato che le quantita' di fosforo e di potassio effettivamente assimilabili dalle colture sono confrontabili con quelle estraibili in **EUF**, con coefficienti di correlazione e livelli di significativita' generalmente piu' elevati di quelli osservati nel confronto con altri metodi (Tabella 4), e comprovano l'applicabilita' dell'**EUF** per la formulazione di piani di fertilizzazione calibrati secondo il reale fabbisogno delle specie vegetali.

Tabella 3a. Coefficienti di correlazione (R) calcolati per le regressioni lineari **Frazioni EUF-P** *vs.* P disponibile determinato secondo altri metodi

METODI	Frazioni EUF-P	R	*[Rif.]*
H_2O	I 0'-10'	.834**	*[62]*
Bray	I 0'-30'	.930***	*[56]*
Bray	I 0'-30' + II 30'-35'	.910***	*[56]*
CAL	I 0'-30' + II 30'-60'	.999***	*[76]*
Mehlich 3	II 30'-35'	.914***	*[62]*
Mehlich 3	I 0'-30' + II 30'-40'	.931***	*[19]*
Mehlich 3	I 0'-30' + II 30'-60'	.896***	*[62]*
Olsen	I 0'-30' + II 30'-60'	.804**	*[62]*
van der Paauw	I 0'-10'	.970***	*[59]*

Tabella 3b. Coefficienti di correlazione (R) calcolati per le regressioni lineari **Frazioni EUF-K** *vs.* K disponibile determinato secondo altri metodi

METODI	Frazioni EUF-K	R	*[Rif.]*
ARoK	I 0'-10'	.996***	*[93]*
ARoK	I 0'-30'	.808**	*[16]*
$CaCl_2$	I 0'-30' + II 30'-60'	.812**	*[16]*
HCl	I 0'-30' + II 30'-60'	.867***	*[16]*
Morgan	I 0'-30'	.840***	*[56]*
Mehlich 3	I 0'-30' + II 30'-40'	.966***	*[18]*
Mehlich 3	I 0'-30' + II 30'-60'	.952***	*[16]*
NH_4-Ac	I 0'-30'	.800**	*[56]*
NH_4-Ac	I 0'-30' + II 30'-40'	.966***	*[18]*
NH_4-Ac	I 0'-30' + II 30'-60'	.823**	*[16]*

Tabella 4. Coefficienti di correlazione (R) tra le quantita' di fosforo e di potassio assimilate da alcune colture e quelle estratte in EUF o con altri metodi.

FOSFORO

COLTURE	R EUF-P	R altri metodi		*[Rif.]*
Frumento	.800***	DL	.650*	*[42]*
Frumento	.940***	CAL	.710**	*[105]*
Segale	.977***	CAL	.972**	*[76]*

POTASSIO

COLTURE	R EUF-K	R altri metodi		*[Rif.]*
Riso	.519**	CaCl2	.509**	*[80]*
Segale	.779**	HCl	.545*	*[92]*
Segale	.770**	NH_4-Ac	.860***	*[93]*

4. CONCLUSIONI.

Le crescenti esigenze del settore agricolo di migliorare la resa e la qualita' delle colture, di ridurre i costi di gestione, di favorire la protezione delle risorse ambientali, sollecitano piani di intervento tesi a raggiungere e a mantenere costante nel tempo il potenziale produttivo del suolo.

Una delle strategie piu' idonee al conseguimento di tale scopo appare essere quella di apportare al suolo fertilizzanti in quantita' tali da garantire l'ottimale nutrizione delle piante con il concorso delle riserve di nutritivi gia' presenti sulla matrice in forme potenzialmente disponibili. Questo richiede, tra l'altro, l'impiego di metodologie analitiche che consentano di formulare una esauriente diagnosi dello stato di fertilita' del suolo, valutando la disponibilita' dei nutritivi sia in termini quantitativi che sotto l'aspetto dinamico.

I metodi di estrazione con reattivi chimici sono indubbiamente vantaggiosi, per la semplicita' e l'economia delle procedure. Per contro, forniscono solo informazioni di

carattere quantitativo, e non consentono di caratterizzare in dettaglio l'entita' e la mobilita' delle frazioni dei nutritivi a differente livello di disponibilita' per le colture. Inoltre, l'efficienza degli stessi reattivi estraenti puo' essere fortemente influenzata dalle caratteristiche chimiche e fisiche della matrice. Questo ne limita l'applicabilita', in quanto determina un'incongruenza tra misure effettuate con reattivi differenti e su suoli di diversa natura.

Le determinazioni del fattore Intensita', del fattore Quantita', della Capacita' tampone, offrono una piu' realistica valutazione degli aspetti quantitativi e dinamici della disponibilita' dei nutritivi, e consentono di stimare, con buona approssimazione, quanto dei fertilizzanti apportati al suolo potra' essere effettivamente utilizzato dalle piante. Questa metodologia, di notevole interesse anche per le ricerche di base, e' tuttavia poco applicata come analisi di routine, a causa della lunga durata e della complessita' delle procedure.

L'Elettro-Ultrafiltrazione sembra costituire una adeguata risoluzione di compromesso per soddisfare, unitamente, quei requisiti di applicabilita', semplicita' rapidita' e di affidabilita' delle misure , indispensabili per un metodo di routine. Con uno stesso ciclo di estrazioni e' infatti possibile valutare dettagliatamente il livello di disponibilita' della maggior parte dei macro- e dei micronutritivi, con un sostanziale risparmio di tempo e di reattivi.

Infine, pluriennali sperimentazioni condotte in Paesi Europei ed extra-Europei hanno evidenziato che i piani di fertilizzazione basati sulle misure ottenute secondo il metodo dell'EUF consentono di incrementare sensibilmente la resa e la qualita' delle colture e di ridurre, nel contempo, le spese di produzione, grazie ad un piu' equilibrato ed efficace impiego dei fertilizzanti [cfr. *Proceedings 1st Euf-Symposium 1982*; *Proceedings 2nd EUF-Symposium 1985*; *Proceedings 3rd EUF-Symposium 1988*].

BIBLIOGRAFIA

..*1* **Adams F.**: Ionic concentrations and activities in soil solutions. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35, 420-426 (1971).

..*2* **Åslyng H.C.**: Phospate potential and phosphate status of soils. *Acta Agr. Scand.* 14, 185-261 (1964).

..*3* **Beaufils E.R. and Sumner M.E.**: Application of the DRIS approach for calibrating soil and plant factors in their effects on yield of sugarcane. *Proc. A.S.T.A.*, 35-41 (1976).

..*4* **Beckett P.H.T.**: Studies on soil potassium. I. Confirmation of the ratio law: measurement of potassium potential. *J. Soil Sci.* 15, 1-8 (1964-*a*).

..*5* **Beckett P.H.T.**: Studies on soil potassium. II. The "immediate" Q/I relations of labile potassium in the soil. *J. Soil Sci.* 15, 9-23 (1964-*b*).

..*6* **Beckett P.H.T. and Nafady M.H.M**: Effect of K release and fixation on the ion-exchange properties of Illite. *Soil Sci.* 103, 410-416 (1967).

..*7* **Beringer H.**: Adequacy of soil testing for predicting fertlizer requirements. *Plant and Soil* 83, 21-38 (1985).

..*8* **Bohn H., Mc Neal B. and O' Connor G.**: Soil Chemistry. J. Wiley Ed., N.Y. (1979).

..*9* **Braunschweig L.C., von, and Mengel K.** : Effect of different parameters, characterizing the K status of soils, on the grain yield of oats. *Landw. Forsch.* 26/I, 65-72 (1971).

.*10* **Bray R.H. and Kurtz L.T.**: Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59, 39-45 (1945).

.*11* **Bufo S.A., Buondonno A. and Pizzigallo M.D.R.**: EUF-K desorption from Alfisol and volcanic Inceptisol as influenced by temperature and potassium additions. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 557-569 (1988-*a*).

.*12* **Bufo S.A., Pizzigallo M.D.R. e Padovano G.**: Cinetiche di desorbimento del K da minerali argillosi determinate tramite EUF. *Atti VI Conv. Naz. S.I.C.A.*, 111-112 (1988-*b*).

.*13* **Buondonno A.**: Applicazione della Elettro-Ultrafiltrazione (EUF) nella diagnosi di fertilita' dei suoli. I: riproducibilta' di alcune determinazioni di fosforo. *Atti Conv. Naz. "Fertilita' del Suolo e Nutrizione delle Piante" - S.I.S.S. S.I.C.A. - Sorrento 6-8 Maggio 1987* (in stampa).

.*14* **Buondonno A., Bufo S.A., Pizzigallo M.D.R. and Felleca D.**: Kinetics of phosphorus release from Italian Alfisol and volcanic Inceptisol as influenced by phosphate additons to soils and by temperature. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 512-524 (1988-*a*).

.15 **Buondonno A., Colombo C. e Violante A.**: Estrazione in Elettro-Ultrafiltrazione (EUF) di fosforo aggiunto a minerali argillosi e a complessi alluminio-argillo organici. *Atti VI Conv. Naz. S.I.C.A.*, 113-114 (1988-b).

.16 **Buondonno A., Felleca D., Bufo S.A., Pizzigallo M.D.R. and Testini C.**: Comparison between Electro-Ultrafiltration and extraction methods for the determination of K fractions in some soils of Southern Italy. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 19(3), 239-258 (1988-c).

.17 **Buondonno A. and Németh K.**: Use of trigonal diagrams for the evaluation of K-selective clay in soils by means of EUF-K values. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 543-556 (1988-a).

.18 **Buondonno A. and Németh K.**: EUF-K and K-selective clay content as related to some chemical and physical properties of German soils. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 570-591 (1988-b).

.19 **Buondonno A. e Németh K.** : Impiego della Elettro-Ultrafiltrazione e del reattivo di Mehlich 3 per la determinazione del fosforo disponibile. *Atti VI Conv. Naz. S.I.C.A.*, 115-117 (1988-c).

.20 **Chang S.C. and Jackson M.L.**: Soil phosphorus fractions in some representative soils. *J.Soil Sci.* 8, 109-119 (1958).

.21 **Chojnacki A.**: The evaluation of the nutritional status of oats by the DRIS method. *Proc. 6th Intern. Coll. A.I.O.N.P. - Montpellier 1984* - I, 139-148 (1985).
sampling and methods of analysis. 2nd ed., J.McKeague Ed., Ottawa (1978).

.23 **Diez J.A.**: Estimación del contenido en arcilla selectiva de K, mediante Electro-Ultrafiltratión. *Ann. Edafol. Agrobiol.* XLV 9/10, 1331-1343 (1986).

.24 **Diez J.A. and Pardo M.T.**: Relationships between adsorption and desorption of P in some volcanic soils. *Agrochimica* XXVII 2/3, 236-242 (1983).

.25 **Dyer B.**: On the analytical determination of probably available mineral plant food in soils. *J. Chem. Soc.* 23, 799-810 (1894).

.26 **Egner H.**: Recent contributions to chemical soil tests with particular regard to the lactate method. *Landw. Forsch.* 6, 28-32 (1955).

.27 **Emerson W.W., Foster R.C. and Oades J.M.**: "Organo-mineral complexes in relation to soil aggregation and structure". In: *Interaction of soil minerals with natural organic and microbes*, P.M. Huang & M. Schnitzer Eds., Soil Sci. Soc. Am. special. publication n. 17, Madison, 521-548 (1984).

.28 **Garate A., Cuesta R.M. and Garcia Solana M.J.**: Phosphorus dynamics in a calcareous soil. I: study of two rythms of P addition over the clay by means

Electro-ultrafiltration. *Ann. Edafol. Agrobiol.* XLV 7/8, 1013-1022 (1986).

.29 **Goulding K.W.T.**: Thermodynamics and potassium exchange in soils and clay minerals. *Adv. Agron.* 36, 215-260 (1983).

.30 **Grant W.T. and Hipp W.H.** : "Soil factor affecting potassium availability". In: *The role of potassium in agriculture*, V.J. Kilmer, S.E. Younts & N.C. Brady Eds., A.S.A. - C.S.S.A. - S.S.S.A., Madison W., 269-291 (1968).

.31 **Grimme H.**: The use of rate equations for a quantitative description of K desorption in an external electric field (Electro-ultrafiltration). *Z. PflErnaehr Bodenkd.* 142, 57-68 (1979).

.32 **Grimme H.**: The effect of field stregth on the quantity of K desorbed from soils by electro-ultrafiltration. *Z. PflErnaehr Bodenkd.* 143, 98-105 (1980).

.33 **Grimme H.**: K desorption in an external electric field as related to clay content. *Plant and Soil* 64, 49-54 (1982).

.34 **Grimme H. and Nèmeth K.**: Ion desorption in an electric field (Electro-ultrafiltration. EUF) as a mean for evaluating the potassium supplying power of soils . *Proc. Int. Workshop "Role of K in Crop Production" - Cairo 1979* A.Saurat & M.M. El-Fouly Eds., Cairo, 49-60 (1979).

.35 **Grimme H. and Nèmeth K.**: The effect of P source on P desorption by electro-ultrafiltration (EUF) on two different soils. *Plant and Soil* 64, 43-48 (1982).

.36 **Haynes R.J.**: Lime and phosphate in the soil-plant system. *Adv. Agron.* 37, 249-314 (1984).

.37 **Hendrix G.E.** : Effect of pH on the uptake and accumulation of phosphate and sulfate ions by bean plants. *Amer. J. Bot.* 54, 560-564 (1967).

.38 **Hesse P.R.**: A textbook of soil chemical analysis. J. Murray Ed., W. Clowes & Sons Ltd., London (1971).

.39 **Holford I.C.R.**: Effects pf phosphate buffer capacity of soil on the phosphate requirements of plants. *Plant and Soil* 45, 433-444 (1976).

.40 **Hsu P.H.**: Adsorption of phosphate by aluminum and iron in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 28, 474-478 (1964).

.41 **Jackson M.L.**: Soil chemical analysis. Prentice-Hall Inc. Ed., Englewood Cliffs, (1958).

.42 **Judel G.K., Gebauer W.G. and Mengel K.**: Yield response and availability of various phosphate fertilizer types as estimated by EUF. *Plant and Soil* 83, 107-115 (1985).

.43 **Khasawneh F.E.**: Solution ion activity and plant growth. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35, 426-436 (1971).

.44 **Larsen S.**: The use of ^{32}P in studies on the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 4, 1-10 (1952).

.45 **Larsen S.**: Soil phosphorus. *Adv. in Agron.* 19, 131-206 (1967).

.46 **Marshall C.E.**: The physical chemistry and mineralogy of soils - Vol. II: soils in place. J. Wiley & Sons Ed., New York (1977).

.47 **Mattingly G.E.G. and Talibudeen O.**: "Progress in the chemistry of fertilizer and soil phosphorus". In : *Topics in phosphorus chemistry*, M. Grayson & E.G. Griffith Eds., London, IV, 157-290 (1967).

.48 **Mehlich A.**: Soil test extractant: a modification of the Mehlich 2 extractant. *Comm Soil Sci. Plant Anal.* 15, 1409-1416 (1984).

.49 **Mengel K.**: Factors of plant nutrient availability relevant to soil testing. *Plant and Soil* 64, 129-138 (1982).

.50 **Mengel K.**: Wissenschaftliche Grundlagen der EUF-Kalium- und Calcium- untersuchung und entsprechende Empfehlungen. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - I, 404-427 (1988).

.51 **Mengel K. and Kirby E.A.**: Principles of Plant Nutrition. 4th edition, International Potash Institute Ed., Bern (1982).

.52 **Mengel K. and von Braunschweig L.C.**: The effect of soil moisture upon the availability of potassium and its influence on the growth of young maize plant (*Zea Mais* L.). *Soil Sci.* 134, 142-148 (1972).

.53 **Merwin H.D. and Peech M.**: Exchangeability of soils potassium in the sand, silt, and clay fractions as influenced by the nature of the complementary exchangeable cation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 15, 125-128 (1950).

.54 **Moss P. and Beckett P.H.T.**: Sources of error in the determination of soil potassium activity ratios by the Q/I procedures. *J. Soil Sci.* 22, 514-536 (1971).

.55 **Nair P.K.R. and Grimme H.**: Q/I relations and Electro - ultrafiltration of soils as measures of potassium availability to plants. *Z. PflErnaehr Bodenkd.* 142, 87-94 (1979).

.56 **Natesan S., Ranganathan V., Nèmeth K. and Krishnan V.**: EUF-anlysis of tea soils of Southern India and tea productivity. *Plant and Soil* 83, 191-198 (1985).

.57 **Nèmeth K.**: The effect of K fertilization and K removal by rye-grass in pot experiments on the K concentration of the soil solution of various soils. *Plant and Soil* 42, 97-107 (1975).

.58 **Nèmeth K.**: The availability of nutrients in the soil as determined by Electro-ultrafiltration (EUF). *Adv. Agron.* 31, 155-187 (1979).

.59 **Nèmeth K.** : Electro-ultrafiltration af aqueous soil suspension with simultaneously varying temperature and

voltage. *Plant and Soil* 64, 7-23 (1982).

.60 **Németh K.**: Recent advances in EUF research (1980-1983). *Plant and Soil* 83, 1-19 (1985).

.61 **Németh K.** : Wissenschaftliche Grundlagen der EUF-Phosphor- Bestimmung und -Phosphor-Düngeempfehlung. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - I, 47-70 (1988).

.62 **Németh K., Buondonno A. and Mentasti G.**: Relationships between EUF-P, chemical P extractions and some properties of typical soils of Southern Italy. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 525-542 (1988).

.63 **Németh K. and Makhdum M.I.**: Evaluation of the nutrients dynamics in calcareous soils from Pakistan by Electro - ultrafiltration. *Soil Sci. Pl. Nutr.* 27, 159-168 (1981).

.64 **Németh and Recke H.**: Reproducibility of Ca, K, Na, and P contents in the different EUF fractions. *Plant and Soil* 64, 25-33 (1982).

.65 **Neubauer H. and Schneider W.**: The nutrient uptake of seedlings and its application for the estimation of the nutrient content in soils. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.* A2, 329-362 (1923).

.66 **Nielsen N.E. and Sörensen C.B.**: Macro nutrient cation uptake by plants. I: rate-determining steps in net inflow into intact and decapitated sunflower plant and intensity factors of cations in soil solution. *Plant and Soil* 77, 337-346 (1984).

.67 **Nye P.H.**: The effect of the nutrient intensity and buffering power of a soil, and the absorbing power, size and root hairs of a root, on nutrient absorption by diffusion. *Plant and Soil* 25, 81-105 (1966).

.68 **Nye P.H.**: The rate limiting step in plant nutrient adsorption from the soil. *Soil Sci.* 123, 292-297 (1977).

.69 **Nye P.H. and Tinker P.B.**: Solute movement in the soil - root system. (Studies in ecology; vol. 4). Blackwell Scientific Publications, Oxford (1977).

.70 **Olsen S.R., Cole C.B., Watanabe F.S. and Dean C.A.**: Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *U.S.D.A. Cir.* 939, 19 (1954).

.71 **Olsen S.R. and Watanabe F.S.** : Diffusive supply of phosphorus in relation to soil texture variations. *Soil Sci.* 110, 318-327 (1970).

.72 **Page M.B. and Talibudeen O.**: Critical crop potential for crops. I: the effect of soil type on the growth of rye-grass and creping red fescue. *J. Soil Sci.* 33, 329-347 (1982-a).

.73 **Page M.B. and Talibudeen O.**: Critical crop potential for crops. II: potential for wheat, maize, peas, beans and sugar beet in their early growth on a sandy loam. *J.*

Soil Sci. 33, 771-778 (1982-b).

.74 **Paauw F., van der,**: Development and evaluation of a new water extraction technique for the determination of available phosphate. *Landw. Forsch.* 23/II, 102-109 (1969).

.75 **Pizzigallo M.D.R., Bufo S.A. e Buondonno A.**: Processi di desorbimento e diffusione ionica in Elettro-Ultra Filtrazione. *Atti VI Conv. Naz. S.I.C.A.*, 185-186 (1988).

.76 **Prabhakaran Nair K.P. and Mengel K.**: Importance of phosphate buffer power for phosphate uptake by rye. *Soil Sci Soc. Am. J.* 48, 92-95 (1984).

.77 **Proceedings 1st EUF-Symposium.** *Plant and Soil* 64, 5-138 (1982).

.78 **Proceedings 2nd EUF-Symposium.** *Plant and Soil* 83, 1-205 (1985).

.79 **Proceedings 3rd EUF-Symposium.** Süddeutsche Zucker-AG Ed. - Mannheim, I/II, 698 pp. (1988).

.80 **Ramanathan K.M. and Németh K.**: EUF-K as measure of K availability index for Tamil Nadu soils (India). *Plant and Soil* 64, 95-104 (1982).

.81 **Rex M., Harrach T. and Németh K.**: The influence of rooting density in the soil on P removal by cereals on soils with different yield potential. *Plant and Soil* 83, 127-132 (1985).

.82 **Rich C.I.**: "Mineralogy of soil potassium". In: *The role of potassium in agriculture*, V.J. Kilmer, S.E. Younts & N.C. Brady Eds., A.S.A.-C.S.S.A.-S.S.S.A., Madison W., 96-108 (1968).

.83 **Rich C.I.**: "Potassium in soil minerals". In: *Potassium in soil*, Int. Potash Institute Ed., Bern, 15-31 (1972).

.84 **Riehm H.**: The ammonium lactate acetic acid method for the determination of easily soluble phosphates in calcareous soils. *Agrochimica* 3, 49-65 (1959).

.85 **Rivillo A.D., Adams M. and Ordosgoite J.**: Potassium fraction of some Venezuelan soils by EUF with simultaneous variation of temperature and voltage. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988* - II, 592-599 (1988).

.86 **Sauchelli V.**: Phosphates in agriculture. Reinhold Publ. Corp. Ed., New York (1965).

.87 **Schofield R.K.**: Can a precise meaning be given to "available" soil phosphorus?. *Soils and Fertilizers* 28, 373-375 (1955).

.88 **Schroeder D.**: Soils - Facts and concepts. Int. Potash Institute Ed., Bern. (1984).

.89 **Schüller H., Reichard T.H. und Németh K.**: Beziehungen zwischen P-Düngung, Ertrag, P-Endzung und Methoden der

Bodenuntersuchung. *Landw. Forsch.* 28, 147-157 (1975).

.90 **Sheehan M.P.**: Experiments on the reproducibility of results EUF soil extracts wiht possible improvements resulting from these experiments. *Plant and Soil* 83, 85-92 (1985).

.91 **Simån G.**: Test of the electro-ultrafiltration method's applicability in soil analysis. Reproducibility of the method. *Plant and Soil* 64, 35-42 (1982).

.92 **Simonis A.D. and Németh K.**: Comparative study on EUF and other methods of soil analysis for the determination of available potassium in soils from Northern Greece. *Plant and Soil* 83, 93-106 (1985).

.93 **Sinclair A.H.**: A comparison of electro-ultrafiltration and Quantity/Intensity measurements of soil potassium with its uptake by ryegrass in Scottish soils. *Plant and Soil* 64, 85-94 (1982).

.94 **SISS - Societa' Italiana della Scienza del Suolo -** : Metodi normalizzati di analisi del suolo. Edagricole Ed., Bologna (1985).

.95 **Talibudeen O.**: The nutrient potential of the soil. *Soils and Fertilizers* 37/3, 41-45 (1974).

.96 **Tinker P.B.**: Studies on soil potassium. III. Cation activity ratios in acid Nigerian soils. *J.Soil Sci.* 15, 24-34 (1964).

.97 **Truog E.**: The determination of the readily available phosphorus of soils. *J. Am. Soc. Agr.* 22, 879-890 (1930).

.98 **Venter G.C.H.**: The relationship between EUF-K and soil-K fractions of different K selectivity. *Plant and Soil* 83, 201-205 (1985).

.99 **VOGEL GmbH**: Electro-ultrafiltration (EUF): a new method of soil analysis. VOGEL GmbH Ed., Giessen (1987).

100 **White R.E. and Beckett P.H.T.**: Studies on the phospate potentials of soils. Part I: the measurement of phosphate potential. *Plant and Soil* XX 1, 1-16 (1964).

101 **Wild A., Rowell D.L. and Ogunfowora M.A.**: The activity ratio as a measure of the intensity factor in potassium supply to plants. *Soil Sci.* 108, 432-439 (1969).

102 **Williams E.G. and Knight A.H.** : Evaluation of soil phosphate status by pot experiments, conventional extraction methods and labile phosphate values estimated with the aid of phosphorus 32. *J. Sci. Fd. Agric.* 14, 555-563 (1963).

103 **Woodruff C.M.**: The energies of replacement of calcium by potassium in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 19, 167-171 (1955).

104 **Woodruff C.M. and McIntosh J.L.**: Testing soil for potassium. *Proc. 7th Int. Congr. Soil Sci.* 3, 80-85 (1960).

105 **Ziegler K. und Németh K.:** Beziehungen zwischen EUF-(CAL-) P- und -K-Gehalten sowie den P- bzw. K-Gehalten und den Kornerträgen von Winterweizen auf 10 fränkischen Standorten. *Proc. 3rd Int. EUF-Symposium - Mannheim 1988- I*, 255-272 (1988).

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA DI RISONANZA ELETTRONICA DI SPIN (ESR) ALLO STUDIO DELLE SOSTANZE UMICHE, DEI COMPLESSI UMO-METALLICI E DELLE INTERAZIONI UMO-ORGANICHE

NICOLA SENESI
Istituto di Chimica Agraria, Università di Bari, Via Amendola 165, BARI

RIASSUNTO

L'obiettivo principale di questo testo è di fornire una rassegna il più possibile aggiornata e completa delle applicazioni che la spettroscopia di risonanza elettronica di spin (ESR) ha trovato nei settori di ricerca relativi alle sostanze umiche del suolo, ai complessi umo-metallici e alle associazioni umo-organiche. Nella presentazione l'autore si riferisce soprattutto ai risultati degli studi condotti su queste tematiche dallo stesso e collaboratori, fornendo comunque ampie citazioni bibliografiche dei lavori svolti da altri autori. Dopo una breve introduzione, sono concisamente presentati i principi fisici basilari, la strumentazione e l'approccio metodologico fondamentale della tecnica ESR. Nella sezione successiva sono trattati nei loro aspetti più significativi i risultati e le informazioni ottenibili dall'analisi ESR sulla natura e concentrazione delle specie radicaliche presenti nelle sostanze umiche, sul loro comportamento in funzione di vari fattori fisici e chimici e sulle implicazioni di carattere strutturale che ne derivano. Sono quindi presentati e discussi i risultati di studi sulla elucidazione dei meccanismi di legame posti in atto nelle interazioni tra sostanze umiche e pesticidi e delle forme chimiche di associazione nei complessi umo-metallici. La rassegna si chiude con alcuni suggerimenti e raccomandazioni sulle possibili estensioni e future applicazioni della spettroscopia ESR nella chimica delle sostanze umiche e delle loro interazioni con i metalli e i pesticidi.

SUMMARY

The main objective of this paper is to review the applications of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in the chemistry of humic substances and their interactions with pesticides and paramagnetic metal ions. Results of studies and researchs by the author and coworkers are prevalently considered, while an extended bibliography is furnished on works by other authors on the subject. After a short introduction, basic physical principles of ESR spectroscopy, instrumentation and fundamental methodology of the ESR technique are briefly presented.

Successively, most representative results and information obtained by ESR analysis on the nature and concentration of humic free radicals, on their properties and behaviour toward various physical and chemical factors and on structural implications are discussed. In the following two sections, ESR results and information are discussed on binding mechanisms occurring between interacting humic substances and pesticides and on chemical and geometrical forms of association in metal-humic complexes. Finally, some reccomendations are suggested on possible extensions and future applications of ESR spectroscopy in the chemistry of humic substances and of their interactions with metals and pesticides.

1. INTRODUZIONE

Tra le più importanti caratteristiche chimico-strutturali e funzionali delle sostanze umiche (SU) del suolo e di materiali umo-simili di varia natura e origine sono da ritenersi la presenza di radicali liberi organici indigeni e la elevata attitudine metallo-complessante. Le suddette proprietà rivestono, a loro volta, un ruolo fondamentale in un gran numero di funzioni svolte dalle SU nel suolo e nei comparti ambientali ad esso limitrofi. E' ben noto infatti che i radicali liberi umici sono direttamente e/o indirettamente coinvolti nei processi di polimerizzazione-depolimerizzazione e in generale nei fenomeni di umificazione della sostanza organica nel terreno, nelle interazioni di natura chimica e biochimica con composti organici xenobiotici quali i pesticidi, nelle attività fotochimiche, enzimatiche e fisiologiche dell'humus, etc. D'altro canto, l'attività complessante esercitata dalle SU nei confronti di varie specie metalliche ne influenza sensibilmente la distribuzione e la speciazione nel sistema fasi solide-fase liquida del suolo, regolandone i fenomeni di mobilizzazione-immobilizzazione, trasporto, migrazione e accumulo, biodisponibilità, etc.

Poichè sia i radicali liberi organici che la gran parte degli ioni metallici di transizione sono caratterizzati dalla presenza di uno o più elettroni spaiati, cioè sono paramagnetici, tale loro proprietà li rende suscettibili di misura e studio tramite la spettrometria di risonanza elettronica di spin (ESR), o paramagnetica (EPR), che sono sinonimi. L'applicazione di tale tecnica consente pertanto di ottenere tutta una serie di informazioni analitiche, chimico-strutturali e funzionali, in grado di ampliare le conoscenze sulla natura e sul comportamento delle SU e dei complessi umo-metallici nel suolo e nell'ambiente globale.

Scopo del presente scritto è quello di fornire una rassegna aggiornata, anche se riassuntiva e principalmente limitata ai lavori dell'autore e collaboratori per ragioni di spazio, sui principi e sulle metodologie di base della spettroscopia ESR, sui più significativi risultati ottenuti dall'applicazione di tale tecnica e sul significato che essi assumono nello studio delle SU del suolo, nonchè di suggerire alcune possibili e promettenti applicazioni della spettroscopia ESR in vari settori di studio sulle sostanze umiche.

2. PRINCIPI, STRUMENTAZIONE E METODOLOGIA DELLA SPETTROSCOPIA ESR

In questa sezione sono riassunti molto brevemente i principi, la strumentazione e la metodologia relativi alla spettroscopia ESR, mentre per una trattazione completa e dettagliata degli argomenti si rimanda a testi specifici (Wertz and Bolton, 1972; Swartz et al., 1972; Carrington and McLachlan, 1967; Abragam and Bleaney, 1970).

2.1. Principi Fisici di Base

La spettroscopia ESR si basa sulla misura dell'assorbimento di energia che risulta dall'interazione di specie paramagnetiche, cioè contenenti un dipolo magnetico rappresentato dall'elettrone, con la componente magnetica oscillante della radiazione elettromagnetica nel campo delle basse frequenze e alte lunghezze d'onda (microonde).

Il fenomeno fisico basilare della spettroscopia ESR risiede nell'effetto Zeeman che comporta l'interazione tra lo spin di un elettrone spaiato con un campo magnetico esterno oscillante. Allorchè un campo magnetico statico di forza H (in Gauss) è applicato parallelamente all'asse z, usato per convenzione come asse di riferimento, gli stati di spin per l'elettrone risulteranno energeticamente non equivalenti (Fig.1). Pertanto, in tali condizioni transizioni tra i due stati di spin, dal livello inferiore al livello superiore, possono essere indotte da una radiazione elettromagnetica incidente, ottenuta ad esempio applicando un campo magnetico alternante di frequenza ν perpendicolarmente al campo magnetico statico H_o, allorchè si verifichi la "condizione di risonanza" data dalla relazione:

$$h\nu = \Delta E = g\beta H_o \qquad (1)$$

dove h è la costante di Plank, β il magnetone di Bohr e g il fattore di "splitting" spettroscopico o rapporto magnetogirico, detto anche semplicemente fattore-g. Allorchè tale condizione di risonanza si verifichi, ci sarà un netto assorbimento di energia dal campo magnetico alternante grazie alla maggiore popolazione elettronica esistente nel livello energetico inferiore rispetto al superiore, che è mantenuta nel sistema grazie al fenomeno di rilassamento spin-reticolo (spin-lattice relaxation). La misura di tale assorbimento di energia rappresenta quindi la base della spettroscopia ESR.

2.2. Strumentazione

Lo schema di base di un comune spettrometro ESR operante in banda-X (regione delle microonde dello spettro elettromagnetico, tipica frequenza intorno a 9.5 GHz) è rappresentato in Fig. 2. In pratica, la frequenza del campo magnetico alternante si mantiene fissa, mentre il campo magnetico statico si fa variare lentamente attraverso la condizione di risonanza data dalla equazione (1).

Il campione da esaminare è posto in una camera detta "cavità a microonde" e irradiato con microonde la cui frequenza è mantenuta rigoro

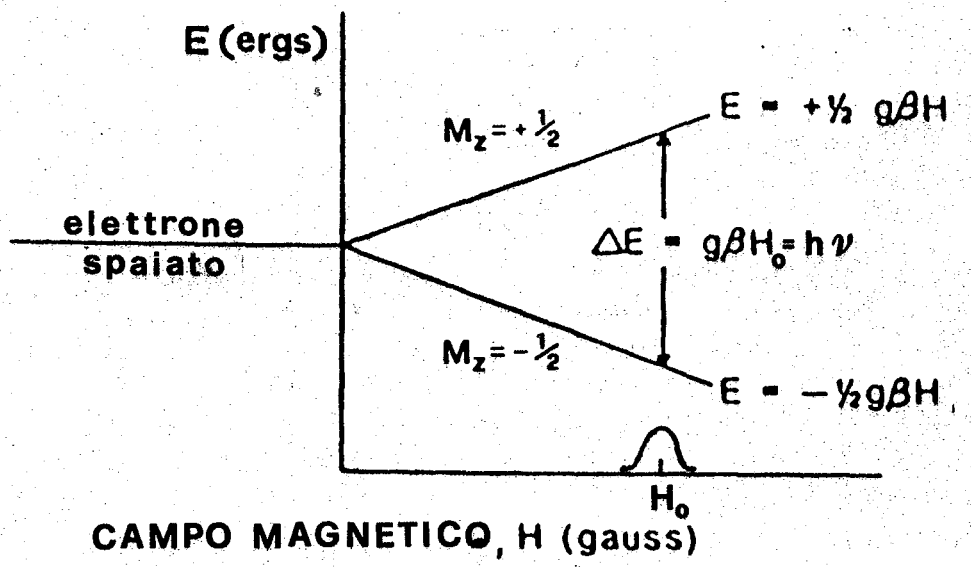


FIGURA 1. Effetto del campo magnetico applicato (H) sui livelli energetici (E) dei due stati di spin dell'elettrone e relativa transizione ESR allorchè: $\nu = g\ \beta\ H_o/h$.

samente costante da un oscillatore detto "klystron", che rappresenta la fonte del campo di radiazione alternante. Il klystron è accoppiato per mezzo di una guida d'onda alla cavità risonante in cui si trova il campione ed è bloccato elettronicamente alla frequenza di risonanza. Un circolatore, localizzato tra il klystron e la cavità, assicura il trasferimento ottimale dell'energia delle microonde dal klystron alla cavità e dalla cavità al misuratore. Lo spettrometro deve operare in condizioni tali che la cavità risulti "accoppiata" criticamente", cioè tutte le microonde incidenti siano da essa assorbite.

Il campo magnetico applicato, generato da un elettromagnete che fiancheggia la cavità a microonde, viene fatto variare linearmente attraverso le condizioni di risonanza a una velocità opportuna.

Allorchè si ha la risonanza, l'assorbimento di energia di microonde da parte del campione provoca una variazione dell'effettivo accoppiamento della cavità alla guida d'onda e quindi della quantità di energia di microonde riflessa dalla stessa cavità e misurata dal "detector". Il segnale finale di uscita dal sistema "detector-amplificatore" è modulato e consiste comunemente nella derivata-prima dell'assorbimento, la quale viene registrata su carta in funzione della variazione del campo magnetico esterno applicato (Fig. 3).

In definitiva, l'osservazione del segnale di risonanza richiede come condizione necessaria un netto assorbimento di energia che si ha solo per specie chimiche contenenti elettroni spaiati, cioè radicali li

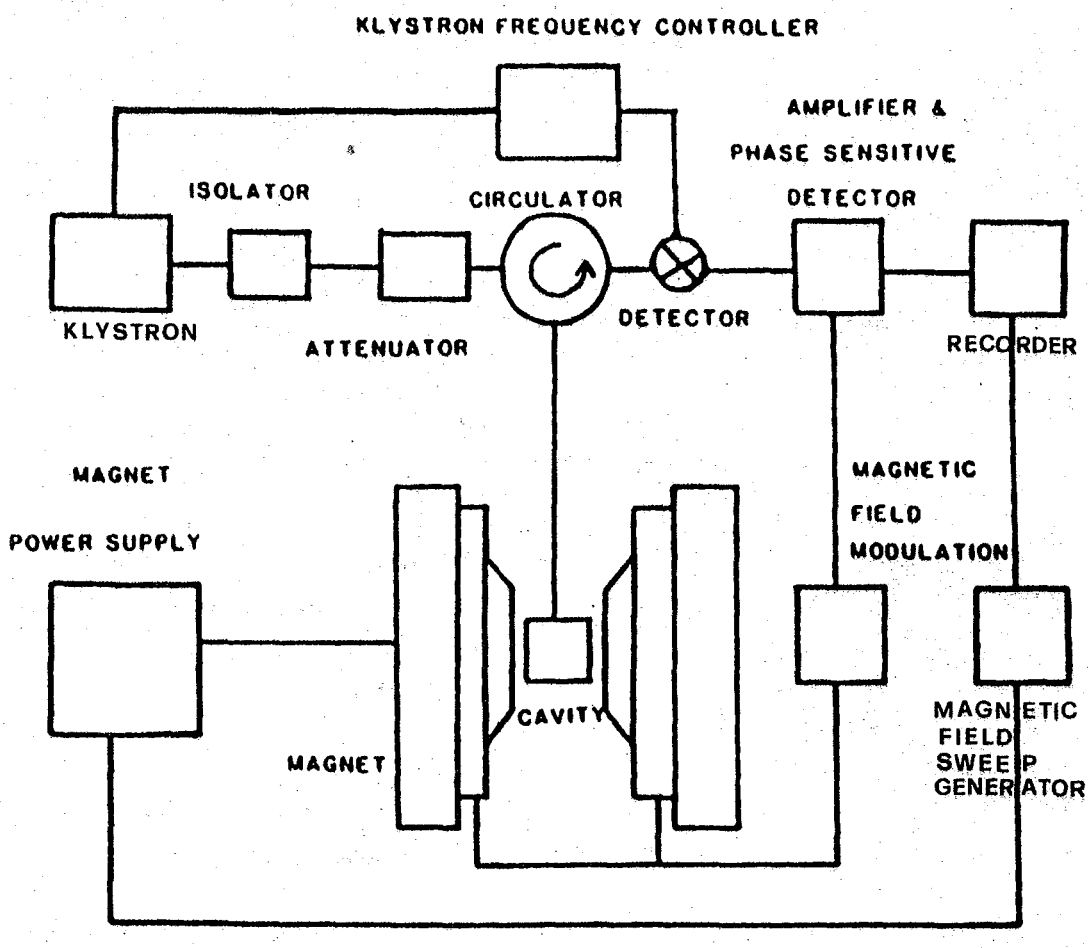


FIGURA 2. Schema di base di uno spettrometro ESR.

beri o elementi di transizione paramagnetici quali rame, ferro, manganese, vanadio, molibdeno, etc.

2.3. Metodologia

Il campo magnetico effettivo (H_{eff}) subito dall'elettrone può essere espresso come la risultante di due termini: il campo magnetico applicato (H_{appl}) generato dal magnete dello spettrometro e le perturbazioni locali del campo (H_{loc}) determinate dalle condizioni all'intorno dell'elettrone spaiato:

$$H_{eff} = H_{appl} + H_{loc} \qquad (2)$$

Sarà pertanto il valore di H_{eff} a determinare la separazione dei livelli Zeeman di energia, per cui il valore del campo magnetico H_o nella condizione di risonanza sarà determinato dalle condizioni dell'intorno dell'elettrone spaiato. Ciò naturalmente influenza e la posizione del se

gnale ESR e il tracciato dello spettro che spesso risulta più complesso di quello mostrato in Fig. 3 e dalla cui analisi si possono ottenere importanti informazioni sulla struttura geometrica e molecolare del sistema allo studio.

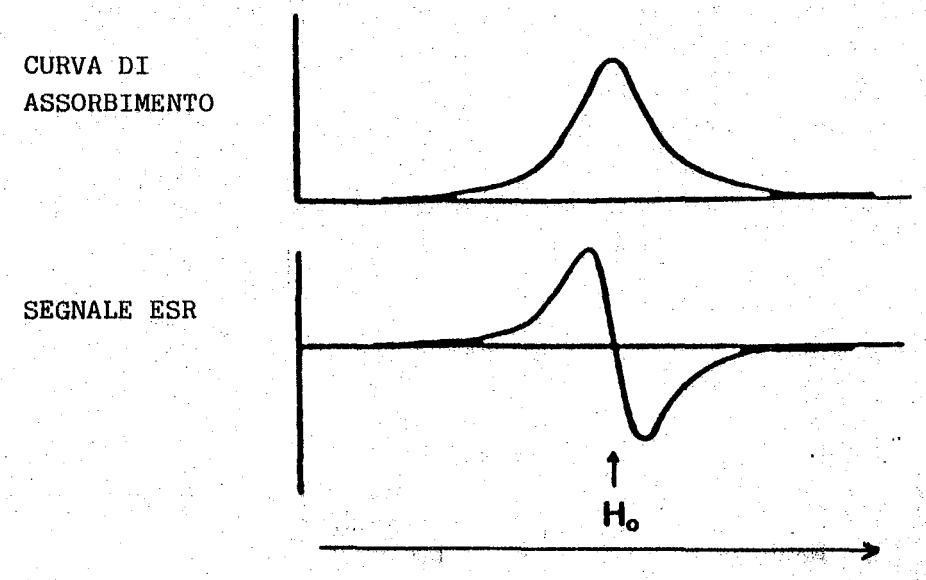


FIGURA 3. Assorbimento di energia di microonde (costante) in funzione di un campo magnetico esterno applicato, H (variabile).
Sopra: curva di assorbimento
Sotto: segnale ESR misurato come derivata prima della curva di assorbimento.

Per ottenere tali informazioni, una volta ottenuto lo spettro ESR, è necessario rappresentarlo matematicamente attraverso un operatore quanto-meccanico detto "Spin Hamiltoniano", che comprende un certo numero di termini contenenti alcuni parametri i cui valori sono correlati a caratteristiche chimico-strutturali e geometriche del campione, quali la natura del radicale libero, la specie metallica e il suo stato di ossidazione, il tipo di legame e la simmetria del sito di coordinazione, etc. Un esempio di Spin Hamiltoniano valido per l'applicazione a ioni mononucleari rame (II) è brevemente illustrato nello schema di Fig. 4.

La determinazione accurata dei parametri dello Spin Hamiltoniano prevede una serie ripetuta di comparazioni tra lo spettro sperimentale e spettri simulati al computer, approssimati in successione sulla base di valori tentativi attribuiti ai parametri in questione, finchè non si raggiunga un accordo soddisfacente tra lo spettro sperimentale e quello simulato.

FIGURA 4. Spin Hamiltoniano per ioni mononucleari rame (II)

Termini dello Spin Hamiltoniano contenenti parametri e operatori	Tipo di interazione corrispondente a ciascun termine in Hamiltoniano
$\hat{\mathcal{H}} = (g_x B_x \bar{S}_x + g_y B_y \bar{S}_y + g_z B_z \bar{S}_z)$	→ Interazione Zeeman dell'elettrone
$+(A_x \hat{S}_x \hat{I}_x + A_y \hat{S}_y \hat{I}_y + A_z \hat{S}_z \hat{I}_z)$	→ Interazione nucleare iperfine
$+ \Sigma_i (A_{ix} \hat{S}_x \hat{I}_{ix} + A_{iy} \hat{S}_y \hat{I}_{iy} + A_{iz} \hat{S}_z \hat{I}_{iz})$	→ Interazione superiperfine ligando
$+ P_{\parallel} \left\{ [\hat{I}_z^2 - 1/3\ I(I+1)] + 1/3(\hat{I}_x^2 - \hat{I}_y^2) \right\}$	→ Interazione "nucleare quadrupolo"
$+ \beta (g^I_x B_x \hat{I}_x + g^I_y B_y \hat{I}_y + g^I_z B_z \hat{I}_z)$	→ Interazione Zeeman nucleare

S_x, S_y e S_z rappresentano gli operatori dello spin elettronico;

I_x, I_y e I_z rappresentano gli operatori dello spin nucleare;

I_{ix}, I_{iy} e I_{iz} rappresentano gli operatori di spin nucleare dei ligandi;

B_x, B_y e B_z sono le componenti del flusso B del campo magnetico applicato.

Le componenti delle matrici g, A, g^I e A_i e il tensore P rappresentano i parametri dello Spin Hamiltoniano che determinano le proprietà magnetiche dello ione.

Note esplicative dello Spin Hamiltoniano in Fig. 4.

L'interazione Zeeman dell'elettrone (1° termine) deriva dalle interazioni dell'elettrone spaiato con il campo magnetico esterno.
L'interazione nucleare iperfine (2° termine) deriva dall'interazione tra l'elettrone spaiato con il suo nucleo. Solo nuclei che hanno spin diverso da zero ($I \neq 0$) presentano questo tipo di interazione (es., Cu, Mn, V). A questo proposito, in Fig. 5 è mostrato lo "splitting" nelle quattro componenti iperfini (2I+1) per lo ione rame(II). "A" rappresenta il valore dell'interazione iperfine nucleare ed è detta "costante di accoppiamento iperfine".
L'interazione superiperfine col ligando (3° termine) deriva dall'interazione dell'elettrone spaiato con i nuclei degli atomi dei ligandi. Nel caso, ad esempio, dell'^{14}N, che ha uno spin nucleare, I=1, ciascuna linea iperfine sarà risolta in tre componenti pressocchè equidistanti e di uguale intensità. Nel caso di radicali liberi organici, l'interazione di un elettrone spaiato con un atomo di idrogeno adiacente (I=1/2) darà luogo a uno spettro a due linee.

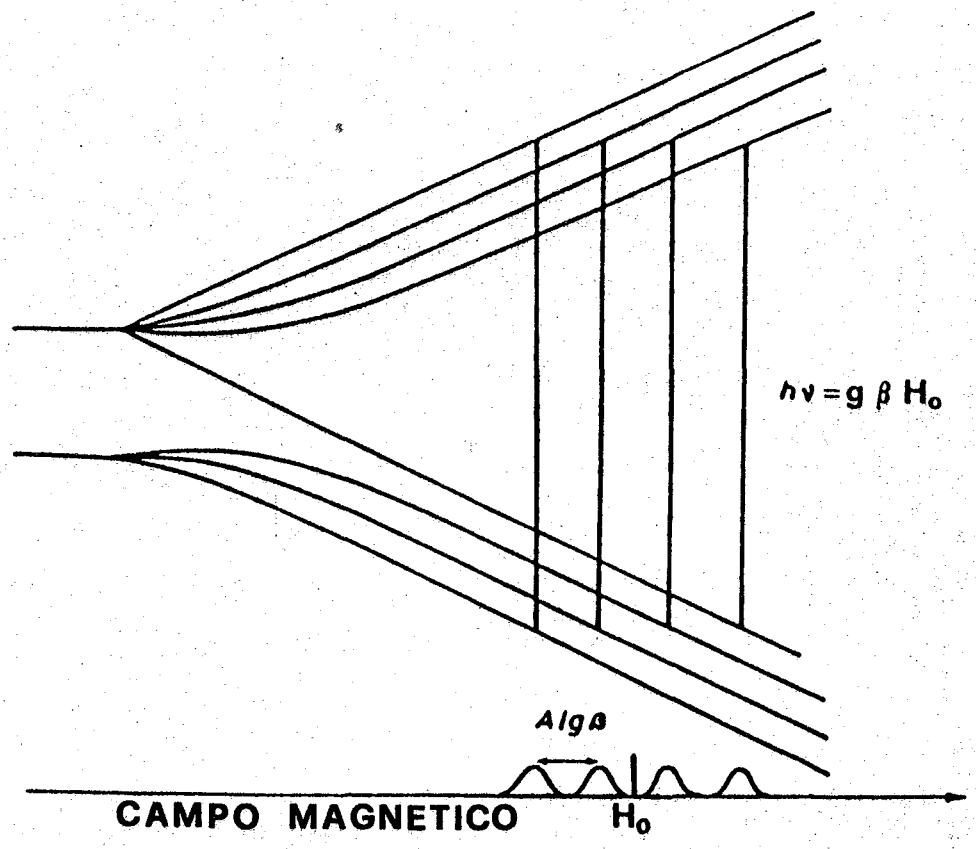


FIGURA 5. Transizione ESR di uno ione con S=1/2 (spin elettronico) e 1=3/2 (spin nucleare). Un esempio di ioni di questo tipo è lo ione rameico, Cu(II).
Lo "splitting" iperfine è dato da: $A/g\beta$.
La costante di accoppiamento iperfine è data da "A".

In pratica, tale laboriosa, seppur accurata procedura può essere evitata attraverso il calcolo, anche se non rigoroso, dei principali parametri ESR, cioè il fattore-g e la costante di accoppiamento iperfine A, direttamente dallo spettro sperimentale. Nel caso di ioni metallici paramagnetici, si possono utilizzare le seguenti equazioni standard (da Wertz e Bolton, 1972):

$$g = \frac{h\,\nu_{el}}{\beta\,H_o} = 0.714484\,\frac{\nu_{el}}{H_o} \qquad (3)$$

dove ν_{el} è il valore della frequenza di microonde e H_o è il valore del campo magnetico a cui è centrato il segnale ESR.

$$A\ (MHz) = 2.80247\ (\frac{g}{g_e})\ a \qquad (4)$$

dove g_e=2.00232 è il fattore-g dell'elettrone libero, g è calcolato con

l'equazione precedente e a, in Gauss, è la costante di accoppiamento iperfine calcolata dallo spettro sperimentale.

$$A\ (cm^{-1}) = \frac{A}{c} = 0.333564\ 10^{-4}\ A(MHz) \qquad (5)$$

dove c è la velocità della luce nel vuoto.

Una volta ottenuti i valori dei parametri ESR dallo spettro del campione in esame, è necessario correlarli alla struttura e alla simmetria del sito della specie studiata attraverso l'applicazione di modelli e teorie chimico-fisiche più o meno accurate ed elaborate, quali la teoria del "campo cristallino" (crystal field), o del "campo di ligandi" (ligand field), ovvero dell'"orbitale molecolare". Il rigoroso e complesso approccio chimico-fisico può essere evitato attraverso accurate comparazioni e correlazioni tra i valori dei parametri spettrali ESR determinati per il campione all'esame e i dati ESR riferiti nella letteratura per sistemi molecolari modello o composti naturali simili, quali metallo-proteine, carboni, polimeri organici, etc.. Un tale procedimento è generalmente sufficiente a fornire quelle informazioni di carattere chimico e strutturale di interesse per il chimico del suolo.

2.4. Limitazioni

Una delle limitazioni connesse all'esperimento ESR consiste nella scarsa o mancata risoluzione del segnale dovuta alla sovrapposizione di più righe di risonanza che ne può compromettere l'analisi e quindi il livello di informazioni analitiche ottenibili.

Un altro fattore che può influenzare sia la sensibilità della misura che l'accuratezza dell'informazione è rappresentato dalla temperatura. Il maggiore svantaggio di lavorare a temperatura ambiente in sistemi acquosi è dato dalla perdita dielettrica molto alta che l'acqua presenta alle frequenze delle microonde. Pertanto, al fine di minimizzare le perdite dielettriche, i campioni da analizzare in soluzione acquosa devono essere sistemati in tubi capillari ovvero in apposite celle piatte per soluzioni. Spesso le misure ESR sono effettuate alla temperatura dell'azoto liquido (77 K) o dell'elio liquido (4.2 K) su soluzioni previamente raffreddate a tali temperature. Nel caso di grosse molecole, quali i complesi metallo-umici, comunque, lo spettro ottenuto a temperatura ambiente è spesso simile a quello osservato a basse temperature.

3. APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA ESR ALLO STUDIO DEI RADICALI LIBERI

3.1. Spettri ESR dei Radicali Liberi Umici

Allo scopo di individuare la presenza di radicali liberi organici nelle sostanze umiche, nonchè la loro natura e concentrazione, si misura lo spettro ESR del campione di SU allo stato solido, in tubi di quarzo, ovvero in soluzione acquosa in cella piatta, a temperatura ambiente utilizzando uno spettrometro ESR operante alla frequenza in banda-X con una modulazione del campo magnetico di 100 kHz. Il campo magnetico di scan

sione è normalmente molto ristretto ($\lesssim$ 100 Gauss) e centrato intorno al valore di campo a cui risuona l'elettrone libero, corrispondente a un valore del fattore-g = 2.00232. Il segnale di risonanza della maggior parte dei radicali liberi organici si ha infatti a un valore di campo magnetico corrispondente a un fattore-g molto vicino a quello dell'elettrone libero.

Due tipici spettri ESR ottenibili da SU sono mostrati in Fig. 6. Lo spettro ESR più frequentemente osservato consiste di un segnale singolo, privo di qualsiasi struttura iperfine (Fig. 6a), mentre più raramente si osservano spettri che presentano una parziale risoluzione iperfine (Fig. 6b).

3.2. Computo dei Parametri ESR

L'analisi dello spettro ESR dei radicali liberi umici (RLU) può fornire quattro tipi di parametri spettrali utili ai fini della loro caratterizzazione: il fattore-g, l'ampiezza del segnale derivata prima dell'assorbimento, la eventuale struttura iperfine e, infine, la concentrazione degli elettroni spaiati, cioè dei radicali liberi presenti nel campione di SU allo studio.

Il fattore-g si può calcolare con buona approssimazione dalla seguente relazione:

$$g_c = g_s \frac{H_s}{H_c} \qquad (6)$$

dove H_c e H_s rappresentano i valori del campo magnetico, in Gauss, a cui è centrato il segnale di risonanza, rispettivamente, per il campione e per uno standard, comunemente il N,N-difenilpicrilidrazile (DPPH) diluito in KCl in polvere, con fattore-g noto ($g_s = g_{DPPH} = 2.0036$).

L'ampiezza del segnale ESR è data dalla distanza picco-picco, in Guass, del segnale derivata prima.

Le costanti di accoppiamento iperfini della eventuale struttura iperfine del segnale si misurano anche dalle distanze picco-picco delle varie risonanze di cui si compone il segnale.

La concentrazione degli elettroni spaiati viene comunemente stimata per comparazione del segnale ESR del campione con quello di uno standard a concentrazione radicalica nota. Poichè l'area sottesa da una curva di assorbimento ESR è direttamente proporzionale al numero di centri paramagnetici che contribuiscono alla risonanza, risulta relativamente semplice determinare la concentrazione degli elettroni spaiati, in spins/g, paragonando le aree calcolate per doppia integrazione dei segnali derivata prima del campione e dello standard. La doppia integrazione in genere può essere evitata in quanto il tracciato dei segnali del campione e dello standard è dello stesso tipo (Lorentziana) e quindi si assume che l'area sia proporzionale al prodotto dell'altezza (h) per il quadrato dell'ampiezza (w) del segnale derivata-prima. L'equazione usata per il calcolo può essere riassunta come segue:

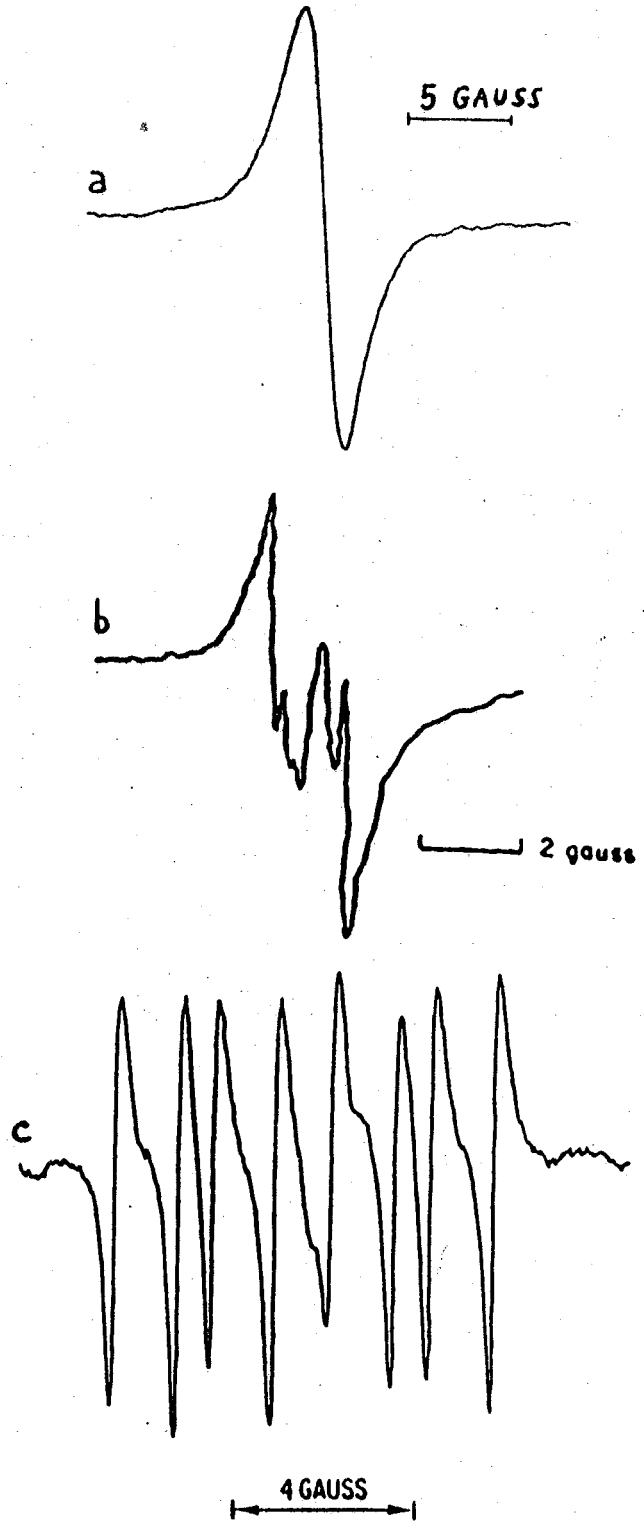


FIGURA 6. Spettri ESR di sostanze umiche (a) e (b) e dell'anione semichinonico dell'acido 3,4-diidrossibenzoico (c).
(a e c, da Senesi e Steelink, 1989; b, da Atherton et al.,1967)

$$(spins/g)_c = \frac{(h\,w^2)\ ampl_s/ampl_c\ (spins/g)_s/(h\,w^2)_s}{q} \qquad (7)$$

dove c e s si riferiscono al campione e allo standard, "ampl" denota il valore dell'amplificazione usato nella misura dello spettro e q rappresenta la quantità del campione in grammi.
E' importante notare che nel caso di campioni in soluzione, il pH e il tempo che intercorre tra la dissoluzione e la misura influenzano notevolmente il contenuto in radicali liberi. Pertanto, per avere misure paragonabili, è necessario operare sempre nelle identiche condizioni operative strumentali.

Molti altri fattori (Senesi, 1989) comunque influenzano la precisione e l'accuratezza della misura dei vari parametri ESR, per cui essi assumono un maggior significato se considerati per scopi comparativi piuttosto che in assoluto.

3.3. Significato dei Parametri ESR e Informazioni Ottenibili

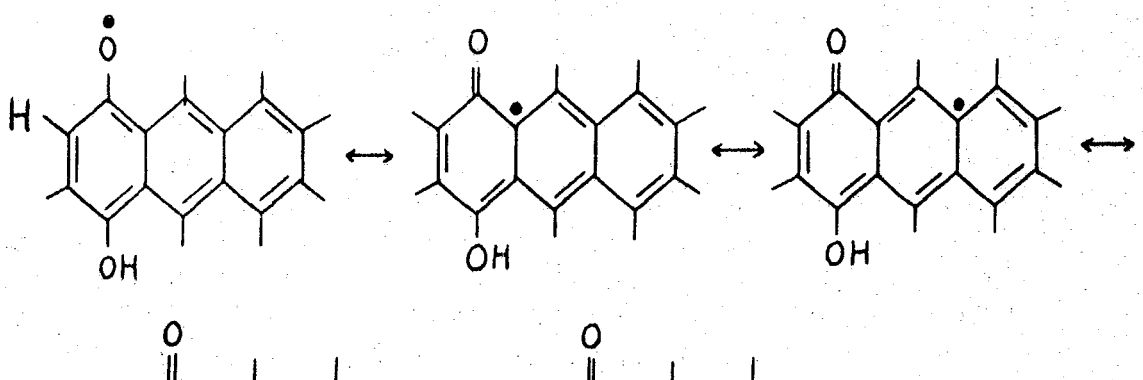
Allo scopo di esemplificare la discussione basandola su dati concreti, ci si riferirà ai dati sperimentali presentati in Tabella 1, relativi ai parametri ESR di alcuni acidi umici (AU) e acidi fulvici (AF) di varia origine e natura.

Tabella 1. Parametri ESR misurati per alcuni AU e AF.

Campione	Stato di aggregaz.	Concentraz. in RLU (spins/g 10^{-17})	Ampiezza di riga (Gauss)	Fattore-g
AU, terreno[a]	solido	5-10	4.8-5.2	2.0032-2.0047
AF, terreno[a]	"	1- 2	4.5-7.5	2.0037-2.0050
AU, terreno[b]	soluz.acq.	2.1	2.5	2.0037
AF, terreno[b]	" "	1.3	2.5	2.0038
AU, terreno non ammendato[c]	solido	1.1	7.1	2.0047
AU, terreno ammendato con fanghi depuraz.[c]	"	0.4-0.7	6.9-7.5	2.0037-2.0043
AU, sintesi da funghi[d]	solido	0.6-6.4	4.8-6.6	2.0040-2.0046
AU, paleosuoli[e]	solido	7-11	3.9-4.4	2.0045-2.0051
AU, torba[f]	soluz.alcal.	9.2	2.0	2.0043

[a] Chen et al.,1978; [b] Varadachari et al.,1983; [c] Senesi et al.,1989a; [d] Senesi et al., 1987a; [e] Calderoni e Schnitzer,1984; [f] Steelink,1966.

I valori assunti dal fattore-g forniscono alcune informazioni di base sulla natura chimica dei radicali liberi presenti nelle SU (Senesi e Steelink, 1989; Senesi, 1989). I dati in Tabella 1 mostrano che i valori del fattore-g non differiscono sostanzialmente tra i vari campioni di AU e AF e sono compatibili con unità radicaliche di tipo semichinonico coniugate a un sistema aromatico più o meno esteso (g=2.0041 per il 9,10-antrachinone), sebbene un contributo da parte di radicali metossibenzenici (fattori-g tra 2.0035 e 2.0040) e radicali associati ad atomi di azoto e/o di solfo (g=2.0031-2.0037) non possa essere escluso (Blois et al., 1961). Valori più bassi misurati per il fattore-g corrisponderebbero ad una più estesa delocalizzazione dell'elettrone libero dall'atomo di ossigeno semichinonico agli atomi di carbonio del sistema aromatico coniugato della macromolecola umica, secondo lo schema seguente:



(8)

Radicale semichinonico coniugato con la struttura aromatica nelle SU. La 1° formula di struttura rappresenta il radicale semichinonico, mentre le altre in risonanza rappresentano alcune delle possibilità di delocalizzazione dell'elettrone libero, o spaiato, sugli atomi di C aromatici.

L'origine delle unità radicaliche semichinoniche nelle SU viene principalmente attribuita a processi di deidrogenazione, o rimozione ossidativa di idrogeno da gruppi -OH, $-NH_2$, o -SH aromatici, ovvero a reazioni di rottura omolitica di legami nella matrice polimerica, o ancora al distacco omolitico di gruppi funzionali labili durante i processi di umificazione. Un'altra causa della presenza di radicali liberi nelle SU potrebbe farsi risalire all'incorporazione di specie radicaliche preesistenti nei precursori ligninici ovvero nei prodotti di degradazione di sostanze organiche xenobiotiche, quali i pesticidi.

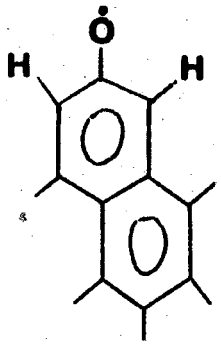
I dati in Tabella 1 mostrano poi che gli spettri ESR delle SU otte

nuti in soluzione presentano ampiezze del segnale più strette dei corrispondenti spettri misurati su campioni allo stato solido. Ciò è da imputarsi soprattutto alla maggiore libertà di rotazione e al minore grado di associazione molecolare delle molecole umiche in soluzione, rispetto allo stato solido. Gli AF sono in genere caratterizzati da ampiezze di segnale leggermente maggiori di quelle degli AU della stessa fonte. Piccole variazioni nell'ampiezza della riga di risonanza possono essere attribuite a sovrapposizione di un certo numero di segnali a valori di campo leggermente differenti e tutti contribuenti al segnale globale. Un allargamento del segnale può risultare pertanto da una parziale delocalizzazione dell'elettrone spaiato dal semichinone alla struttura aromatica coniugata, o ancora da interazioni iperfini non risolte dell'elettrone libero con nuclei di idrogeno aromatici e/o alifatici vicini. Altri fattori che possono influenzare l'ampiezza del segnale sono: la concentrazione di radicali liberi, la temperatura, interazioni soluto-solvente, interazioni del radicale con ioni metallici, effetti di "saturazione di potenza" (Senesi, 1989).

I dati in Tabella 1 mostrano che gli AF generalmente presentano concentrazioni in radicali liberi da 1/3 a 1/5 minori di quelle degli AU della stessa fonte. Gli AU estratti da terreni ammendati con dosi e per tempi diversi di fanghi urbani di depurazione mostrano in ogni caso una diminuzione del loro contenuto in RLU, rispetto all'AU isolato dal terreno non ammendato (Senesi et al., 1989a)(Tabella 1). Polimeri umosimili sintetizzati da vari funghi del terreno presentano concentrazioni in RLU variabili entro un ordine di grandezza e generalmente inferiori ai valori misurati per gli AU del terreno (Tabella 1). AU isolati da paleosuoli e da torbe sono più dotati di RLU rispetto agli AU da terreni (Tabella 1).

La conoscenza della concentrazione in radicali liberi delle SU riveste particolare interesse in quanto l'attività radicalica influenza notevolmente, direttamente e/o indirettamente, l'entità di numerosi processi chimici, fotochimici e biochimici, quali i processi di ossido-riduzione, l'attività fotolitica, catalitica ed enzimatica delle SU, le interazioni con i pesticidi e gli ioni metallici, i processi di polimerizzazione-depolimerizzazione e umificazione, e infine gli effetti fisiologici esercitati dalle SU sugli organismi del suolo.

L'analisi della struttura iperfine di uno spettro ESR può fornire importanti informazioni sull'intorno chimico-strutturale dell'unità radicalica nelle SU. Purtroppo, molto raramente strutture iperfini sono state riscontrate negli spettri ESR delle SU. Alcuni autori (Atherton et al., 1967, Cheshire e Cranwell, 1972) hanno riportato spettri ESR a quattro righe dopo trattamento acido all'ebollizione per alcuni AU estratti da suoli acidi e torbe, mentre gli AU da suoli con pH $\geq$ 4.6 davano spettri non strutturati. La struttura iperfine fu attribuita alle interazioni dell'elettrone spaiato semichinonico con due nuclei di idrogeno contigui non equivalenti, come schematizzato di seguito:



(9)

I risultati degli studi in ESR portarono gli autori (Cheshire e Cranwell, 1972) a concludere che il tipo di RLU presenti negli AU fosse altamente correlato alle condizioni di pH esistenti durante i processi di umificazione. Lo spettro ESR a quattro righe mostrato in Fig. 6b risultava molto simile allo spettro ESR che l'anione semichinonico dell'acido 3,4-diidrossibenzoico (Fig. 6c) dava dopo alcune ore di riposo in soluzione alcalina (Steelink, 1987). Alcuni flavonoidi, la quercetina e la rutina mostravano un comportamento identico. Inoltre, Schnitzer e Levesque (1979) mostrarono l'esistenza di una relazione diretta tra il contenuto di unità di acido diidrossibenzoico nelle SU e la concentrazione in RLU negli stessi campioni. Tutto ciò portava a suggerire che unità di catecolo potessero essere corresponsabili delle proprietà radicaliche delle SU. Senesi et al. (1977à)ottennero uno spettro con struttura iperfine a tre righe per un AF da terreno dopo ossidazione con acqua ossigenata. La struttura fu attribuita all'interazione di un elettrone spaiato semichinonico con due nuclei di idrogeno equivalenti adiacenti.

3.4. Effetti di Fattori Fisici e Chimci sui Parametri ESR

Una serie di informazioni quali-quantitative di rilievo per la valutazione della reattività chimica generale delle SU può essere ottenuta dallo studio degli effetti provocati sui vari parametri ESR, ed in particolare sulla concentrazione dei RLU, dalla variazione di vari fattori fisici e chimici, tra cui la temperatura, il pH, l'idrolisi acida, la metilazione, l'ossidazione, la riduzione, l'irradiazione.

Un aumento della temperatura sino a 450°C provocava un aumento della concentrazione dei RLU di due ordini di grandezza, un ampliamento del segnale ESR e una lieve diminuzione del fattore-g per AU allo stato solido (Steelink e Tollin, 1962; Schnitzer e Skinner, 1969). Tali effetti sono ragionevolmente da ascriversi a fenomeni di depolimerizzazione e rottura omolitica di legami nella macromolecola umica, insieme a perdita di ossigeno e più estesa delocalizzazione dell'elettrone spaiato sulla struttura aromatica residua.

La concentrazione radicalica di SU sciolte in mezzi acquosi aumentava da uno a due ordini di grandezza all'aumentare del pH della soluzione, mentre l'ampiezza del segnale diminuiva e il fattore-g rimaneva quasi immutato (Wilson e Weber, 1977; Steelink, 1964, 1966). Senesi e

e Schnitzer (1977, 1978) hanno dimostrato che l'elevata concentrazione in RLU raggiunta da un campione di AF appena sciolto in soluzione alcalina a pH=12 non rimaneva stabile nel tempo, bensì aumentava per i primi 20' dopo la dissoluzione e quindi diminuiva, dapprima rapidamente per 4-5 ore, e quindi molto lentamente nei successivi 6 giorni (Fig. 7). Simultaneamente, il pH della soluzione spontaneamente diminuiva fino al valore 9. Quando invece lo stesso campione di AF veniva dissolto in soluzioni acquose a valori di pH 7.0, si osservavano variazioni molto limitate sia della concentrazione di RLU che del pH (Senesi e Schnitzer, 1977).

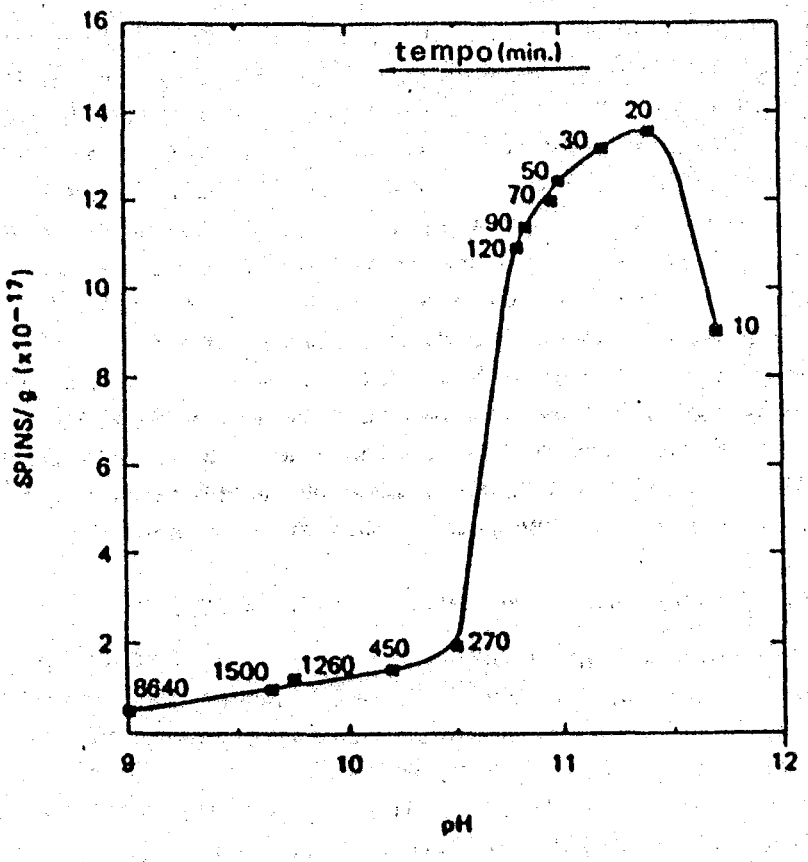
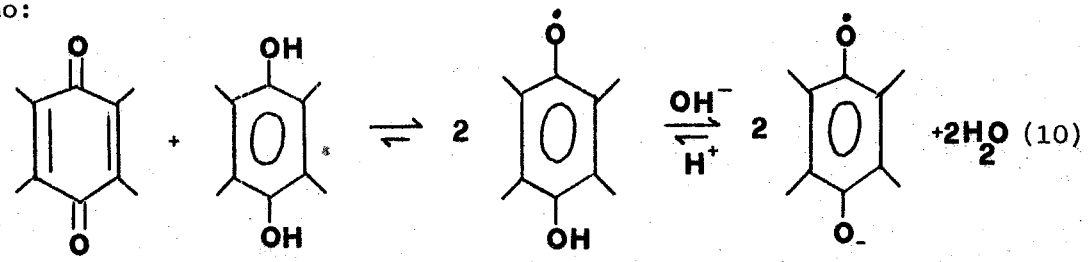


FIGURA 7. Variazione della concentrazione di radicali liberi in una soluzione alcalina (NaOH) di acido fulvico, in funzione del tempo e del pH (da Senesi et al., 1977c).

Il forte incremento, in gran parte reversibile, osservato nella concentrazione di RLU delle SU in soluzioni alcaline può essere spiegato sulla base degli equilibri, di seguito schematizzati, che considerano il sistema elettron donatore-accettore chinone-idrochinone presente nella struttura molecolare umica come il maggior responsabile della generazione dei radicali umici semichinonici stabili e delle corrispondenti specie anioniche radicaliche a vita breve, o transienti, in mezzo alca

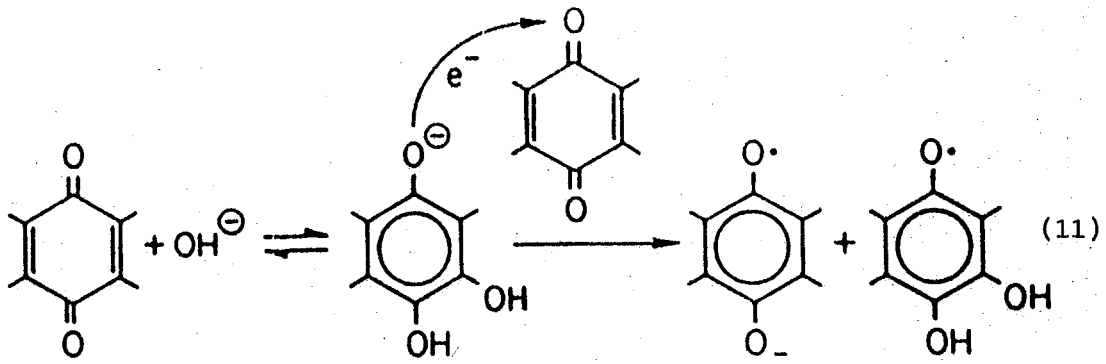
lino:



(10)

(sistema elettron donatore-accettore chinone-idrochinone) (semichinone) (anione semichinonico)

Inoltre, in soluzione alcalina i gruppi chinonici indigeni delle SU possono reagire direttamente e senza l'intervento di gruppi riducenti con gli ioni ossidrile OH^- per dar luogo ad anioni radicalici semichinonici, secondo il seguente schema di reazione:



(11)

CHINONE UMICO ANIONE CHINONICO ANIONE SEMICHINONICO

Sottoponendo SU di varia natura ad idrolisi acida, si ottenevano prodotti caratterizzati da un aumento crescente della concentrazione di RLU all'aumentare del tempo di idrolisi (Steelink, 1964; Steelink e Tollin, 1967; Atherton et al., 1967; Riffaldi e Schnitzer, 1972b; Saiz Jimenez e Shafizadeh, 1985). L'idrolisi provocherebbe infatti la rimozione di componenti non aromatiche dalla macromolecola umica, quali polisaccaridi, peptidi, etc. e catalizzerebbe reazioni parziali di condensazione e polimerizzazione dei residui, portando a prodotti finali caratterizzati da una più alta aromaticità e complessità molecolare, arricchite in RLU.

La letteratura riferisce effetti contrastanti della metilazione sulle proprietà radicaliche delle SU (Schnitzer e Skinner, 1969; Riffaldi e Schnitzer, 1972a; Saiz Jimenez e Shafizadeh, 1985). Più ragionevoli

appaiono comunque i risultati di Schnitzer e Skinner (1969) che riscontravano una diminuzione di un ordine di grandezza nella concentrazione di RLU in AU e AF dopo metilazione. Un tale risultato è in buon accordo con altri studi che indicano i gruppi OH fenolici tra i principali gruppi elettron donatori responsabili degli equilibri di trasferimento elettronico che governano la formazione e l'esistenza dei RLU.

Nonostante alcuni autori abbiano misurato un aumento della concentrazione di RLU in presenza di ossigeno (aria) in soluzioni alcaline di AU, ma non negli stessi campioni allo stato solido (Riffaldi e Schnitzer, 1972b), la maggior parte delle evidenze sperimentali indicano una diminuzione della concentrazione in seguito a trattamento con agenti riducenti di SU in soluzione a vari pH. Ad esempio, Slawinska e Slawinski (1975a) dimostrarono che il trattamento con ossigeno di soluzioni alcaline di AU di varie fonti produceva una graduale diminuzione, dipendente dal tempo, dell'intensità del segnale ESR, con la simultanea formazione della specie molto reattiva ossigeno singoletto, iniziatore di importanti reazioni, quali ossidrilazione e degradazione ossidativa di pesticidi, inattivazione di enzimi del suolo, etc. Senesi e Schnitzer (1977) e Senesi et al. (1977b) osservarono che l'ossidazione blanda con H_2O_2, Ag_2O o $NaIO_4$ a vari pH produceva una rapida diminuzione della concentrazione in RLU di soluzioni di AF preparate di fresco. La maggior velocità di decadimento era osservata per valori di pH più elevati, mentre il valore minimo di concentrazione in RLU veniva raggiunto in ogni caso entro circa 4 ore (Fig. 8). Il trattamento con ossidanti sarebbe quindi in grado di distruggere solo una parte dei RLU, cioè le specie "transienti", mentre lascerebbe intatte le specie radicaliche più stabili o "permanenti".

Nonostante in alcuni casi siano stati misurati decrementi più o meno estesi della concentrazione in RLU in seguito a riduzione di SU con vari reattivi (Steelink, 1964; Atherton et al., 1967), più convincenti appaiono i risultati indicanti rapidi e notevoli incrementi della concentrazione in RLU come effetto del trattamento con riducenti (Tollin et al., 1963; Senesi e Schnitzer, 1977, 1978). Tollin et al. (1963) misurarono concentrazioni in RLU fino a 25 volte maggiori di quelle iniziali nei prodotti di riduzione di un AU con riducenti vari, mentre la successiva acidificazione dei prodotti portava a un decremento fino a meno della metà della concentrazione iniziale di RLU. Senesi e Schnitzer (1977, 1978) misurarono valori della concentrazione in RLU da 40 a 108 volte superiori al valore iniziale in seguito a trattamento di soluzioni di AF con riducenti quali $NaBH_4$ o $SnCl_2$ a vari pH (Tabella 2). I valori massimi di concentrazione venivano in genere raggiunti entro 10-40 min. dall'aggiunta del riducente e quindi si osservava una graduale diminuzione della concentrazione che risultava molto più rapida a pH alcalino che a pH neutro o acido (Tabella 2). L'assenza di variazioni significative dell'ampiezza del segnale e del fattore-g indicava che le specie radicaliche di neo-formazione non differivano nella loro natura chimica, ma risultavano molto meno stabili e persistenti, rispetto ai RLU origi

nariamente presenti nei campioni studiati.

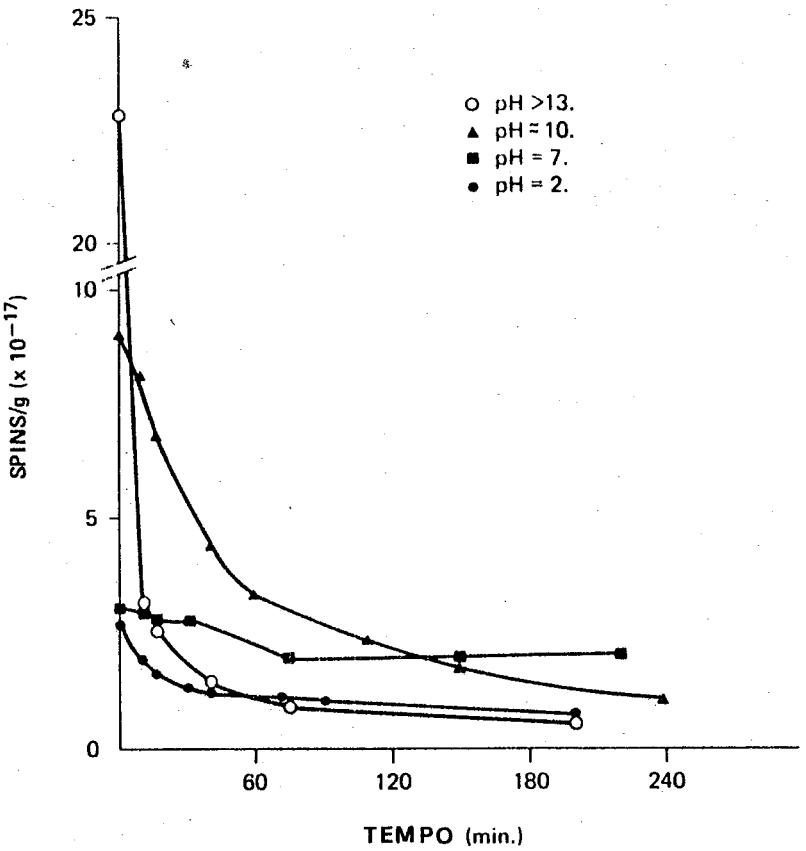


FIGURA 8. Variazioni delle concentrazioni radicaliche col tempo di ossidazione per soluzioni di acido fulvico a vari pH. Ossidante: H_2O_2. (Da Senesi e Schnitzer, 1978).

Tabella 2. Concentrazioni radicaliche (spins/g . 10^{-17}) in soluzioni acquose di acido fulvico in funzione del tempo durante la riduzione (da Senesi e Schnitzer, 1978).

Riducente	$NaBH_4$	$SnCl_2$		
pH	pH > 13	pH > 13	pH = 7[a]	pH=2[b]
Tempi (min)				
0	0.46	0.23	1.27	1.49
10	30.69	n.d.	50.65	82.58
40	29.83	24.84	37.37	88.65
960	n.d.	0.21	7.62	90.73
1260	n.d.	0.20	4.63	137.03
1440	0.40	0.20	3.73	136.20
2610	0.40	0.19	2.31	94.68

[a] il pH scende a 5 dopo addizione di $SnCl_2$; [b] il pH scende a 1.7 dopo addizione di $SnCl_2$; n.d.: non determinato.

Gli effetti dell'ossidazione e della riduzione sulla concentrazione in radicali liberi delle SU appaiono sostanzialmente reversibili. Sottoponendo infatti soluzioni di AF a vari pH alla sequenza ossidazione ⟶ riduzione ⟶ ossidazione, si osservava che l'aggiunta del riducente ($NaBH_4$, $SnCl_2$, o $Na_2S_2O_4$), allorchè la concentrazione in RLU aveva raggiunto un valore minimo costante in seguito all'ossidazione con H_2O_2 (4 ore), provocava un incremento nella concentrazione in RLU che raggiungeva valori massimi differenti in tempi diversi a seconda del tipo di riducente e del pH del mezzo (Fig. 9). La riossidazione delle soluzioni di AF subito dopo il raggiungimento del massimo provocava una rapida diminuzione della concentrazione in RLU che raggiungeva valori molto vicini a quelli osservati prima del trattamento col riducente (Fig. 9).

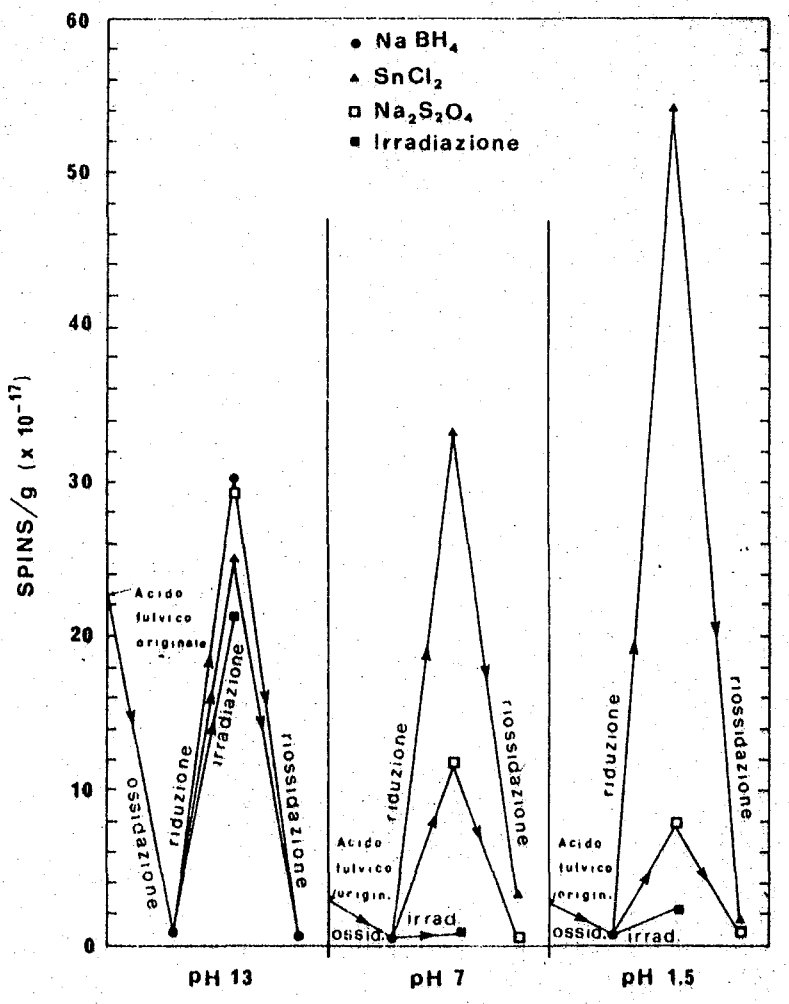
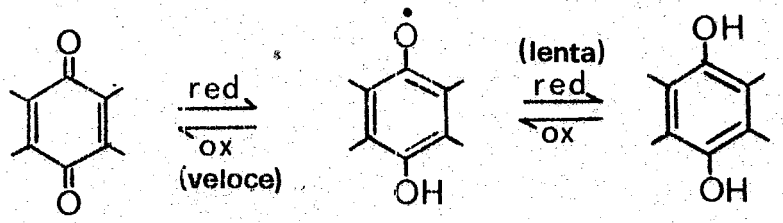
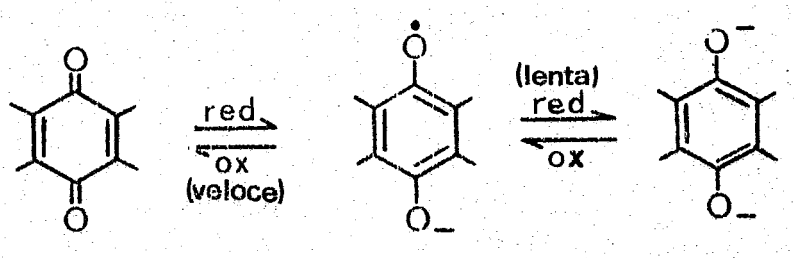


FIGURA 9. Effetto dei trattamenti consecutivi: ossidazione ⟶ riduzione ⟶ ossidazione e ossidazione ⟶ irradiazione sulle concentrazioni radicaliche di soluzioni di acido fulvico a differenti valori di pH e con diversi riducenti. L'ossidazione veniva condotta in ogni caso con H_2O_2. (Da Senesi et al., 1977b).

Un tale comportamento veniva giustificato sulla base dei due schemi di reazione reversibili di seguito riferiti:



(12)



(13)

L'irradiazione con luce visibile o UV di AU o AF sia allo stato solido che in soluzione acquosa a vari pH provocava un aumento reversibile nell'intensità del segnale ESR, mentre il fattore-g e l'ampiezza del segnale rimanevano pressocchè costanti (Lagerkrantz e Yhland, 1963; Slawinska et al., 1975; Slawinska e Slawinski, 1975b; Senesi et al., 1977b, 1977c; Senesi e Schnitzer, 1977, 1978). Slawinska et al. (1975) misurarono un incremento massimo di circa un ordine di grandezza della intensità del segnale ESR irradiando soluzioni acquose alcaline di AU di varia origine. Questi autori proposero che l'irradiazione provocasse il passaggio del sistema AU-O_2 in stati elettronici eccitati ad elevata reattività chimica, producendo prodotti di fotodegradazione ricchi in radicali liberi, insieme alla specie altamente reattiva ossigeno singoletto. Tichy (1971) osservò una aumentata attività biologica dell'AU arricchito in radicali liberi in seguito a irradiazione UV. Khan e Gamble (1983) mostrarono che l'irradiazione di AU in presenza di derivati s-triazinici causava la fotodegradazione delle stesse triazine. Senesi et al. (1977b) osservarono che l'irradiazione di AF allo stato solido e in soluzione a vari pH produceva incrementi nella concentrazione in RLU variabili a seconda del pH . L'incremento maggiore si otteneva in soluzioni alcaline di AF e i valori massimi di concentrazione radicalica venivano raggiunti in genere entro i primi 5' di irradiazione per poi calare leggermente e mantenersi quindi costanti. Interrompendo l'irradiazione, il contenuto in RLU tornava rapidamente a valori vicini a quelli di partenza. In esperimenti condotti irradiando soluzioni di AF a vari pH con luce visibile filtrata a lunghezze d'onda variabili tra 428 e 656 nm, i maggiori incrementi di concentrazione si osservavano con luce tra 550 e 600 nm (verde-giallo-arancio), specialmente a pH alcalini ($\sim$ 9) (Senesi e Schnitzer, 1977). L'irradiazione di soluzioni di AF previamente addizionate di un ossidante produceva un innalzamento nella

concentrazione di RLU che risultava particolarmente pronunciata a pH alcalini, mentre l'irradiazione di soluzioni di AF dopo trattamento con riducenti e allorchè esse avevano raggiunto la massima concentrazione radicalica, non produceva ulteriori incrementi della concentrazione (Senesi et al., 1977b; Senesi e Schnitzer, 1978). L'irradiazione con luce vis o UV pertanto si dimostrava un metodo efficiente per generare radicali liberi di natura transiente e reversibile nelle SU.

Senesi et al. (1977d) hanno anche studiato gli effetti dell'irradiazione ad alta energia con raggi gamma ed elettroni veloci sui RLU in AU e AF. Gli effetti osservati apparivano correlati principalmente a variazioni nelle dimensioni molecolari della SU, cioè a fenomeni di polimerizzazione-aggregazione e depolimerizzazione-dispersione delle molecole umiche.

3.5. Informazioni Strutturali Ottenibili dai Dati ESR

La risposta comportamentale dei RLU alle variazioni dei vari fattori chimici e fisici innanzi esaminati indica chiaramente la presenza di sistemi elettron donatore-accettore di tipo chinone-idrochinone nelle SU. Un tale modello giustifica sia la presenza di unità radicaliche semichinoniche indigene stabili nella molecola umica che la formazione in condizioni adeguate (elevato pH, condizioni riducenti, irradiazione, idrolisi), e il successivo decadimento reversibile, di radicali umici a vita breve, o transienti, di natura identica ai RLU indigeni.

Le correlazioni positive esistenti tra la concentrazione in RLU e il rapporto E_4/E_6 (Schnitzer e Skinner, 1969), ovvero l'assorbanza a 465 nm o il rapporto atomico C/H (Riffaldi e Schnitzer, 1972a) indicavano che il contenuto in RLU aumentava all'aumentare del grado di condensazione aromatica e della complessità molecolare delle SU ed era strettamente correlato al loro colore. Studi più recenti condotti su polimeri umo-simili sintetizzati da funghi del suolo confermavano che la concentrazione in RLU era direttamente proporzionale al rapporto C/H ed inversamente alla percentuale di H (Fig. 10) (Senesi et al., 1987a).

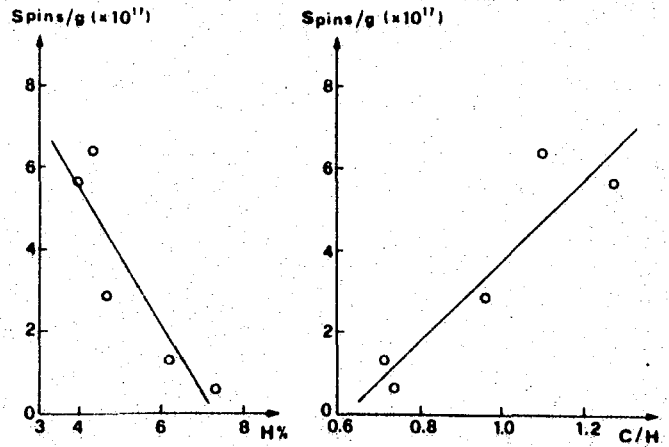


FIGURA 10. Variazione delle concentrazioni radicaliche in funzione di H% e del rapporto C/H per polimeri umo-simili sintetizzati da funghi del terreno (da Senesi et al., 1987a).

Tali risultati erano in buon accordo con i dati dell'analisi all'infrarosso che mostravano un predominante carattere aromatico dei campioni più ricchi in RLU e un carattere prevalentemente alifatico-olefinico per i polimeri umici con concentrazioni radicaliche più basse (Senesi et al., 1987a).

La spettroscopia ESR è stata anche applicata con successo alla determinazione del grado di umificazione delle torbe. Schnitzer e Levesque (1979) dimostrarono che campioni di torbe più umificate erano caratterizzate da una più alta concentrazione in radicali liberi insieme a un maggior contenuto di composti fenolici, rispetto a torbe a più basso grado di umificazione. Eloranta et al (1980, 1985) confermarono tali risultati dimostrando che l'intensità del segnale ESR dei radicali liberi organici aumentava col grado di umificazione delle torbe studiate. Più recentemente, Wikander e Nordèn (1988) hanno osservato che sia l'ampiezza che l'altezza del segnale ESR variava con la classe botanica e col grado di decomposizione per un gran numero di campioni di torba.

4. APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA ESR ALLO STUDIO DELLE INTERAZIONI SOSTANZE UMICHE-PESTICIDI

E' ben noto che le SU svolgono un ruolo molto importante nei processi di degradazione e detossificazione, nei fenomeni di accumulo e trasporto e nella generale attività biologica dei pesticidi nel sistema suolo-acqua-organismi. Recentemente, Senesi e Chen (1989) hanno passato in rassegna i molteplici effetti che le SU possono esercitare interagendo in vario modo con vari prodotti chimici organici di sintesi introdotti nell'ambiente. Gli effetti considerati comprendono adsorbimento, ripartizione, solubilizzazione, catalisi, idrolisi, fotosensitizzazione.

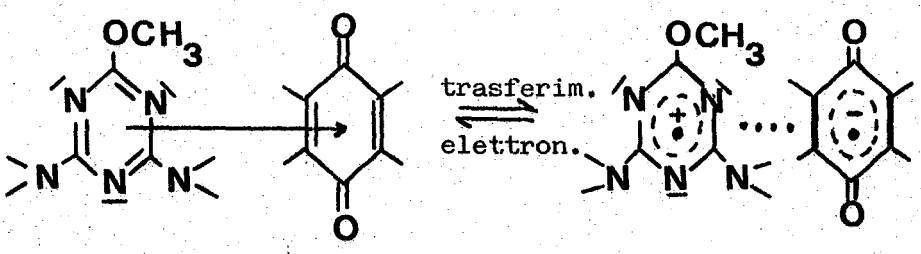
In particolare, un gran numero di meccanismi di legame sono stati proposti per spiegare i fenomeni di adsorbimento chimico e fisico che hanno luogo in seguito all'interazione delle SU con i pesticidi, tra cui legami ionici e a idrogeno, deboli attrazioni elettrostatiche e di Van der Waals, scambio di ligandi, complessazione per trasferimento di carica attraverso ioni metallici polivalenti, legami idrofobici e ripartizione fisica (Hayes, 1970; Stevenson, 1972; Weed e Weber, 1974; Senesi e Chen, 1989). La possibile partecipazione di radicali liberi ai fenomeni di interazione, da tempo ipotizzata come altamente probabile (Stevenson, 1972), ha ottenuto solo di recente, grazie all'applicazione della tecnica ESR, ampia conferma sperimentale (Senesi, 1981a; Senesi e Testini, 1982, 1983a, 1983b, 1984; Senesi et al., 1984, 1986a, 1986b, 1987c, 1987d).

4.1. Interazioni tra Sostanze Umiche e s-Triazine o Uree Sostituite

La spettroscopia ESR, insieme ad altre tecniche chimico-fisiche e spettroscopiche, è stata applicata all'analisi dei prodotti di interazione, ottenuti in laboratorio in condizioni ambientali naturali di temperatura,

illuminazione e atmosferiche, tra campioni di AU di diversa origine e natura (terreni, compost, torbe, carboni, di sintesi) e soluzioni acquose diluite di alcuni erbicidi s-triazinici (prometone, ametrina, metoprotrina, desmetrina) e ureici sostituiti (fenuron, linuron, monuron, monolinuron, metobromuron, cicluron) (Senesi, 1981a; Senesi e Testini, 1982, 1983a, 1983b; Senesi et al., 1987b).

I prodotti di interazione AU-erbicida mostravano in generale incrementi di varia entità della concentrazione in radicali liberi e ampliamento del segnale ESR, rispetto ai valori misurati negli AU originali, mentre i valori del fattore-g risultavano pressocchè invariati (Tabella 3). I risultati ottenuti, e in particolare l'incremento della concentrazione radicalica, nei prodotti di interazione sono stati interpretati assumendo che unità chinoniche elettron-deficienti (accettori) presenti nella molecola umica rimuovessero elettroni da atomi di azoto ricchi di elettroni (donatori) della molecola dell'erbicida, con formazione di ioni radicalici stabilizzati in un complesso a trasferimento di carica, come schematizzato di seguito:



(14)

s-triazina (elettron donatore) — chinone umico (elettron accettore) — ioni radicalici (complesso a trasferimento di carica)

Un'ipotesi aggiuntiva avanzata per giustificare, sia pure in parte, gli elevati incrementi delle concentrazioni radicaliche misurate nei prodotti di interazione si basava su un fenomeno di disaccoppiamento di elettroni indotto dalla luce (trasferimento di carica fotoindotto) nel sistema interagente AU-erbicida, similmente a quanto osservato in vari sistemi organici elettron donatore-accettore sia modello che naturali (Foster, 1960; Lagerkrantz e Yhland, 1962). Un ulteriore ragionevole spiegazione dei risultati ESR ottenuti era fornita considerando la possibile formazione di legami covalenti tramite condensazione e/o addizione nucleofila tra chinoni o altri gruppi carbonilici umici e gruppi amminici dell'erbicida (Hayes et al., 1975; Parris, 1980). La aumentata complessità molecolare che ne deriverebbe per la macromolecola umica offrirebbe così maggiori possibilità di delocalizzazione e stabilizzazione per gli elettroni spaiati.

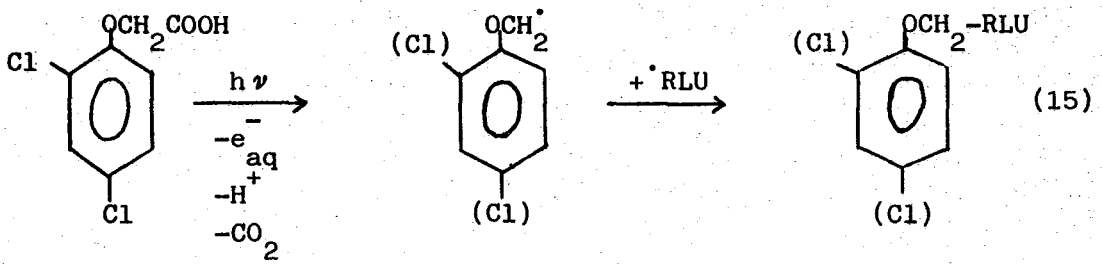
Tabella 3. Dati spettrali ESR per acidi umici e loro prodotti di interazione con erbicidi (da Senesi e Testini,1983a; Senesi et al., 1984, 1987a)

Parametri ESR	Concentraz. radicali liberi (spins/g . 10^{-17})					Ampiezza del segnale (Gauss)					Fattore-g				
Acido Umico	Terr.	Sint.	Torba	Carb.	Comp.	Terr.	Sint.	Torba	Carb.	Comp.	Terr.	Sint.	Torba	Carb.	Comp.
Erbicida															
Prometone	23.56	449.9.	4.36	2.75	4.76	8.2	4.4	7.1	6.2	5.7	2.0035	2.0033	2.0037	2.0036	2.0037
Fenuron	33.87	355.54	3.09	2.43	6.32	6.5	4.9	7.2	6.4	5.9	2.0033	2.0034	2.0036	2.0037	2.0037
2,4-D	5.52	30.29	0.54	1.56	0.62	6.5	5.4	7.0	7.2	6.3	2.0034	2.0037	2.0039	2.0039	2.0038
2,4,5-T	5.54	26.29	0.31	1.28	0.90	6.6	5.3	7.1	7.0	6.3	2.0032	2.0041	2.0037	2.0035	2.0036
AU origin.	8.62	74.84	1.50	1.89	2.90	6.2	4.1	5.4	6.2	6.2	2.0035	2.0032	2.0033	2.0035	2.0037

4.2. Interazioni tra Sostanze Umiche e Composti Clorofenossialcanoici

L'ipotesi corrente che gli erbicidi clorofenossialcanoici interagiscano con le SU attraverso meccanismi di legame relativamente deboli, quali forze di Van der Waals e legami a idrogeno (Stevenson, 1972; Khan, 1973; Weed e Weber, 1974), non appare del tutto soddisfacente se si considerano gli importanti effetti, ampiamente dimostrati sperimentalmente, esercitati dalle SU sul movimento, sulla persistenza e sulla fitotossicità residua di questi erbicidi nel suolo.

Un meccanismo più convincente per l'interazione è stato suggerito recentemente sulla base dei risultati ottenuti sottoponendo all'analisi in ESR e con altre tecniche i prodotti di interazione tra alcuni acidi ed esteri clorofenossialcanoici, tra cui i più noti 2,4-D e 2,4,5-T, dissolti in soluzione acquosa in condizioni ambientali e alcuni AU di varia origine e natura (Senesi et al., 1984, 1986a, 1987d). I dati ESR hanno evidenziato in generale un notevole decremento delle concentrazioni in radicali liberi e un sensibile allargamento dell'ampiezza del segnale ESR, rispetto ai valori originali degli AU, mentre i valori del fattore-g rimanevano pressocchè invariati (Tabella 3). I risultati dell'analisi in ESR, confermando le ipotesi avanzate da altri autori che hanno studiato sistemi analoghi con altre tecniche (Crosby, 1976; Stott et al., 1983; Bollag, 1983), suggerivano il verificarsi di fenomeni di incorporazione di clorofenossi-radicali nelle SU attraverso la formazione di legami covalenti, in seguito a reazioni omolitiche di accoppiamento incrociato tra RLU indigeni alle SU e fenossi- o arilossi-radicali intermedi generatisi in una preliminare fase di degradazione chimica, fotochimica e/o biologica della molecola dell'erbicida, così come di seguito schematizzato:



(15)

2,4-D — reazione fotochimica — radicale intermedio di fotodegradazione — reazione di incorporazione omolitica del radicale dell'erbicida da parte del radicale umico

4.3. Interazioni tra Sostanze Umiche e Amitrolo, Alacloro e Cicloato

I risultati preliminari dell'analisi in ESR dei prodotti di interazione tra vari AU e gli erbicidi amitrolo, alacloro e cicloato appaiono piuttosto contrastanti e non sono comunque da ritenersi definitivi (Senesi et al., 1986b) Nel caso di AU del terreno si osservava una diminuzione, mentre per AU di altra origine, quali compost, torbe, carboni e di sin

tesi, si misurava un incremento delle concentrazioni radicaliche nei prodotti di interazione. Ciò suggeriva un ruolo differenziato dei radicali liberi nel meccanismo di interazione, probabilmente legato a parametri strutturali e molecolari specifici del tipo e della natura dell'AU e dell'erbicida, che necessita comunque di ulteriori studi e approfondimenti.

4.4. Influenza delle Proprietà dell'Acido Umico e dell'Erbicida sulla Interazione

Allo scopo di ottenere ulteriori informazioni sui meccanismi coinvolti nella interazione AU-erbicida sono state considerate le possibili correlazioni esistenti tra i dati ESR, in particolare le concentrazioni radicaliche, e alcuni parametri chimico-strutturali e funzionali delle specie interagenti.

Fu accertata così l'esistenza di una correlazione indiretta tra il contenuto di gruppi funzionali OH fenolici e carbossilici degli AU e le concentrazioni radicaliche dei loro prodotti di interazione con le s-triazine (Fig. 11) (Senesi e Testini, 1982). Un tale risultato indicava che a un minore contenuto dell'AU in gruppi funzionali capaci di formare legami ionici o a idrogeno con le basi deboli s-triazine corrispondeva una maggiore tendenza a interagire via meccanismi elettron donatore-accettore. Una tale interpretazione si basava sull'accertata proporzionalità diretta esistente tra il contenuto in radicali liberi di sistemi modello elettron donatore-accettore e attitudine degli stessi sistemi a formarsi e a rimanere stabili (Bijl et al., 1959).

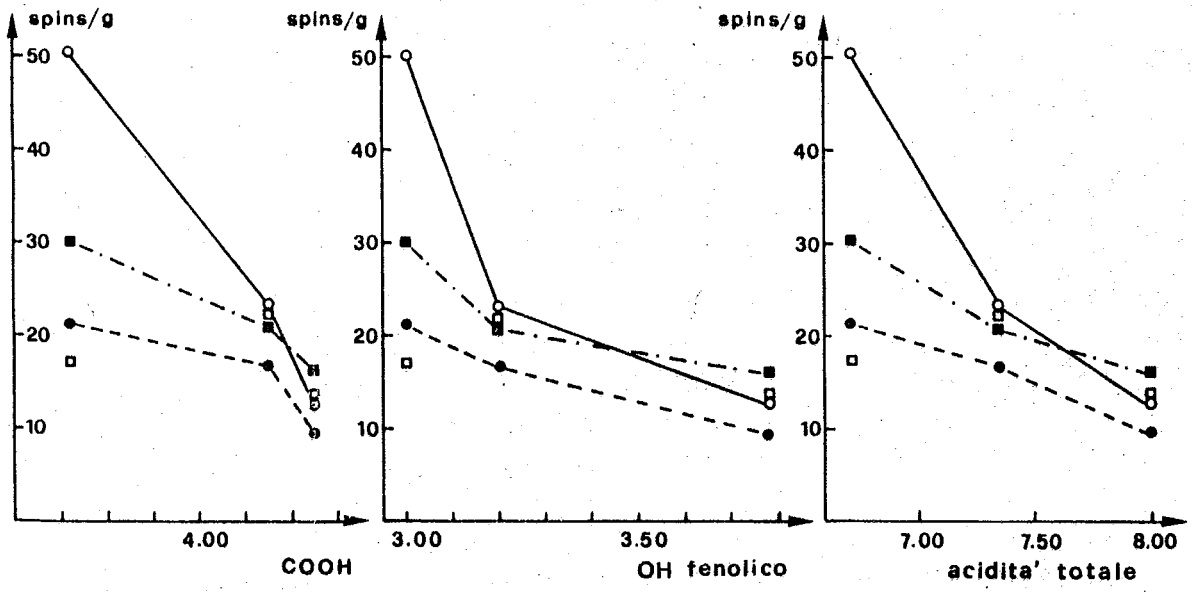


FIGURA 11. Concentrazioni radicaliche nei prodotti di interazione di AU con s-triazine, in funzione del contenuto di gruppi funzionali acidi negli AU originali (da Senesi e Testini, 1982). (-o-: prometone;-●-: ametrina;-□-: desmetrina;-■-: metoprotrina)

E' stata poi accertata una proporzionalità diretta tra la concentrazione in radicali liberi nei prodotti di interazione AU-erbicidi ureici e la bioattività delle corrispondenti uree espressa come indice pI_{50} (Fig. 12) (Senesi e Testini, 1983b). Gli erbicidi ureici più fitotossici apparivano pertanto essere anche quelli più atti a interagire con gli AU attraverso meccanismi elettron donatore-accettore. Ciò portava a ipotizzare che gli stessi parametri molecolari influenzino sia l'adsorbimento da parte dell'AU nel terreno che l'attività erbicida di questi composti.

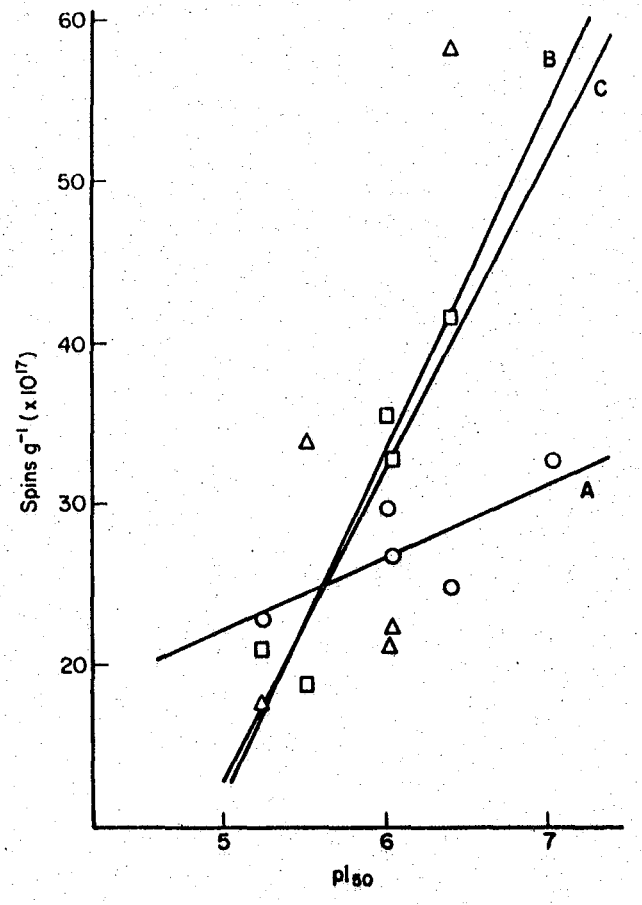


FIGURA 12. Concentrazioni radicaliche nei prodotti di interazione di AU con uree sostituite, in funzione dei valori pI_{50} (potere erbicida, inibitorio della reazione di Hill nei cloroplasti) dei corrispondenti erbicidi (da Senesi e Testini, 1983b). (A, -o-; B, -Δ-; e C, -□-, si riferiscono a tre diversi AU.

AU di diversa origine mostravano una differente reattività nei confronti degli erbicidi clorofenossialcanoici. Si è osservata infatti l'esistenza di una correlazione negativa tra la percentuale di radicali liberi residua nei prodotti di interazione, assunta come inversamente proporzionale all'abilità interattiva dell'AU, e il contenuto in gruppi carbossilici ovvero il rapporto tra contenuto in carbossili e OH fenoli

ci dell'AU stesso (Senesi et al., 1986a, 1987b) (Fig. 13).

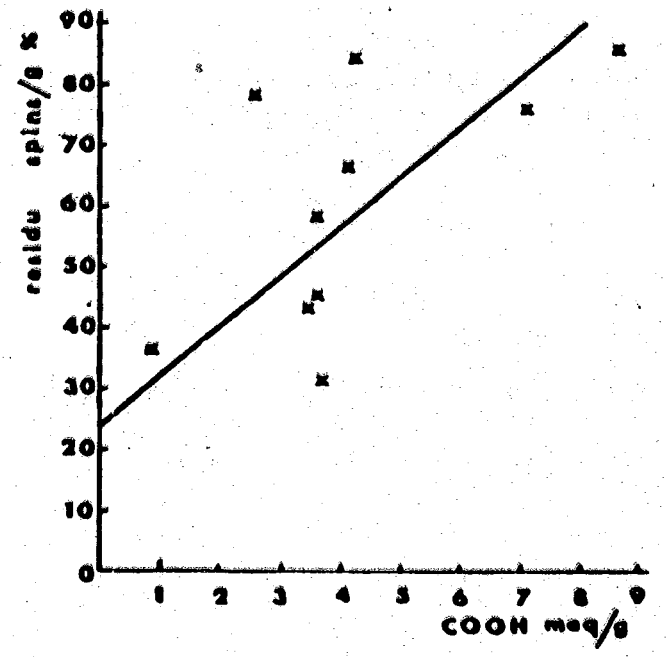


FIGURA 13. Concentrazioni radicaliche residue medie (%) nei prodotti di interazione di acidi umici con composti clorofenossialcanoici in funzione del contenuto di gruppi carbossilici (COOH) degli acidi umici (da Senesi et al., 1986a).

Nonostante la struttura molecolare e le proprietà chimiche dell'erbicida appaiono anch'esse capaci di influenzare più o meno estesamente la formazione dei sistemi a trasferimento di carica AU-erbicida, non sono stati rilevati andamenti e relazioni ben definite. Tra le s-triazine, per esempio, il prometone appariva il più efficiente nel formare legami elettron donatore-accettore con l'AU, sulla base dei più elevati incrementi osservati nelle concentrazioni radicaliche dei relativi prodotti di interazione (Senesi e Testini, 1982; Senesi et al., 1987b). Ciò veniva ragionevolmente attribuito alla presenza di un gruppo metossile in posizione 2 e di un gruppo isopropile su ciascun ammino gruppo nelle posizioni 4 e 6 dell'anello triazinico. Tra le uree sostituite, il fenuron dava il più alto incremento di concentrazione in radicali liberi nei prodotti di interazione con gli AU (Senesi et al., 1987b). Tale effetto fu collegato all'assenza di atomi di cloro disattivanti sull'anello benzenico del fenuron, a differenza delle altre uree esaminate contenenti uno o due atomi di cloro in anello che ne fa diminuire le proprietà di elettron donatori. Nel caso degli erbicidi clorofenossialcanoici, la presenza di atomi di cloro sull'anello benzenico pare influenzarne la reattività interferendo in misura variabile nelle reazioni di accoppiamento incrociato con la molecola dell'AU (Senesi et al., 1986a).

5. APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA ESR ALLO STUDIO DEI COMPLESSI METALLO-UMICI

Molti fenomeni fondamentali a cui gli ioni metallici partecipano nel sistema suolo-acqua-organismi, tra cui adsorbimento-desorbimento, movimento e trasporto, biodisponibilità e fitotossicità, etc., dipendono in modo critico dall'interazione con le sostanze umiche.

I modi e le forme di associazione metallo-umiche sono state studiate con numerosi metodi e tecniche analitiche. L'analisi tramite la spettroscopia ESR, in particolare, si è dimostrata in grado di fornire valide e uniche informazioni sugli stati di ossidazione del metallo, sui meccanismi di legame, sulla simmetria e sul tipo dei siti di coordinazione, sulla identità degli atomi e gruppi ligandi, e sulla stabilità chimica dei complessi sia naturali che preparati in laboratorio tra SU (AU e AF) e ioni metallici di transizione paramagnetici di notevole rilevanza chimico-biologica per l'agrosistema e l'ambiente, tra cui ferro, rame, manganese, vanadio, molibdeno (Senesi e Steelink, 1989; Senesi, 1989).

Allo scopo di ottenere le informazioni innanzi citate sui complessi umo-metallici, lo spettro ESR dal campione và misurato scandendo un ampio intervallo di campo magnetico (8000-10000 Gauss), in modo da individuare innanzitutto le risonanze eventualmente presenti e corrispondenti ai vari ioni metallici complessi, e quindi limitando la scansione a un campo ristretto alla regione che interessa per l'analisi più accurata e il calcolo dei parametri ESR caratterizzanti la specie metallica allo studio. I parametri ESR di maggior interesse che possono essere calcolati dallo spettro ESR di complessi umo-metallici sono i fattori-g, le costanti di accoppiamento iperfini ed eventualmente le costanti super-iperfini (vedi sezione 2.), della cui interpretazione analitica si discuterà in seguito in questa sezione.

5.1. Complessi del Ferro

Due spettri ESR relativamente semplici ottenuti a temperatura ambiente per campo di scansione di 10000 Gauss su campioni solidi in polvere di un AU e un AF da podsol sono presentati in Fig. 14 (Senesi et al.,1977e). I due spettri sono molto simili tra di loro e sono caratterizzati da tre segnali di risonanza privi di struttura iperfine. Il segnale molto netto e intenso a fattore-g=2.00, sempre presente negli spettri ESR delle SU, è dovuto ai RLU ed è stato estesamente discusso nella sezione 3.

Il segnale asimmetrico centrato a un fattore-g=4.2, comunemente osservato negli spettri ESR delle sostanze umiche, è attribuito a ioni Fe^{3+} legati a gruppi funzionali umici in siti tetraedrici e/o ottaedrici a simmetria rombica (Senesi et al., 1977e, 1987e; Cheshire et al., 1977; Eltantawy e Baverez, 1978; McBride, 1978; Abdul-Halim et al., 1981; Schnitzer e Ghosh, 1982; Filip et al., 1985; Kallianou e Yassoglou,1985). Il ferro in tali forme di associazione si mostrava molto resistente allo

scambio protonico e con ioni metallici e alla riduzione, il che suggeriva la presenza di complessi interni del Fe^{3+}.

Infine, il terzo largo segnale ESR centrato a un fattore-g ≈ 2 probabilmente consiste di un inviluppo di numerose righe di risonanza non risolte dovute a estesi accoppiamenti spin-spin tra diversi ioni metallici paramagnetici risuonanti in questa regione del campo magnetico. Con ogni probabilità, comunque, questo segnale deriva prevalentemente da accoppiamenti di spin tra ioni Fe^{3+} molto vicini tra loro e debolmente legati alla molecola umica in siti ottaedrici a simmetria cubica con lieve distorsione assiale (Senesi et al., 1977e; Cheshire et al., 1977; McBride, 1978; Abdul-Halim et al., 1981).

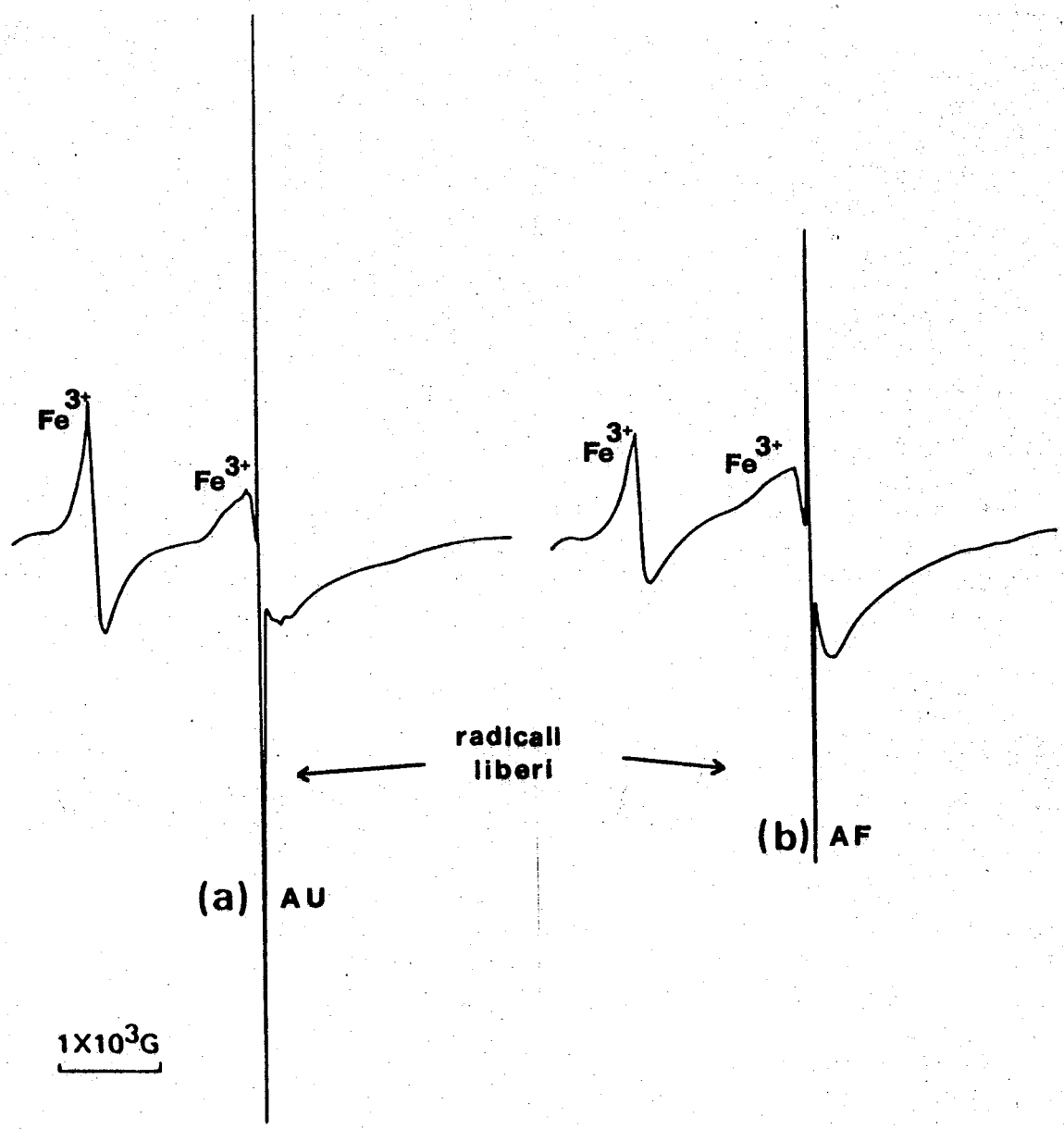


FIGURA 14. Spettri ESR a temperatura ambiente per un campo di scansione di 10000 Gauss di un AU (a) e un AF (b) da podsol (Senesi et al., 1977e).

In Fig. 15 sono presentati alcuni esempi di spettri ESR più strutturati, anch'essi frequentemente riscontrati per le SU, misurati alla temperatura dell'azoto liquido (77 K) per un campo di scansione di 8000 Gauss. In particolare, tali spettri si riferiscono a due AF, isolati l'uno da un terreno e l'altro da un fango urbano di depurazione, e due AU, l'uno derivato da un paleosuolo vulcanico e l'altro sintetizzato dal fungo E. echinulatum. Tutti gli spettri in Fig. 15 sono caratterizzati dalla presenza del netto segnale dei RLU a un fattore-g=2.00 e dal segnale del Fe^{3+} a un fattore-g=4.2 di intensità variabile e già precedentemente descritti, mentre assente risulta la larga risonanza a $g \approx 2$, dove compare invece una struttura iperfine che sarà discussa dettagliatamente nella sezione che segue.

Lo spettro ESR dell'AU da fungo (Fig. 15a) è caratterizzato inoltre da due deboli segnali a bassi valori di campo con g=8.8 e g=5.8, a volte osservati negli spettri ESR delle SU, comunemente attribuiti a ioni Fe^{3+}, rispettivamente, in siti a simmetria quasi ortorombica e in forti campi cristallini a simmetria assiale (Cheshire et al., 1977; Abdul-Halim et al., 1981; Senesi et al., 1985d, 1987e). Filip et al. (1985) suggerirono che gli ioni Fe^{3+} responsabili di quest'ultimo segnale fossero legati a 4 atomi di azoto in una configurazione planare, probabilmente derivata da una struttura residua di clorofilla incorporata nella macromolecola umica e particolarmente adatta alle caratteristiche geometriche e chimiche dello ione Fe^{3+} che avrebbe rimpiazzato lo ione Mg^{2+}.

5.2. Complessi del Rame (II)

Come si è già notato nel precedente paragrafo, tutti gli spettri in Fig. 15 appaiono caratterizzati da una struttura iperfine centrata in torno a $g \approx 2$, che può essere meglio interpretata analizzando gli spettri ESR ingranditi di questa regione, misurati per campi di scansione di 2000 Gauss (Fig. 16).

Gli spettri sono anisotropici e di tipo "assiale", cioè costituiti da un segnale più intenso e non risolto a un campo più alto ($g_\perp$) e da un segnale meno intenso e risolto in un quadrupletto, solo in parte evidente, a un campo più basso ($g_\parallel$), che corrispondono all'asse principale di simmetria della molecola orientato, rispettivamente, in direzione perpendicolare o parallela rispetto alla direzione del campo magnetico esterno. Questo tipo di spettro ESR, spesso osservato per le SU, è attribuito a ioni Cu^{2+} con l'elettrone spaiato in uno stato fondamentale $d_{x^2-y^2}$, legati sotto forma di complessi "interni" alla molecola umica con leganti disposti in coordinazione quadrato-planare (ottaedro distorto) intorno allo ione centrale (simmetria tetragonale)(Goodman e Cheshire, 1973, 1976; Cheshire et al., 1977; Lakatos et al., 1977; McBride, 1978; Bresnahan et al., 1978; Abdul-Halim et al., 1981; Boyd et al., 1981, 1983; Schnitzer e Ghosh, 1982; Senesi e Sposito, 1984; Senesi et al., 1985d, 1987a; Filip et al., 1985). Poichè lo spin nucleare dei due isotopi del rame, ^{63}Cu e ^{65}Cu, vale I=3/2, lo spettro dovrebbe essere

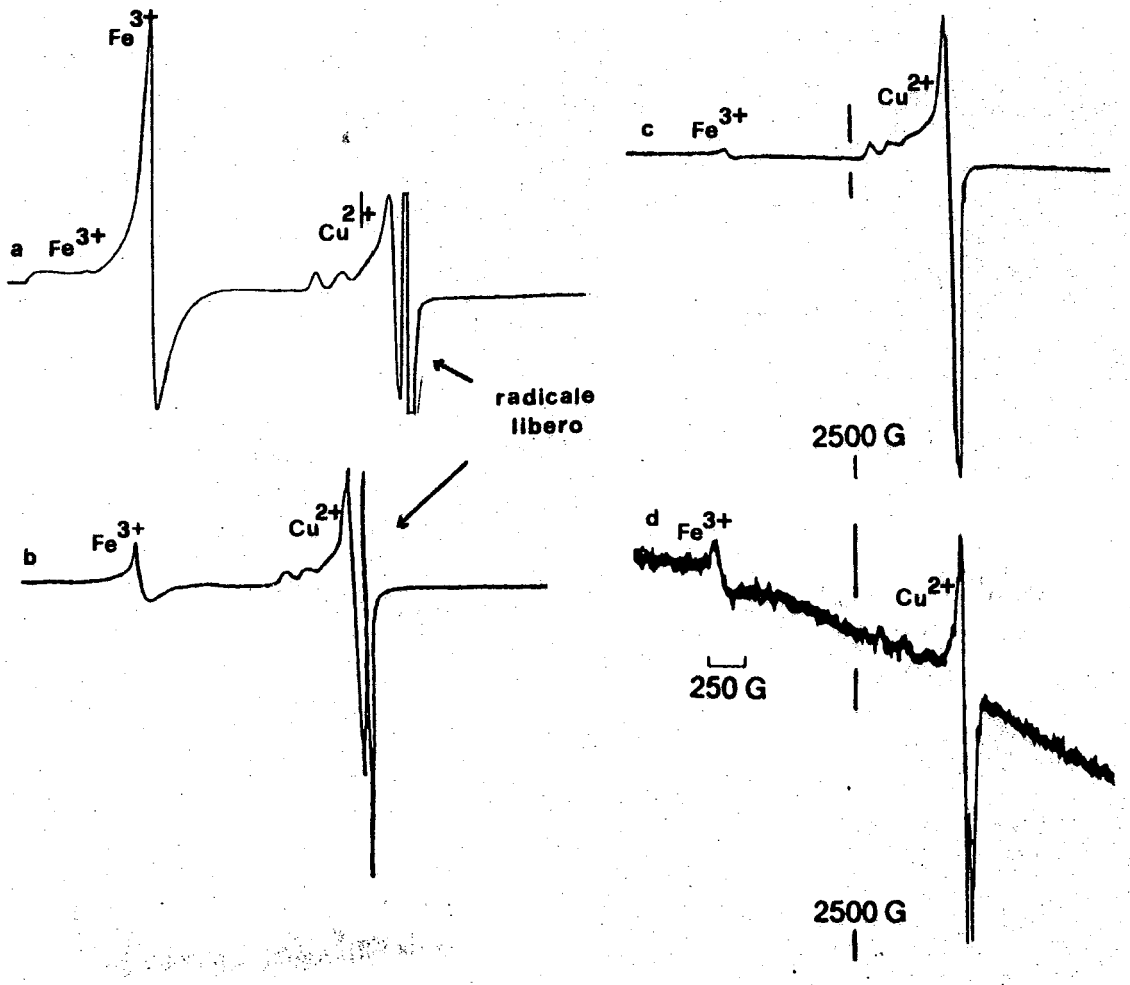


FIGURA 15. Spettri ESR, ottenuti a 77 K per campi di scansione di 8000 Gauss per un AU da E. echinulatum (a), un AU da paleosuolo (b), un AF da terreno (c) e un AF da fango di depurazione (d), tutti allo stato solido (da Senesi et al., 1987e; Senesi e Calderoni, 1988; Senesi e Sposito, 1984).

strutturato in 2I+1=4 segnali (vedi anche Fig. 5), sia a $g_{||}$, come in realtà appare, che a $g_{\perp}$, generalmente non risolto.

L'analisi accurata degli spettri in Fig. 16 mette in evidenza la presenza in alcuni di essi di due (Fig. 16b) o tre (Fig. 16a e 16d) quadrupletti sovrapposti a $g_{||}$, che sono da attribuire a differenti tipi di ligandi per lo ione Cu^{2+} nella molecola umica. L'analisi dei parametri ESR calcolati dagli spettri sperimentali in Fig. 16 e riferiti in Tabella 4, oltre ad indicare un elevato carattere covalente del legame nei complessi Cu^{2+}-SU, consente di individuare con un buon margine di approssimazione i tipi di atomi ligandi impegnati nei diversi siti di coordinazione (principale e secondari) dalla molecola umica nel complessare gli ioni Cu^{2+} (Tabella 4, ultima colonna). Tra i principali gruppi

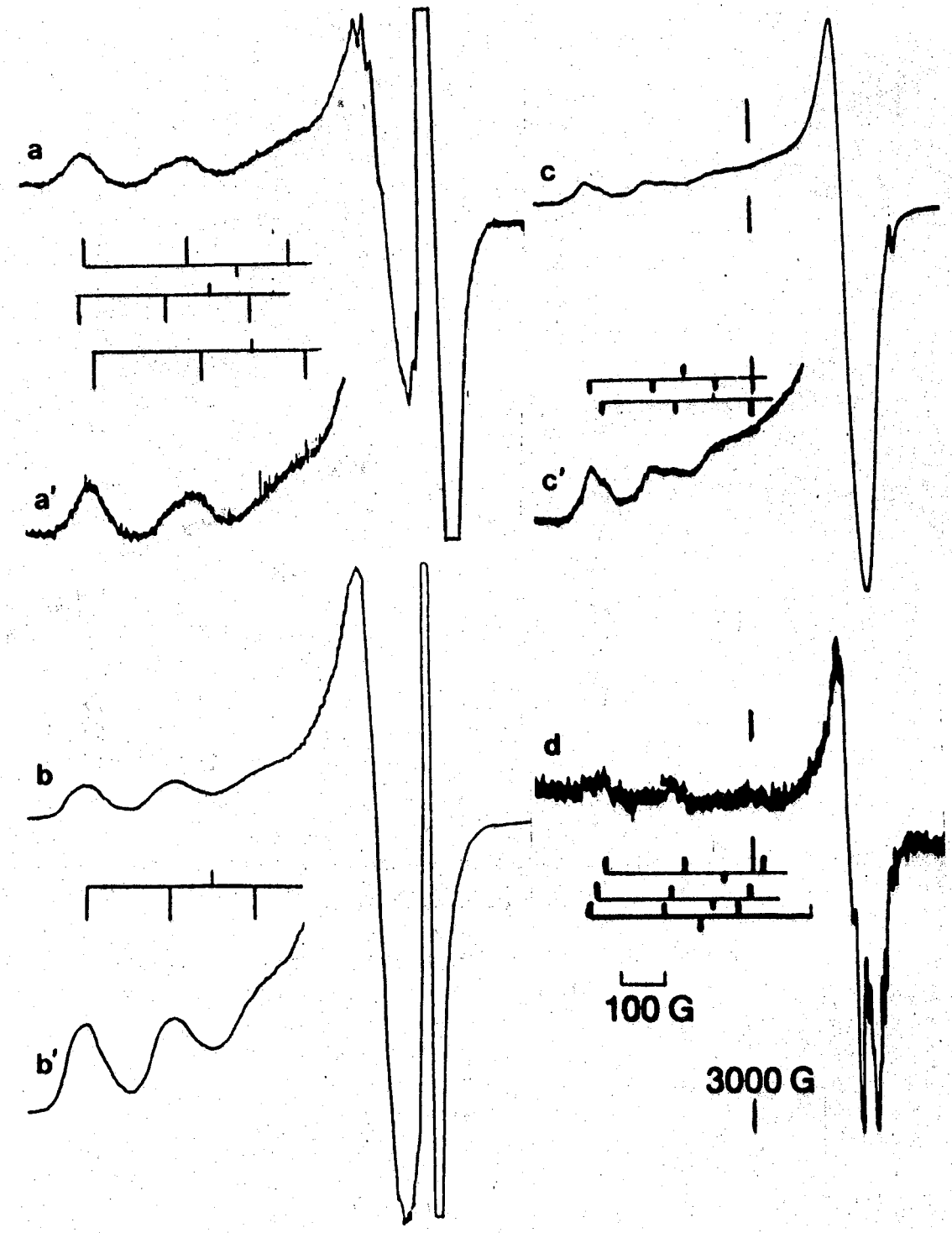


FIGURA 16. Spettri ESR, ottenuti a 77 K per campi di scansione di 2000 Gauss per un AU da E. echinulatum (a, a'), un AU da paleosuolo (b, b'), un AF da terreno (c, c') e un AF da fango di depurazione (d), tutti allo stato solido (da Senesi et al., 1987e; Senesi e Calderoni, 1988; Senesi e Sposito, 1984).

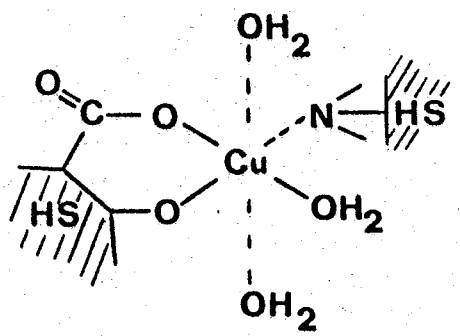
Tabella 4. Parametri spettrali ESR per complessi indigeni naturali tra ioni Cu^{2+} e sostanze umiche (acidi umici e acidi fulvici) di varia origine e natura (da Senesi e Sposito, 1984; Senesi et al., 1985d, 1987e; Senesi e Calderoni, 1988).

Campioni e Origine	Stato di aggregaz.	$g_{\parallel}$	$\lvert A_{\parallel}\rvert$ (10^{-4} cm^{-1})	$g_{\perp}$	Atomi ligandi
AU, terreno	solido	2.269	180	2.070	2 O, 2 N
AU, fungo	solido	2.242*	190	2.058	1 O, 3 N
		2.283	164		3 O, 1 N
		2.226	196		1 O, 3 N
AU, paleosuolo	solido	2.282	176	2.063	3 O, 1 N
AF, terreno	soluz.	2.344*	158	2.074	4 O
	a 77 K	2.291	180		3 O, 1 N
AF, fango	soluz.	2.297*	184	2.067	3 O, 1 N
	a 77 K	2.314	182		4 O
		2.270	187		2 O, 2 N

* risonanza principale

funzionali ossigenati impegnati dalla molecola umica nella complessazione dello ione Cu^{2+} sono stati suggeriti i gruppi carbossilici, ossidrili fenolici e carbonili, ed eventualmente molecole d'acqua. La partecipazione di ligandi azotati alla coordinazione del rame appare anche particolarmente importante soprattutto nel caso degli AU da fanghi urbani e di origine fungina, che risultano, d'altra parte, particolarmente ricchi di componenti proteici. Una tale valutazione appare confermata dall'analisi della struttura superiperfine della risonanza a $g_{\perp}$ osservata in alcuni casi, come ad esempio nello spettro in Fig. 16d. Tale struttura può essere infatti attribuita all'accoppiamento dell'elettrone spaiato dello ione Cu^{2+} con due nuclei di atomi ligandi di azoto equivalenti (I_N=1)(vedi sezione 2).

Un modello di complesso Cu^{2+}-AU è mostrato di seguito:



(16)

Ulteriori, utili informazioni chimico-strutturali possono essere ottenute in alcuni casi dagli spettri ESR. Per esempio, i parametri ESR di uno dei complessi Cu^{2+}-AU di origine fungina (Tabella 4) bene si accordano con i tipici parametri ESR del complesso enzimatico Cu^{2+}-laccasi, il che suggerirebbe una probabile incorporazione di frammenti enzimatici contenenti ioni Cu^{2+} nel polimero umico prodotto dall'E. echinulatum (Senesi et al., 1987e). E' ben noto infatti che questo fungo secerne laccasi per l'ossidazione e la polimerizzazione di unità fenoliche durante la sintesi del polimero umico (Saiz Jimenez, 1985). L'associazione con l'AU conferirebbe all'enzima una notevole stabilità e lo proteggerebbe nei confronti di microorganismi potenzialmente degradativi, a differenza degli enzimi solubili che sarebbero invece rapidamente degradati, denaturati o comunque inattivati nel suolo (Martin et al., 1976).

L'analisi di strutture superiperfini a $g_{\perp}$ negli spettri ESR di alcuni AU isolati da torbe e terreni minerali indicava l'esistenza di complesi Cu^{2+}-tetraporfirinici molto resistenti al trattamento acido (Goodman e Cheshire, 1976; Cheshire et al., 1977; Abdul-Halim et al., 1981). Questi risultati portarono ad ipotizzare che strutture porfiriniche molto stabili, originate da unità di clorofilla e incorporate nell'AU durante i processi di umificazione, potessero partecipare attivamente alla fissazione del rame da parte delle SU nelle torbe e nei terreni.

Lo spettro ESR mostrato in Fig. 17, misurato a 77 K e per un campo scansione di 2000 Gauss su una soluzione congelata a 77 K di complessi preparati in laboratorio tra Cu^{2+} e AF da fango urbano di depurazione (rapporto molare Cu/AF=0.8/1) (Senesi et al., 1985b), rappresenta un tipico esempio di spettro molto ben risolto e strutturato, suscettibile di analisi e di interpretazione molto accurata, in grado di fornire informazioni molto utili sulla struttura chimica e geometrica di complessi modello Cu^{2+}-SU. Lo spettro è costituito da tre diverse componenti, ciascuna risolta in un quadrupletto a $g_{\parallel}$ con coppie di picchi molto vicini attribuibili all'accoppiamento iperfine dell'elettrone spaiato con i nuclei dei due isotopi del rame, ^{63}Cu e ^{65}Cu. I parametri ESR calcolati per le due componenti più intense sono consistenti con siti di coordinazione che impegnano 4 atomi ligandi ossigeno, ovvero 2 atomi di ossigeno e 2 atomi di azoto della molecola umica, mentre quelli della componente meno intensa indicherebbero un sito più ricco di azoto (1 O, 3 N) per la coordinazione dello ione Cu^{2+}. La intensa strutturazione a $g_{\perp}$ fu tentativamente analizzata come costituita da due gruppi di cinque righe ciascuno con $|A_{\perp}^{14}N| = 20.10^{-4}$ cm^{-1}, e attribuita all'accoppiamento superiperfine dell'elettrone spaiato del Cu^{2+} con due nuclei di atomi di azoto ligandi equivalenti.

5.3. Complessi del Vanadile (II)

Lo spettro ESR presentato in Fig. 18 (Senesi et al.,1989b), misurato per un campo di scansione di 8000 Gauss e a t=77 K su un campione solido in

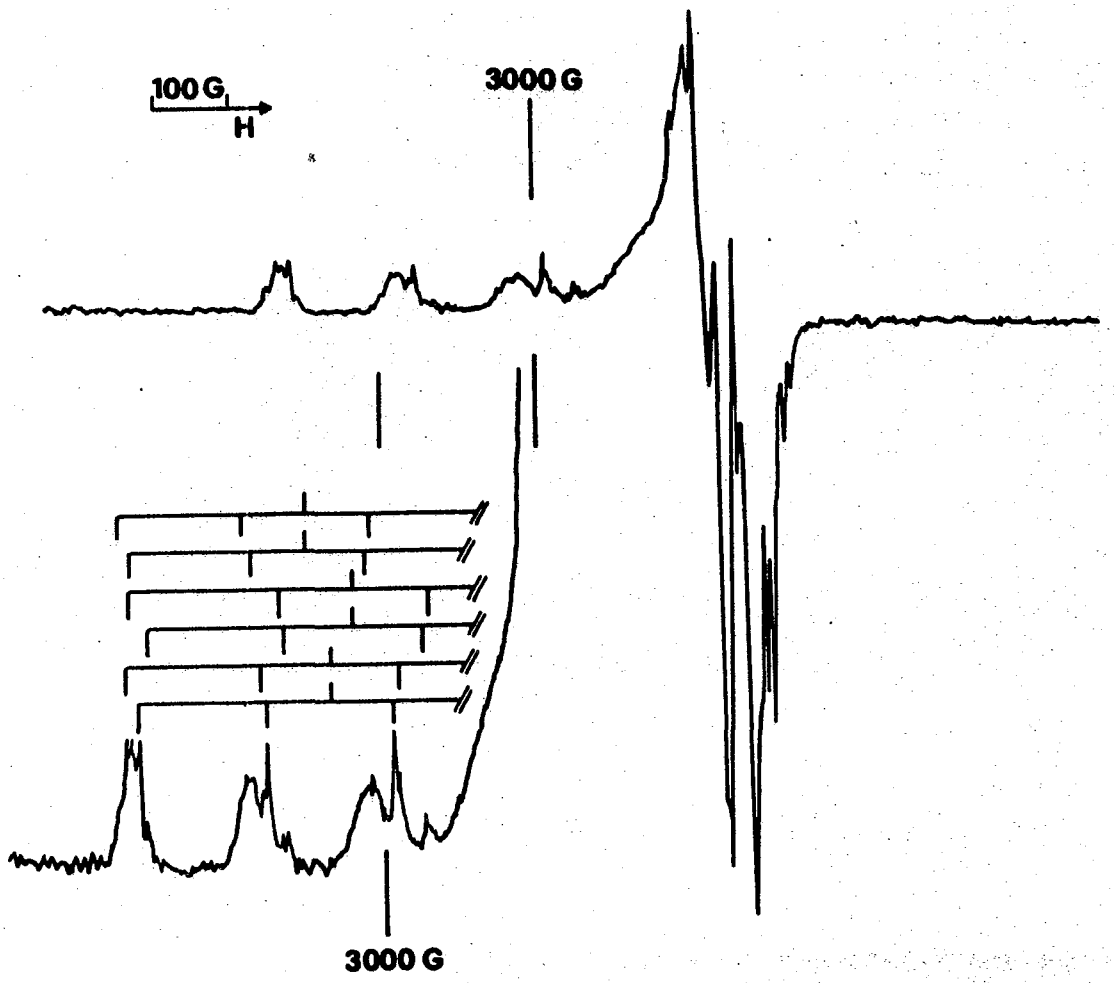


FIGURA 17. Spettro ESR di complessi Cu^{2+}-AF da fango (rapporto molare Cu/AF=0.8/1), ottenuto a t=77 K per campo di scansione di 2000 Gauss su una soluzione concentrata e congelata a t=77 K dopo passaggio su resina (da Senesi et al., 1985b).

polvere di un AU da terreno coltivato, oltre alle tipiche e già discusse risonanze dello ione Fe^{3+} a g=4.2 e dei RLU a g=2.00, è caratterizzato da un tracciato apparentemente complesso, ma ben risolto, nella regione intorno a g=2, che probabilmente consiste di un certo numero di multipletti iperfini sovrapposti derivanti da più di una specie metallica. L'analisi dello spettro ingrandito della regione, misurato per un campo di 2000 Gauss (Fig. 19),consentiva di individuare due distinti "pattern" anisotropici di tipo "assiale" in parte sovrapposti. Uno di essi è chiaramente rappresentato dal già noto spettro tipico dei complessi Cu^{2+}-SU, con valori dei parametri spettrali indicanti un sito di legame per il Cu^{2+} costituito da 2 atomi di ossigeno e 2 atomi di azoto.

L'analisi del resto del tracciato ESR di questa regione consente di individuare due multipletti iperfini sovrapposti di otto righe ciascuno, corrispondenti alle componenti perpendicolare e parallela di ioni

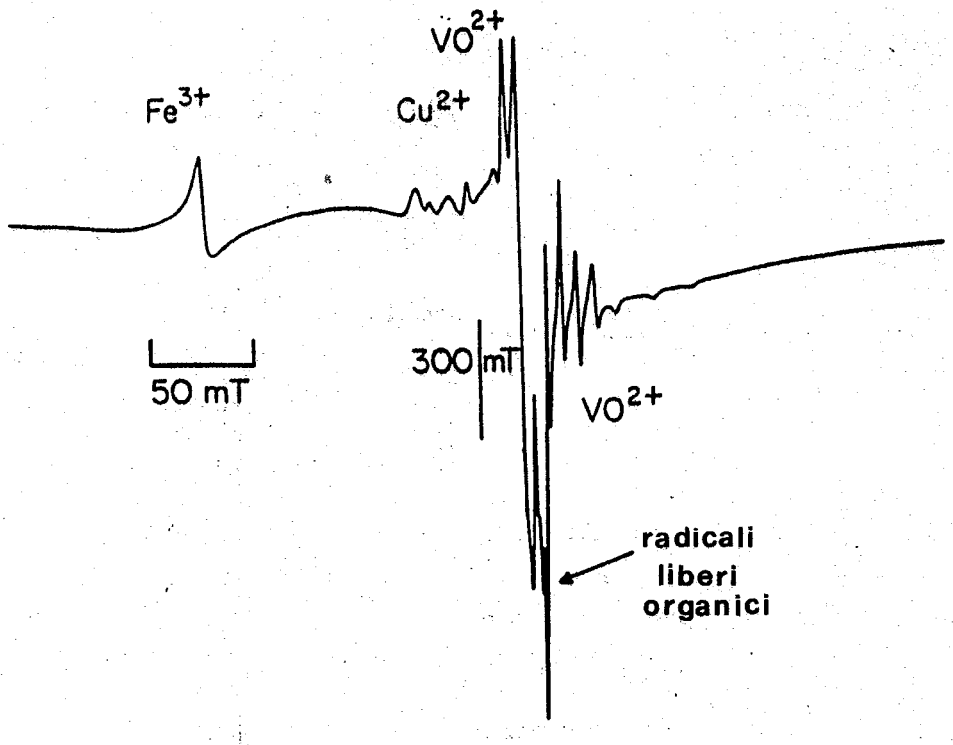


FIGURA 18. Spettro ESR a t=77 K e per un campo di scansione di 8000 Gauss di un AU da terreno, stato solido (da Senesi et al., 1989b).

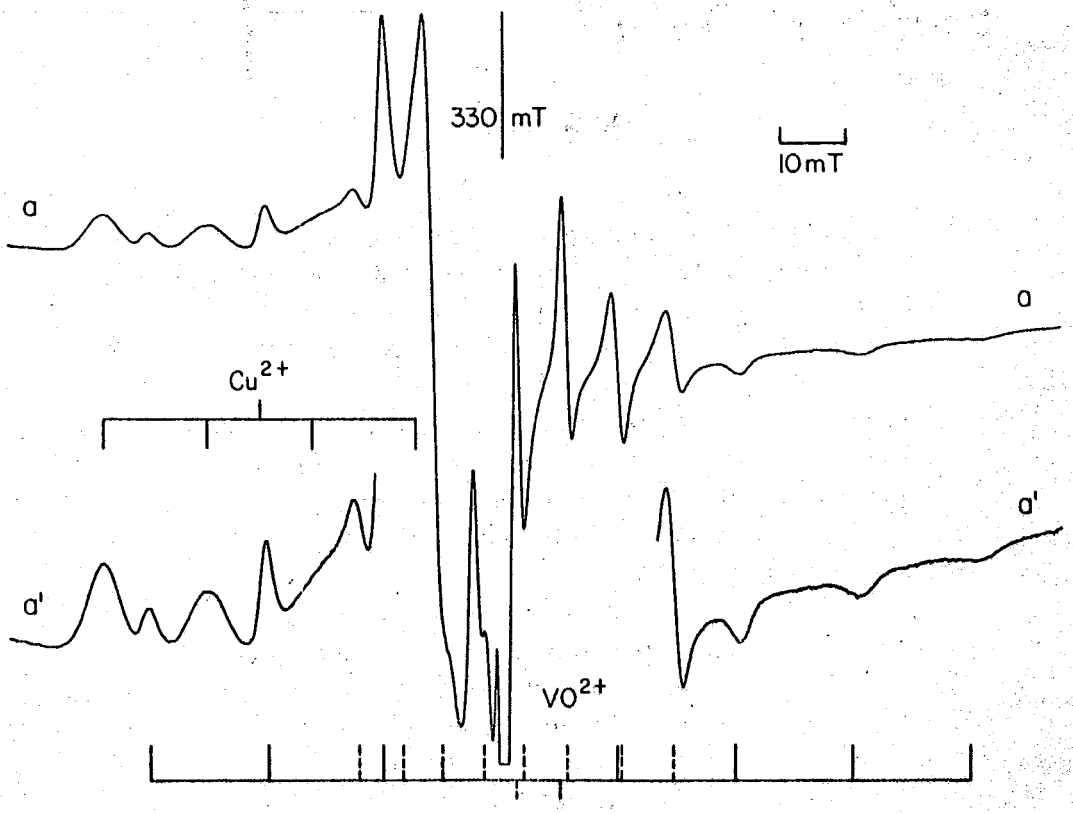


FIGURA 19. Spettro ESR dello stesso campione di Fig. 18, ma per un campo di scansione di 2000 Gauss (1 mT=10 G)(da Senesi et al., 1989b).

vanadile, VO^{2+} (spin nucleare del vanadio, I=7/2). I valori dei parametri ESR calcolati dallo spettro in Fig. 19 ($g_{||}$=1.944, $|A_{||}|$=172.10^{-4} cm^{-1}, $g_{\perp}$=1.984, $|A_{\perp}|$=68.10^{-4} cm^{-1}) indicano un debole campo legante e bassa covalenza per lo ione VO^{2+} che sarebbe legato all'AU in complessi "interni" in coordinazione planare equatoriale circondato da 4 atomi ligandi di ossigeno di gruppi carbossilici dell'AU e in parte da molecole di acqua (McBride, 1978; Templeton e Chasteen, 1980; Abdul-Halim et al., 1981; Senesi et al., 1985d, 1987e, 1989b). Lo ione vanadile legato all'AU del suolo risulta pertanto presente in forme relativamente labili e facilmente scambiabili (Senesi et al., 1985d, 1987e, 1989b). Alcuni autori hanno comunque riscontrato forme di vanadio più stabili in AU da torbe e AF da terreno attraverso l'analisi in ESR che indicava siti di coordinazione misti, ossigenati e azotati, per lo ione VO^{2+} (Cheshire et al,1977)

La spettroscopia ESR è stata anche utilizzata per misurare le costanti di stabilità e la stechiometria dei complessi VO^{2+}-AF da terreno, nonchè i pesi molecolari approssimati degli AF allo studio, in combinazione con la gel-cromatografia (Templeton e Chasteen, 1980).

I dati dell'analisi ESR hanno anche confermato la capacità delle SU a ridurre lo ione vanadato, VO_3^-, che è la forma di vanadio più stabile nelle condizioni tipiche del suolo, a ione VO^{2+} in mezzo acido e quindi a complessarlo più o meno estesamente proteggendolo così dall'ossidazione in mezzo alcalino, dove la forma vanadile è termodinamicamente instabile (Lakatos et al., 1977; Cheshire et al., 1977; Wilson e Weber, 1979; McBride, 1980). I dati ESR indicavano inoltre gruppi catecolo nella SU quali i principali responsabili della riduzione del VO_3^- a VO^{2+} (Templeton e Chasteen, 1980).

5.4. Complessi del Manganese (II)

La Fig. 20a mostra lo spettro ESR misurato per un campo di scansione di 8000 Gauss e a t=77 K di un materiale di lettiera di foglie di castagno in via di decomposizione (Senesi e Sposito, 1989). Lo spettro risulta caratterizzato, oltre che dalle più volte citate risonanze degli ioni Fe^{3+} a g=4.2 e dei RLU a g=2.00, da un tracciato isotropico ben risolto composto da sei righe principali equidistanti e dieci righe secondarie di minore intensità, come appare più evidente dallo spettro ingrandito della regione (campo di scansione, 1000 gauss) mostrato in Fig. 21. I valori dei parametri ESR calcolati da quest'ultimo spettro (g_{iso}=2.005 e A_{iso}=88.10^{-4} cm^{-1}) sono consistenti con ioni Mn^{2+} (spin nucleare del Mn, I=5/2) esaidratati. Ciò suggerirebbe complessi "esterni" dello ione Mn^{2+} che, trattenendo la sua sfera di idratazione interna, si legherebbe con forze di natura prevalentemente elettrostatica a sei atomi di ossigeno ligandi, forniti da gruppi funzionali carbossilato e fenolato del materiale organico costituente la lettiera, in un sito a simmetria ottaedrica distorta (Senesi e Sposito, 1989). Le risonanze dello ione Mn^{2+} scompaiono nello spettro ESR misurato dopo intenso trattamento acido (scambio protonico) del materiale di lettiera (Fig. 20b), il che in

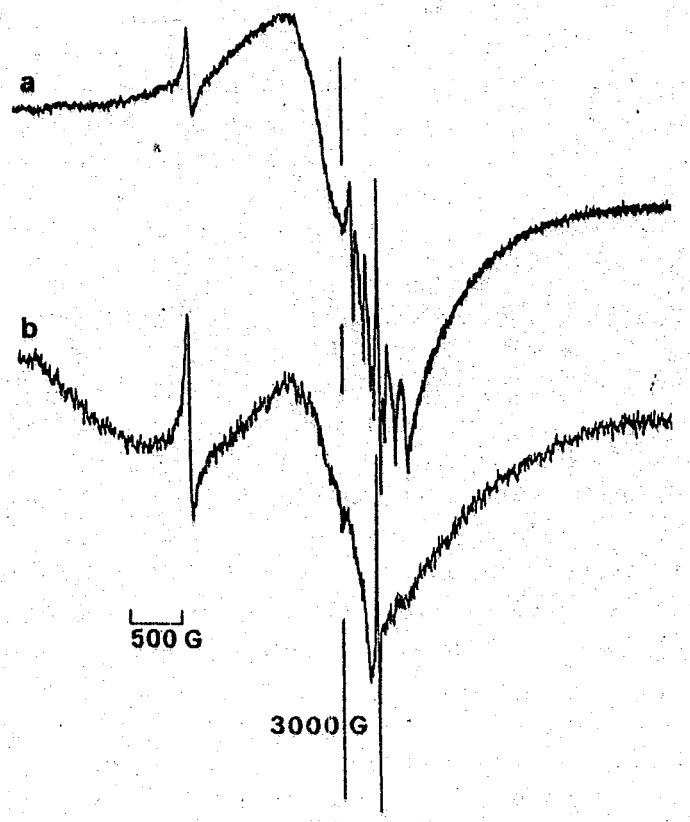


FIGURA 20. Spettri ESR di materiale di lettiera di foglie di castagno in decomposizione (a) e dopo intenso dilavamento acido (b), ottenuti a t=77 K e per un campo di scansione di 8000 Gauss (Senesi e Sposito, 1989).

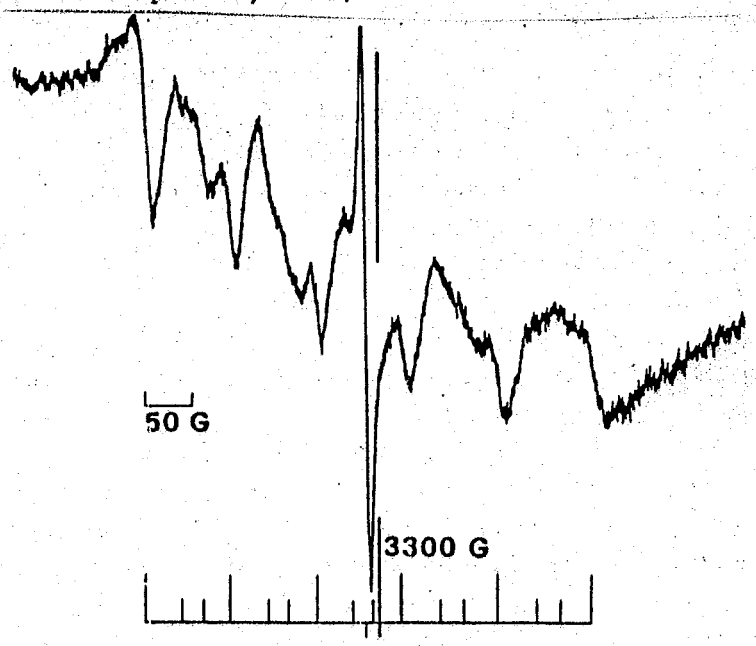


FIGURA 21. Spettro ESR dello stesso campione di Fig. 20a, ma per un campo di scansione di 1000 Gauss (da Senesi e Sposito, 1989).

dica la labilità dei legami di associazione del Mn^{2+} a questi materiali e la relativa facilità della sua rimozione.

Spettri simili, indicanti la presenza di complessi del Mn^{2+}, sono anche stati osservati per lettiere forestali di altra origine (Senesi et al., 1989) e, seppur meno risolti e sovrapposti ad altri segnali ESR, per AU isolati da terreni coltivati (Cheshire et al., 1977) e terreni torbosi (Abdul-Halim et al., 1981).

Alcuni autori (Lakatos et al., 1977) hanno misurato parametri ESR indicanti la presenza in alcuni AU da torbe di complessi "interni" del Mn^{2+}, coordinati in siti ottaedrici con sei gruppi funzionali ossigenati dell'AU, tra cui carbossili, ossidrili fenolici e carbonili. I risultati di un altro studio ESR (McBride, 1982c) indicherebbero poi che la maggior parte del Mn^{2+} sarebbe legato alle SU del suolo in complessi "esterni" labili a bassi valori del pH, mentre, all'aumentare del pH e della temperatura, una frazione crescente di ioni Mn^{2+} si legherebbe alla SU sotto forma di complessi "interni" più stabili.

La spettroscopia ESR è stata anche applicata con successo per la determinazione delle costanti di equilibrio di complessi Mn^{2+}-AF (Gamble et al., 1977). Sulla base dei risultati ESR, questi autori suggerirono inoltre che ioni Mn^{2+} esaidrati fossero legati a gruppi donatori dell'AF simultaneamente con forze elettrostatiche deboli e legami a idrogeno, in siti asimmetrici di complessi "esterni", risultando pertanto più disponibili per le piante e i microorganismi che non il Mn^{2+} in forme chelate.

5.5. Complessi del Molibdeno (V) e Molibdeno (III)

L'analisi in spettroscopia ESR ha anche dimostrato che l'AU di una torba era capace di ridurre, in ambiente fortemente acido, il molibdato a Mo(V) e di complessare il Mo(V) (Lakatos et al., 1977; Goodman and Cheshire, 1982). Lo spettro ESR misurato a temperatura ambiente per un complesso AU-Mo(V) arricchito artificialmente dell'isotopo ^{95}Mo (I=5/2) era caratterizzato da due componenti ben risolte, ciascuna costituita da strutture iperfini a sei righe a $g_{\parallel}$ e $g_{\perp}$, con parametri ESR consistenti con due tipi diversi di complessi Mo(V)-AU, di simmetria assiale (Goodman and Cheshire, 1982) (Fig. 22).

Lavando con HCl 0.1 M il complesso AU-Mo(V) si otteneva un prodotto caratterizzato da uno spettro ESR a sei righe interpretato come derivante da specie Mo(III) (Goodman e Cheshire, 1982) (Fig. 23). La individuazione del Mo(III) attraverso la tecnica ESR rappresenta la prima evidenza sperimentale certa della formazione di tale specie nei sistemi naturali e della sua stabilità anche in condizioni aerobiche allorchè protetta sotto forma di complessi con le SU.

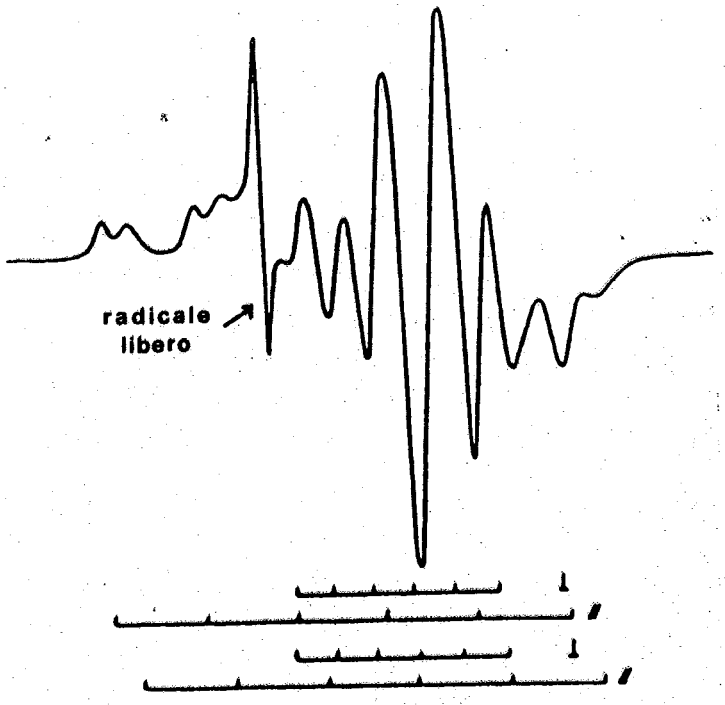


FIGURA 22. Spettro ESR a temperatura ambiente di complessi AU-Mo(V) arricchiti in ^{95}Mo (da Goodman e Cheshire, 1982).

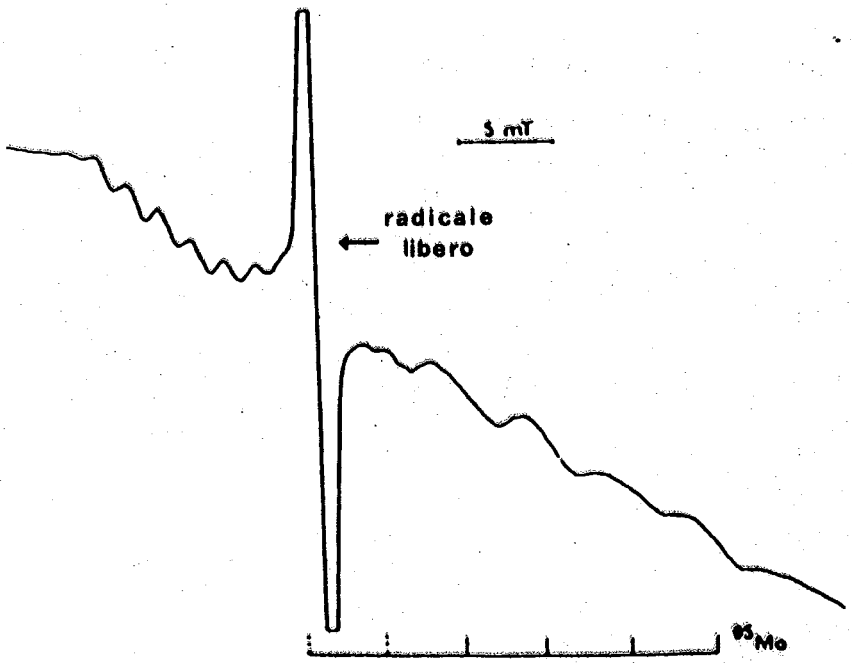


FIGURA 23. Spettro ESR a temperatura ambiente del complesso AU-Mo(III) nell'au arricchito in ^{95}Mo(V) (da Goodman e Cheshire, 1982).

5.6. Variazioni Indotte negli Spettri ESR di Sostanze Umiche da Modificazioni nelle Condizioni del Suolo

La spettroscopia ESR si è dimostrata un valido mezzo capace di fornire utili e originali informazioni, di valido supporto ad altri metodi e tecniche analitiche, nello studio delle modificazioni che possono intervenire nella struttura e nelle proprietà della frazione umo-metallica del suolo in seguito all'ammendamento dello stesso per un numero crescente di anni con dosi variabili di fanghi urbani di depurazione compostati (Senesi et al., 1989). La Fig. 24 mostra gli spettri ESR di AU isolati da un terreno non ammendato (Fig. 24a) e dallo stesso terreno ammendato per 7 anni consecutivi con 22.5 (Fig. 24b), 45 (Fig. 24c) e 90 (Fig.24d) ton/ha/anno di fanghi.

Appaiono evidenti variazioni nell'intensità relativa dei segnali di risonanza già noti e corrispondenti ai complessi Fe^{3+}-, Cu^{2+}- e VO^{2+}-AU in funzione delle quantità totali di fango applicate al terreno. In particolare, si nota un progressivo aumento dell'intensità dei segnali ESR del Cu^{2+}-AU e, seppure in minore entità, del Fe^{3+}-AU, relativamente al segnale del VO^{2+}-AU, che invece cala di intensità lungo la sequenza considerata.

L'andamento degli spettri ESR conferma le variazioni osservate nei corrispondenti spettri all'infrarosso e nei valori dei contenuti totali di Fe, Cu e V misurati nei campioni (Senesi et al., 1989). In definitiva, appare evidente che, all'aumentare dell'apporto di metalli al suolo con l'applicazione di dosi crescenti di fanghi, gli ioni Cu^{2+} e Fe^{3+} sono complessati in misura crescente dall'AU, mentre ioni metallici legati in forme più labili, come ad esempio il VO^{2+}, sono via via rimpiazzati dai loro siti di adsorbimento man mano che la disponibilità di siti liberi nell'AU diminuisce.

Tra le varie informazioni che l'analisi ESR di questi campioni può fornire (Senesi et al., 1989), appare importante menzionare la osservata tendenza dei valori dei parametri ESR, $g_{\parallel}$ $|A_{\parallel}|$, dei complessi Cu^{2+}-AU a diminuire e ad aumentare, rispettivamente, lungo la sequenza. Un tale risultato è indice di un crescente coinvolgimento di gruppi funzionali azotati dell'AU nella complessazione del Cu^{2+}, al crescere della quantità di fango apportato al terreno, come è altresì confermato dall'arricchimento in azoto nell'AU riscontrato con altri metodi, e probabilmente dovuto alla crescente incorporazione nell'AU originale di materiali proteici apportati dai fanghi.

5.7. Studi in ESR degli Effetti di Ioni Metallici in Soluzione sui Complessi Umo-Metallici Indigeni della Sostanza Umica

La spettroscopia ESR è stata ampiamente usata per studiare gli effetti provocati dall'interazione con soluzioni di ioni metallici sui complessi umo-metallici indigeni del suolo e di altri sistemi ad esso collegati, nonchè la natura e le proprietà chimiche dei complessi umo-metallici

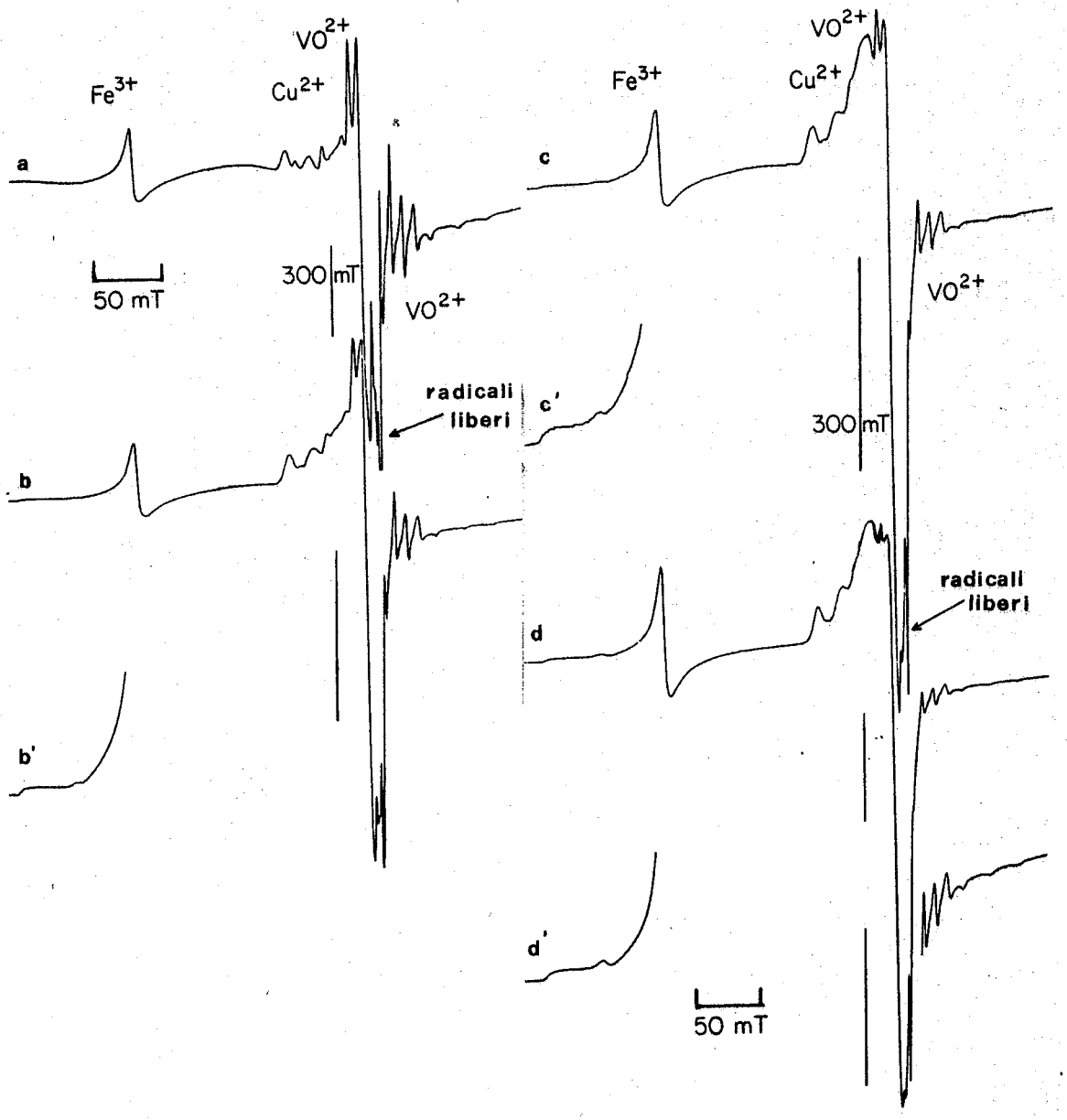


FIGURA 24. Spettri ESR misurati a t=77 K e per un campo di scansione di 8000 Gauss (1 mT=10 G) di un AU da terreno non ammendato (a, e AU dallo stesso terreno ammendato con fanghi urbani di depurazione per 7 anni consecutivi alle dosi di 22.5 (b, b'), 45 (c, c') e 90 (d, d') ton/ha/anno (Senesi et al., 1989).

modello preparati in laboratorio. Ciò allo scopo di: (a) valutare la capacità complessante residua delle varie SU e materiali simili nei confronti di ioni metallici paramagnetici, quali Fe^{3+}, Cu^{2+} e Mn^{2+}; (b) stimare la stabilità dei complessi umo-metallici, sia indigeni all'AU che di sintesi di laboratorio, nei confronti di alcuni trattamenti, quali l'intenso dilavamento con acqua e lo scambio protonico o con ioni metallici;

e, infine, (c) accertare la struttura chimica e geometrica dei complessi umo-metallici stabili nelle varie condizioni. Le informazioni ottenute dall'analisi in ESR, combinate con i risultati di analisi condotte parallelamente tramite le spettroscopie all'infrarosso e in fluorescenza e con i dati sui contenuti totali di metalli nei campioni, hanno consentito un proficuo avanzamento delle conoscenze sulla chimica, la struttura e il comportamento delle associazioni umo-metalliche nel suolo.

Come esempio di tali applicazioni, in Fig. 25 sono presentati alcuni spettri ESR relativi a un campione di AU da terreno (Fig. 25a) e i suoi prodotti di interazione ottenuti in laboratorio in seguito a trattamento a saturazione con soluzioni concentrate di ioni Cu^{2+} (Fig. 25b e $25b_1$), ioni Mn^{2+} (Fig. 25c e $25c_1$) e ioni $Cu^{2+}+Mn^{2+}+Fe^{3+}$ simultaneamente (Fig. 25d e $25d_1$). Le due serie di spettri si riferiscono ai prodotti lisciviati con acqua (Fig. 25b, c, d), ovvero con HCl 0.1 M (Fig. $25b_1$, c_1, d_1), dopo l'interazione (Senesi et al, 1989b).

Gli spettri in Fig. 25b e 25c sono caratterizzati dalla presenza di un largo e intenso segnale sovrapposto al tracciato iperfine originariamente presente (Fig. 25a) nella regione intorno a g=2, risultante verosimilmente da estese interazioni di spin tra elettroni spaiati di ioni paramagnetici (Cu^{2+} e Mn^{2+}) molto vicini tra loro. In seguito a trattamento acido, gli spettri ESR sono caratterizzati dalla parziale ricomparsa dei segnali del Fe^{3+}, del VO^{2+} e dei RLU, dalla evidente presenza dei segnali del Cu^{2+} (Fig. $25b_1$) e dalla completa scomparsa dei segnali del Mn^{2+} (Fig. $25c_1$). Entrambi gli spettri di Fig. 25d e $25d_1$ sono invece dominati dalla presenza di un intenso segnale a g=4.2 e da una risonanza meno intensa a g=8.5, entrambi tipici degli ioni Fe^{3+}.

I risultati dell'analisi ESR, innanzi brevemente descritti e confermati dagli andamenti degli spettri infrarossi e dai valori dei contenuti in metalli totali dei corrispondenti campioni, indicano che l'AU originale possiede un'elevata capacità residua di adsorbimento e ritenzione nei confronti di ognuno dei tre ioni metallici con cui ha interagito, dimostrandosi capace di complessarne elevate quantità in forme stabili all'intenso dilavamento con acqua, nell'ordine: Fe > Cu > Mn. I risultati ottenuti dimostrano inoltre che, mentre i complessi sia indigeni che di neo-formazione Fe^{3+}-AU sono parzialmente resistenti allo scambio protonico e con ioni metallici, gli ioni Cu^{2+} e Mn^{2+} sono invece desorbiti quasi completamente in queste condizioni. I valori dei parametri ESR indicano infine che, nonostante i diversi trattamenti subiti, sia i complessi umo-metallici indigeni che di neo-formazione sono caratterizzati da strutture chimiche e geometriche simili a quelle dei complessi umo-metallici indigeni dell'AU originario.

Come altro esempio, nelle Fig. 26 e 27 sono presentati gli spettri ESR misurati rispettivamente per campi di scansione di 8000 e 2000 gauss su estratti acquosi congelati (a 77 K) a pH=6 di materiale di lettiera forestale di foglie di castagno e di una miscela approssimativamente equimolare Cu^{2+}-estratto acquoso di lettiera (Sposito et al., 1988).

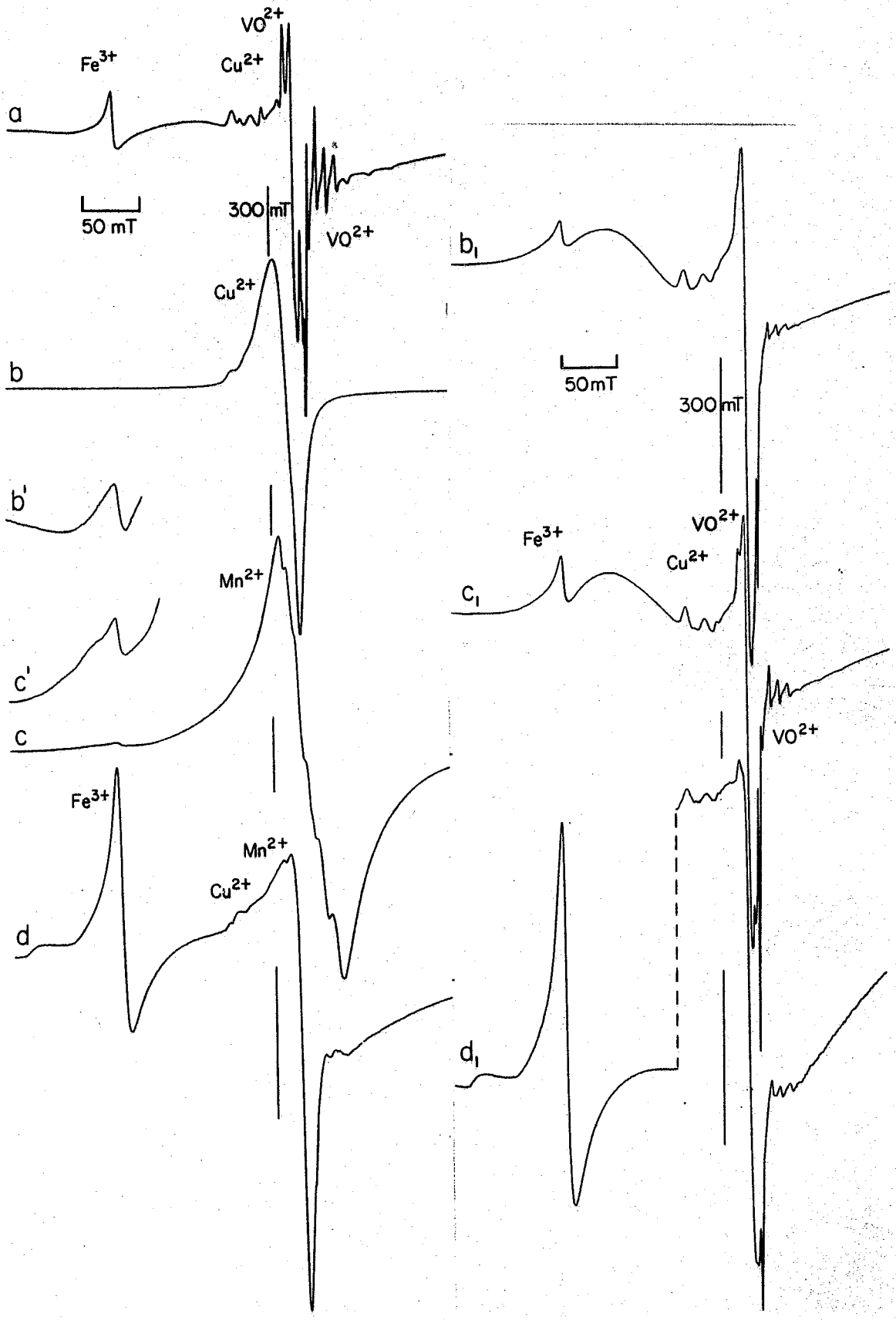


FIGURA 25. Spettri ESR (t=77 K, campo 8000 Gauss) per un AU da terreno (a) e suoi prodotti di interazione con Cu^{2+} (b e b_1), Mn^{2+} (c e c_1) e $Cu^{2+}+Mn^{2+}+Fe^{3+}$ (d e d_1)(Senesi et al., 1989b).

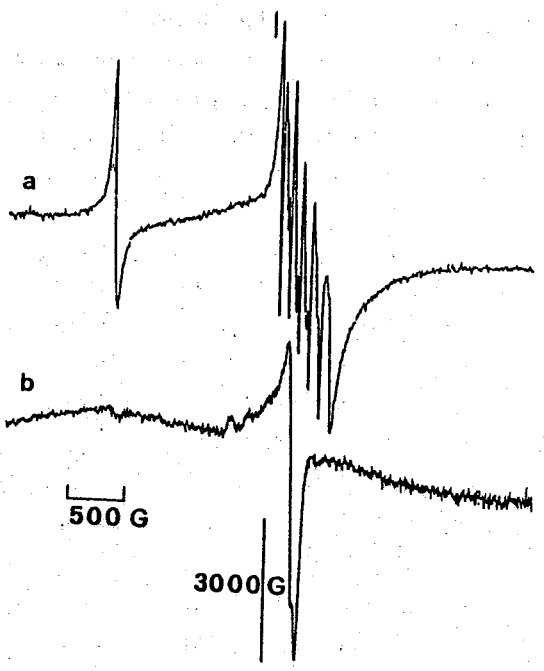


FIGURA 26. Spettri ESR dell'estratto acquoso di una lettiera di castagno (a) e del suo prodotto di interazione con ioni Cu^{2+} (b), misu ti a t=77 K e per campo di scansione 8000 Gauss 5sposito et al., 1988).

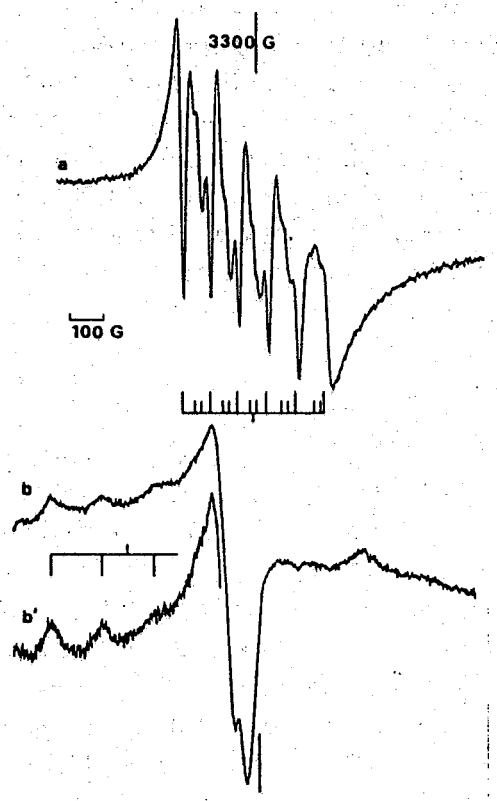


FIGURA 27. Spettri ESR dei campioni in Fig. 26, ma misurati per un campo di scansione di 2000 Gauss (Sposito et al., 1988).

Dal confronto tra i due spettri risulta evidente che il prodotto di interazione tra ioni Cu^{2+} e lettiera è caratterizzato dalla scomparsa del segnale ESR del Fe^{3+} a g=4.2 e del sestupletto iperfine isotropico del Mn^{2+} centrato intorno a g=2 e dalla comparsa del tipico tracciato anisotropico degli ioni Cu^{2+}. Ciò indica pertanto che gli ioni Cu^{2+} sono capaci di spostare sia ioni Fe^{3+} che Mn^{2+} dai siti di legame della lettiera formando complessi "interni" stabili con i gruppi funzionali della stessa. I parametri ESR calcolati dagli spettri ottenuti a pH 6 e 7 ($g_{\parallel}$=2.290, $|A_{\parallel}|$=178.10^{-4} cm^{-1}, $g_{\perp}$=2.066) indicherebbero il Cu^{2+} coordinato da 3 atomi ligandi di ossigeno e 1 azoto, mentre siti di legame completamente ossigenati, probabilmente coinvolgenti anche molecole di acqua, parteciperebbero alla coordinazione del Cu^{2+} a valori di pH più bassi (4 e 5).

6. ESTENSIONI E FUTURE APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA ESR

Nell'opinione dell'autore, future applicazioni della spettroscopia ESR sarebbero auspicabili nell'approfondimento ed estensione degli studi sul ruolo che i radicali liberi umici possono svolgere: in generale, nei processi redox ad elettrone singolo nei sistemi chimici e biologici del terreno; negli effetti fisiologici delle SU sulla germinazione dei semi, sull'accrescimento radicale e sullo sviluppo vegetale in genere; nelle proprietà elettron donatore-accettore e nella capacità a formare complessi a trasferimento di carica delle SU con composti organici xenobiotici (ad esempio, pesticidi); quali potenziali iniziatori e/o catalizzatori di reazioni di polimerizzazione-depolimerizzazione delle SU e, in generale, nei processi di umificazione-mineralizzazione della sostanza organica del terreno; quali inibitori e/o attivatori di altri catalizzatori organici e/o inorganici naturali nel terreno; quali mediatori nelle associazioni humus-enzima e nella attività enzimatica residua delle SU; e, infine, quali specie reattive nelle attività fotosensitizzatrici e fotodegradative esercitate dalle SU.

Nuove applicazioni dell'analisi in ESR sono suggerite nel settore di ricerca sui meccanismi e cinetiche di reazioni redox coinvolgenti SU e ioni metallici e sulle possibili correlazioni tra dati ESR e datitermodinamici (ad esempio, costanti di equilibrio) dei complessi umo-metallici, ai fini di una migliore valutazione della speciazione dei metalli in soluzione e delle forme metalliche adsorbite sulle superfici solide organiche e inorganiche del terreno.

L'uso della tecnica dello "spin-labelling" è stato suggerito per la stima della dinamica delle macromolecole umiche in soluzione, delle loro proprietà morfologiche e conformazionali e del carattere micellare, nonchè dei processi di adsorbimento-desorbimento superficiali.

La tecnica dello "spin-trapping" poi potrebbe trovare applicazioni nella caratterizzazione dei radicali liberi intermedi coinvolti nei meccanismi fotochimici di azione delle SU.

Infine, l'applicazione di tecniche derivate dall'ESR, quali le

spettroscopie ENDOR (Electron Nuclear Double Resonance) e Spin-Echo, potrebbe consentire la risoluzione di componenti di struttura iperfini e superiperfini, irrisolubili con la tecnica-base ESR, contribuendo a migliorare il livello e la qualità delle informazioni di carattere strutturale e molecolare sulle specie paramagnetiche presenti nelle sostanze umiche.

BIBLIOGRAFIA

Abdul-Halim, A.L., J.C. Evans, C.C. Rowlands, and J.H. Thomas. 1981. An EPR spectroscopic examination of heavy metals in humic and fulvic acid soil fractions. Geochim. Cosmochim. Acta 45: 481-487.

Abragam, A., and B. Bleaney. 1970. Electron Paramagnetic Resonance of Transition Ions. Clarendon Press, Oxford.

Atherton, N.M., P.A. Cranwell, A.J. Floyd, and R.D. Haworth. 1967. Humic acid I. ESR spectra of humic acids. Tetrahedron 23: 1653-1667.

Bijl, D., H. Kainer, and A.C. Rose-Innes. 1959. Biradical molecular compounds: A study by electron spin resonance. J. Chem. Phys. 30: 765-770.

Blois, M.S., jr., H.W. Brown, and J.E. Maling. 1961. Precision g-value measurements of free radicals of biological interest. In: Blois, M.S. jr., H.W. Brown, R.M. Lemmon, R.O. Lindlom,and M. Weissbluth, eds., pp 117-131. Free Radicals in Bilogical Systems. Academic Press, New York.

Bollag, J.M. 1983. Cross coupling of humus constituents and xenobiotic substances. In: Christman, R.F., and E.T. Gjessing, eds., pp 127-141. Aquatic and Terrestrial Humic Materials. Ann Arbor Scie., Ann Arbor,MI,USA.

Boyd, S.A., L.E. Sommers, D.W. Nelson, and D.X. West. 1981. The mechanism of copper(II) binding by humic acid.An electron spin resonance study of a copper(II)-humic acid complex and some adducts with nitrogen donors. Soil Sci. Soc. Am. J. 45: 745-749.

Boyd, S.A., L.E. Sommers, D.W. Nelson, and D.W. West. 1983. Copper(II) binding by humic acid extracted from sewage sludge: an electron spin resonance study. Soil Sci. Soc. Am. J. 47: 43-46.

Bresnahan, W.T., C.L. Grant, and J.H. Weber. 1978. Stability constants for the complexation of copper(II) ions with water and fulvic acids measured by an ion selective electrode. Anal. Chem. 50: 1675-1679.

Carrington, A., and A.D. McLachlan. 1967. Introduction to Magnetic Resonance with Applications to Chemistry and Chemical Physics. Harper and Row, New York.

Chen, Y., N. Senesi, and M. Schnitzer. 1978. Chemical and physical characteristics of humic and fulvic acids extracted from soils of the Mediterranean region. Geoderma 20: 87-104.

Cheshire, M.V., and P.A. Cranwell. 1972. Electron spin resonance of humic acids from cultivated soils. J. Soil Sci. 23: 424-430.

Cheshire, MV., M.L. Berrow, B.A. Goodman, and C.M. Mundie. 1977. Metal distribution and nature of some Cu, Mn and V complexes in humic and fulvic acid fractions of soil organic matter. Geochim. Cosmochim. Acta 41: 1131-1138.

Crosby, D.G. 1976. Non-biological degradation of herbicides in soil. In: Audus, L.J., ed., pp 65-97. Herbicides: Physiology, Biochemistry, and Ecology, Vol. 2, 2nd ed. Academic Press, New York.

Eloranta, J., and K. Hannonen. 1985. EPR parameters as a measure of the high spin Fe(III) complex of peat. Finn. Chem. Lett.: 143-145.

Eloranta, J., R. Koskinen, and P.Pohjola. 1980. EPR study on paramagnetic species appearing in peat samples from bogs in Central Finland. Finn. Chem. Lett.: 161-163.

Eltantawy, I.M., and M. Baverez. 1978. Structural study of humic acids by x-ray, electron spin resonance, and infrared spectroscopy. Soil Sci. Soc. Am. J. 42: 903-905.

Filip, Z., M.V. Cheshire, B.A. Goodman, and D.B. McPhail. 1985. The occurrence of copper, iron, zinc and other elements and the nature of some copper and iron complexes in humic substances from municipal refuse disposed in a landfill. Sci. Total Environ. 44: 1-16.

Foster, R. 1969. Organic charge-transfer complexes. Academic Press, London.

Gamble,D.S., M. Schnitzer,and D.S. Skinner. 1977. Mn(II)-fulvic acid complexing equilibrium measurements by electron spin resonance spectrometry. Can J. Soil Sci. 57: 47-53.

Goodman, B.A., and M.V. Cheshire. 1973. Electron paramagnetic resonance evidence that copper is complexed in humic acid by the nitrogen of porphyrin groups. Nature (New biology) 244: 158-159.

Goodman, B.A., and M.V. Cheshire. 1976. The occurrence of copper-porphyrin complexes in soil humic acids. J. Soil Sci. 27: 337-347.

Goodman, B.A., and M.V. Cheshire. 1982. Reduction of molybdate by soil organic matter: EPR evidence for formation of both Mo(V) and Mo(III). Nature 299: 618-620.

Hayes, M.H.B. 1970. Adsorption of triazine herbicides on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. Res. Review 32: 131-174.

Hayes, M.H.B., R.S. Swift, R.E. Wardle, and J.K. Brown. 1975. Humic materials from an organic soil: a comparison of extractants and of properties. Geoderma 13: 231-240.

Kallianou, Ch.S., and N.J. Yassoglou. 1985. Bonding and oxidation state of iron in humic complexes extracted from some greek soils. Geoderma 35: 209-221.

Khan, S.U. 1973. Equilibrium and kinetic studies of the adsorption of 2,4-D and picloram on humic acid. Can. J. Soil Sci. 53: 429-434.

Khan, S.U., and D.S. Gamble. 1983. Ultraviolet irradiation of an aqueous solution of promethryn in the presence of humic materials. J. Agric. Food Chem. 31: 1090-1104.

Lagerkrantz, C., and M. Yhland. 1962. Photo-induced electron spin resonance in solutions of some electron donor-acceptor complexes. Acta Chem. Scand. 16: 1043-1045.

Lagerkrantz, C., and M. Yhland. 1963. Photo-induced free radical reactions in the solution of some tars and humic acids. Acta Chem.Scand. 17: 1299-1306.

Lakatos, B., T. Tibai, and J. Meisel. 1977. ESR spectra of humic acids and their metal complexes. Geoderma 19: 319-338.

Martin, J.P., Z. Filip, and K. Haider. 1976. Effect of montmorillonite and humate on growth and metabolic activity of some actynomicetes. Soil Biol. Biochem. 8: 409-413.

McBride, M.B. 1978. Transition metal binding in humic acids: an ESR study. Soil Sci. 126: 200-209.

McBride, M.B. 1980 .A comparative electron spin resonance study of VO^{2+} complexation in synthetic molecules and soil organics. Soil Sci. Soc. Am. J. 44: 495-499.

McBride, M.B. 1982 . Electron spin resonance investigation of Mn^{2+} complexation in natural and synthetic molecules and soil organics. Soil Sci. Soc. Am. J. 46: 1137-1143.

Parris, G.E. 1980. Covalent binding of aromatic amines to humates. 1. Reactions with carbonyl and quinones. Environ. Sci. Technol. 14: 1099-1106.

Riffaldi, R., and M. Schnitzer; 1972a. Electron spin resonance spectrometry of humic substances. Soil Sci. Soc. Am. J. 36: 301-305.

Riffaldi, R., and M. Schnitzer. 1972b. Effects of diverse experimental conditions on ESR spectra of humic substances. Geoderma 8: 1-10.

Saiz Jimenez, C. 1975. Characterization del pigmento de Eurotium echinulatum Delacr. I. Datos analiticos. An. Edafol. Agrobiol. 34: 829-839.

Saiz Jimenez, C., and F. Shafizadeh. 1984. Iron and copper binding by fungal phenolic polymers: An electron spin resonance study. Current Microbiol. 10: 281-286.

Saiz Jimenez, C., and F. Shafizadeh. 1985. Electron spin resonance spectrometry of fungal melanins. Soil Sci. 139: 319-325.

Schnitzer, M., and K. Ghosh. 1982. Characteristics of water-soluble fulvic acid-copper and fulvic acid-iron complexes. Soil Sci. 134: 354-363.

Schnitzer, M., and M. Levesque. 1979. Electron spin resonance as a guide to the degree of humification of peats. Soil Sci. 127: 140-145.

Schnitzer, M., and S.I.M. Skinner. 1969. Free radicals in soil humic compounds. Soil Sci. 108: 383-390.

Senesi, N. 1981a. Free radicals involved in electron donor-acceptor reactions between soil humic acids and photosynthesis inhibitor herbicides. Z. Pflanz. Bodenk. 144: 580-586.

Senesi, N. 1981b. Spectroscopic evidence of organically-bound iron in natural and synthetic complexes with humic substances. Geochim. Cosmochim. Acta 45: 269-272.

Senesi, N. 1989. Application of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry. Advances in Soil Science (in press).

Senesi, N., D.F. Bocian, and G. Sposito. 1985a. Electron spin resonance investigation of copper(II) complexation by soil fulvic acid. Soil Sci. Soc. Am. J. 49: 114-119.

Senesi, N., D.F. Bocian, and G. Sposito. 1985b. Electron spin resonance investigation of copper(II) complexation by fulvic acid extracted from sewage sludge. Soil Sci. Soc. Am. J. 49: 119-126.

Senesi, N., and G. Calderoni. 1988. Structural and chemical characterization of copper, iron and manganese complexes formed by paleosol humic acids. Advances in Org. Geochem. (in press)

Senesi, N., and Y. Chen. 1989. Interactions of toxic organic chemicals with humic substances. In: Behavior of Pollutants in Porous Media, Springer-Verlag, Berlin (in press)

Senesi, N., Y. Chen, and M. Schnitzer. 1977a. Hyperfine splitting in electron spin resonance spectra of fulvic acid. Soil Biol. Biochem. 9: 371-372.

Senesi, N., Y. Chen, and M. Schnitzer. 1977b. The role of free radicals in the oxidation and reduction of fulvic acid. Soil Biol. Biochem. 9: 397-403.

Senesi, N., Y. Chen, and M. Schnitzer. 1977c. Aggregation-dispersion phenomena in humic substances in soil. Proc. Int. Symp. Soil Organic Matter Studies, Braunschweig, Sept. 6-10, 1976, Vol. II, I.A.E.A., Vienna, pp 143-155.

Senesi, N., Y. Chen, and M. Schnitzer. 1977d. The electron and gamma-irradiation of humic substances. Fuel 56: 171-176.

Senesi, N., S.M. Griffith, M. Schnitzer, and M.G. Townsend. 1977e. Binding of Fe^{3+} by humic materials. Geochim. Cosmochim. Acta 41: 969-976.

Senesi, N., T.M. Miano, and C. Testini. 1986a.The role of humic substances in the environmental chemistry of chlorinated phenoxyalkanoic acid and esters. In: Pawloswki, L., G. Alaerts, and W.J. Lacy, eds., pp 183-196. Chemistry for Protection of the Environment 1985. Elsevier, Amsterdam.

Senesi, N., T.M. Miano, and C. Testini. 1987d. Incorporation of water dissolved chlorophenoxyalkanoic herbicides by humic acids of various origin and nature. In: Proc. 7th Int. Symp. Environmental Biogeochemistry, Roma-Viterbo, Sept. 8-13, 1985, IPRA-CNR, Rome, pp 143-156.

Senesi, N., T.M. Miano, and J.P. Martin. 1987a. Elemental, functional and free radical characterization of humic acid-type soil fungal polymers (melanins). Biol. Fertil. Soils 5: 120-125.

Senesi, N., G. Padovano, L. Loffredo, and C. Testini. 1986b. Interactions of amitrole, alachlor and cycloate with humic acids. Environmental Contamination,2nd Int. Conf., Amsterdam, Sept. 1986, CEP Consultants Ltd., Publ., Edinburgh, pp 169-171.

Senesi, N., and M. Schnitzer. 1977. Effects of pH, reaction time, chemical reduction and irradiation on ESR spectra of fulvic acid. Soil Sci. 123: 224-234.

Senesi, N., and M. Schnitzer. 1978. Free radicals in humic substances. In: Krumbein, E.W., ed., pp 467-481. Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology. Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI, USA.

Senesi, N., and G. Sposito. 1984. Residual copper(II) complexes in purified soil and sewage sludge fulvic acids: an electron spin resonance study. Soil Sci. Soc. Am. J. 48: 1247-1253.

Senesi, N., and G. Sposito. 1987a. Manganese (II) complexation by humic acids from soils and soil fungi. In: Lindberg, S.E., and T.C. Hutchinson, eds., pp 330-333. Heavy Metals in the Environment, Vol. 2. CEP Consultants Ltd, Publ., Edinburgh.

Senesi, N., and G. Sposito. 1989. Characterization and stability of transition metal complexes of chestnut (Castanea sativa L.) leaf litter. J. Soil Sci. (in press).

Senesi, N., G. Sposito, and G.R. Bradford. 1989. Iron, copper and manganese complexation by forest leaf litter. Forest Sci. (submitted)

Senesi, N., G. Sposito, G.R. Bradford, and K.M. Holtzclaw. 1989a. Iron, copper, and manganese complexation by humic acid extracted from an aridisol amended with sewage sludge. J Environ. Qual. (in press).

Senesi, N., G. Sposito, K.M. Holtzclaw, and G.R. Bradford. 1989b. Chemical properties of metal-humic acid fractions of a sewage sludge-amended aridisol. J. Environ. Qual. (in review)

Senesi, N., G. Sposito, and J.P. Martin. 1985d. Complexation of some transition metal ions in soil humic acids: an ESR study. In: Lekkas, T.D., ed., pp 478-480. Heavy Metals in the Environment, Proc. Int. Conf., Athens, Sept. 10-13, 1985. CEP Consultants Ltd, Publ., Edinburgh.

Senesi, N., G. Sposito, and J.P. Martin. 1987e. Naturally-occurring copper, iron and vanadyl complexes in humic acid-type polymers (melanins) from soil fungi: an ESR study. In: Proc. 7th Symp. Environmental Biogeochemistry, Roma-Viterbo, Sept. 8-13, 1985, IPRA-CNR, Publ., Rome, 295-308.

Senesi, N., G. Sposito, and J.P. Martin. 1986c. Copper(II) and iron(III) complexation by soil humic acids: an IR and ESR study. Sci. Total Environ. 55: 351-362.

Senesi, N., G. Sposito, and J.P. Martin. 1987b. Copper(II) and iron(III) complexation by humic acid-like polymers (melanins) from soil fungi. Sci. Total Environ. 62: 241-252.

Senesi, N., and C. Steelink. 1989. Application of ESR spectroscopy to the study of humic substances and their interactions with organic xenobiotics and metal ions. In: Hayes, M.H.B., P. MacCarthy, R.L. Malcolm, and R.S. Swift, eds. Humic Substances II. Structure and Complexation Reactions. Wiley, New York (in press)

Senesi, N., and C. Testini. 1982. Physico-chemical investigations of interaction mechanisms between s-triazine herbicides and soil humic acids. Geoderma 28: 129-146.

Senesi, N., and C. Testini. 1983a. The environmental fate of herbicides: the role of humic substances. In: Hallberg, R., ed., pp 477-490. Environmental Biogeochemistry, Proc. 5th Int. Symp., Stockolm, June, 1-5, 1981, Ecological Bull. 35.

Senesi, N., and C.Testini. 1983b. Spectroscopic investigation of electron donor-acceptor processes involving organic free radicals in the adsorption of substituted urea herbicides by humic acids. Pesticide Sci. 14: 78-89.

Senesi, N. and C. Testini. 1984. Theoretical aspects and experimental evidence of the capacity of humic substances to bind herbicides by charge-transfer mechanisms (electron donor-acceptor processes). Chemosphere 13: 461-468.

Senesi, N., C. Testini, and D. Metta. 1984. Binding of chlorophenoxyalkanoic herbicides from aqueous solution by soil humic acids. Proc. Int. Conf. Environmental Contamination, London, July 10-13, 1984, CEP Consultants Ltd, Publ., pp 96-101.

Senesi, N., C. Testini, and T.M. Miano. 1987c. Interaction mechanisms between humic acids of different origin and nature and electron donor herbicides: a comparative IR and ESR study. Organic Geochem. 11: 25-30.

Sławinska, D., and J. Sławinski. 1975a. Spectroscopic study on mild oxidation of humus acids. I. Oxidation with molecular oxygen. Polish J. Soil Sci. 8: 34-47.

Sławinska, D., and J. Sławiński. 1977b. Spectroscopic study on mild oxidation of humus acids. II. Influence of light on oxidation with molecular oxygen. Polish J. Soil Sci. 8: 49-58.

Sławinska, D., J. Sławinski, and T. Sarna. 1975. The effect of light on the ESR spectra of humic acids. J. Soil Sci. 26: 93-99.

Steelink, C. 1964. Free radical studies of lignin degradation products and soil humic acids. Geochim. Cosmochim. Acta 28: 1615-1622;

Steelink, C. 1966. Electron paramagnetic resonance studies of humic acid and related model compounds. Coal Science, Chapt. 7: 80-89.

Steelink, C. 1987. Review of ESR spectroscopy of humic substances. In: Wershaw, R.L., and M.A. Mikita; eds., pp 47-72. NMR of Humic Substances and Coal. Techniques, Problems and Solutions. Lewis Publ. Inc., Chelsea,MI,USA.

Steelink, C., and G. Tollin. 1962. Stable free radicals in soil humic acid. Biochim. Biophys. Acta 59: 25-34.

Steelink, C., and G. Tollin 1966. Biological polymers related to catechol: Electron paramagnetic resonance and infrared studies of melanin, tannin, lignin, humic acid and hydroquinones. Biochim. Biophys. Acta 112: 377-379.

Steelink, C., and G. Tollin. 1967. Free radicals in soil. In: McLaren, A.D., and G.M. Peterson, eds., pp 147-169. Soil Biochemistry. Dekker, New York.

Sposito, G., N. Senesi, and K.M. Holtzclaw. 1988. Fluorescence quenching and copper complexation by a chestnut leaf litter extract: spectroscopic evidence. Soil Sci. Soc. Am. J. 52: 632-636.

Stevenson, F.J. 1972. Organic matter reactions involving herbicides in soil. J. Environ. Qual. 1, 333-343.

Stott, D.E., J.P. Martin, D.D. Focht, and H. Haider. 1983. Biodegradation, stabilization in humus, and incorporation into soil biomass of 2,4-D and chlorocatechol carbons. Soil Sci. Soc. Am. J. 47: 66-70.

Swartz, H.M., J.R. Bolton, and D.C. Borg. 1972. Biological Applications of Electron Spin Resonance. Interscience, New York.

Templeton, G.D., and N.D. Chasteen. 1980. Vanadium-fulvic acid chemistry: Conformational and binding studies by electron spin probe techniques. Geochim. Cosmochim. Acta 44: 741-752.

Tichy, V. 1971. Biological activity of UV-irradiated humic acids. Trans. Int. Symp. Humus et Planta V, Prague, Sept. 13-17, 1971, pp 553-556.

Tollin, G., T. Reid, and C. Steelink. 1963. Structure of humic acid. IV. Electron paramagnetic resonance studies. Biochim. Biophys. Acta 66: 444-447.

Varadachari, C., A.K. Barman, and K. Ghosh. 1983. Electron spin resonance and scanning microscopy of humic substances. J. Indian Soc. Soil Sci. 31, 28-30.

Weed, S.B., and J.B. Weber. 1974. Pesticide-organic matter interactions. In: Guenzi, W.D., ed., pp 39-66. Pesticides in Soil and Water. Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI, USA.

Wertz, J.E., and J.R. Bolton. 1972. Electron Spin Resonance: Elementary Theory and Practical Applications. McGraw-Hill, New York.

Wikander, G., and B. Nordén. 1988. Investigations of paramagnetic species in peat. Soil Sci. 145: 289-297.

Wilson, S.A., and J.H. Weber. 1977. Electron spin resonance analysis of semiquinone free radicals of aquatic and soil fulvic and humic acids. Anal. Lett. 10: 75-84.

Wilson, S.A., and J.H. Weber. 1979. An EPR study of the reduction of vanadium(V) to vanadium(IV) by fulvic acid. Chem. Geol. 26: 345-354.

Verona 1988

TECNICHE APPLICABILI ALLO STUDIO DELLA COMPONENTE ARGILLOSA DEL SUOLO

E. ARDUINO

Istituto di Chimica Agraria, Via Giuria, 15 - 10126 Torino.

E' noto che la frazione argillosa del suolo è costituita dalle particelle aventi dimensioni inferiori a 2 um. Questo limite è stato scelto poiché ragionevolmente separa i materiali che, presentando un'elevata carica superficiale, regolano le interazioni solido-liquido e solido-gas che sono fondamentali per la vita del suolo e dei vegetali.

Il suolo, per la parte inorganica, è una fase di transizione nella lenta trasformazione degli ioni dallo stato di instabilità in cui si trovano nelle rocce, soprattutto ignee e metamorfiche di origine profonda, a stati chimici più stabili. Questa trasformazione avviene per fasi di crescente stabilità che comportano la formazione di nuovi solidi originatisi o per ricristallizzazione di un minerale o per dissoluzione e successiva precipitazione di tutti o parte gli ioni disciolti. Nella frazione argillosa si vengono quindi a trovare quasi unicamente composti non presenti nella roccia madre ma formatisi nel corso della pedogenesi. Ciò anche perché buona parte dei minerali primari, i feldspati ad esempio, scompaiono abbastanza

rapidamente già dalla frazione limosa e sabbiosa ed il quarzo, peraltro la fase più stabile per il Si del suolo, non è molto resistente quando le dimensioni siano <2 um.

La conoscenza dei costituenti la frazione argillosa del suolo è perciò estremamente importante sia perché essi riflettono meglio di quanto non faccia il suolo nell'insieme le condizioni ambientali, la durata e l'intensità delle reazioni pedogenetiche, sia perché influiscono notevolmente sulla fertilità del suolo. Scambio cationico, scambio ed adsorbimento anionico, potere tampone, struttura, cioè proprietà e caratteristiche determinanti nella nutrizione vegetale, sono strettamente legate alla natura dei componenti la frazione argillosa.

Per quanto riguarda la struttura, i composti che nel suolo si trovano a dimensioni <2 um, possono essere cristallini (fillosilicati, ossidi e ossidi idrati di Fe, Al, Mn, Si) o amorfi (allofani, ossidi idrati di Fe, Al, Si).

Le tecniche di riconoscimento sono diverse a seconda che si tratti di fasi cristalline, per le quali trovano impiego metodi fisici, o amorfe, studiate essenzialmente con metodi chimici.

I metodi fisici si avvalgono di strumentazione molto sofisticata, sviluppata negli ultimi decenni e notevolmente

affinata grazie all'impiego dei microprocessori. I vantaggi dell'elettronica si apprezzano in modo particolare nella rapidità e precisione dell'analisi e nell'interpretazione dei risultati.

Di ciascuna delle tecniche più diffuse daremo ora qualche cenno sui principi di funzionamento e sul campo di applicazione.

E' da notare che nessuna di queste tecniche può essere di per sé esaustiva, ma è necessario integrarne i risultati per arrivare a risposte sicure.

DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X (XRD)

La tecnica si basa sulla legge di Bragg ($n\lambda = 2d \operatorname{sen} \theta$) secondo la quale si può determinare la distanza d tra i piani reticolari di un cristallo, e quindi identificare un minerale, conoscendo la lunghezza d'onda lambda del fascio di raggi X che incidono sul campione e il loro angolo di incidenza θ. I raggi X sono prodotti bombardando con elettroni un anticatodo costituito di un elemento specifico (Cu, Co, Fe...) che quindi emette una radiazione di lunghezza d'onda caratteristica (Cu= 1,5418 A; Co= 1,7903 A; Fe= 1,9399 A).

L'angolo θ viene fatto variare in modo da individuare le posizioni alle quali si hanno interferenze positive dei

raggi riflessi dal cristallo. Queste interferenze si hanno solo per valori interi di n.

Il fascio di raggi viene diretto tramite fenditure sul campione dove viene riflesso ed indirizzato ad un rivelatore che lo trasforma in impulso elettrico. Il segnale viene opportunamente selezionato ed amplificato e quindi inviato ad un registratore o ad una memoria magnetica.

Nel diffrattogramma che risulta, la posizone dei picchi riferibili alle riflessioni di primo ordine (n=1) (ma anche di secondo, terzo, quarto e quinto ordine corrispondenti ai valori interi di n di cui si è detto), individua una precisa fase mineralogica.

La forma del picco può essere indicativa del grado di cristallinità del minerale. Un indice di cristallinità è l'ampiezza a mezza altezza del picco (WHH) e può essere impiegato per derivare le dimensioni medie dei cristalli.

Lo spostamento della posizione dei picchi rispetto a quella attesa fornisce invece informazioni circa il grado di vicarianza nel cristallo.

Questa tecnica ha il vantaggio di essere rapida, non distruttiva e di poter analizzare quantità anche minime di campione; per contro è solo semiquantitativa ed ha una sensibilità del 5-10% e quindi può non individuare fasi minori peraltro talvolta determinanti nel comportamento del

suolo.

I tempi di analisi dipendono dalla concentrazione e dalla cristallinità delle fasi presenti; indicativamente variano da 2 a 24 ore, esclusa la preparazione del campione. Il costo minimo di un diffrattometro completo, anche qui escluse le apparecchiature per la preparazione del campione, si aggira sui 100 milioni di lire.

FLUORESCENZA A RAGGI X (XRF)

E' una tecnica che permette di analizzare rapidamente la composizione elementare del campione per gli elementi con numero atomico > 9. Si basa sullo stesso principio del diffrattometro (cioè sulla legge di Bragg) ma vengono analizzati i raggi X secondari, emessi dal campione in seguito ad irraggiamento con raggi X primari. Ciascun elemento chimico emette una radiazione a lunghezza d'onda caratteristica che verrà riflessa da un cristallo a d noto. In questo caso cioè l'incognita non è d ma lambda. I raggi riflessi vengono quindi diretti verso un rivelatore ed un sistema di registrazione simili a quelli del diffrattometro.

La sensibilità varia a seconda dell'elemento analizzato; si va da 0.007% per P, K e Ca a 0.1% per il F (Si 0.05, Al 0.03, Fe 0.013, Mn 0.012).

I tempi di analisi, dell'ordine di pochi secondi per elemento e per campione, sono ovviamente vincolati al numero degli elementi che si debbono analizzare. Particolarmente laboriosa può essere la taratura dello strumento in caso di matrici complesse ed è indispensabile l'aiuto del computer. Per questi motivi la XRF è particolarmente adatta ad analisi di pochi elementi su un grande numero di campioni. In questo caso la rapidità può renderla più conveniente delle normali analisi chimiche.

L' analisi elementare, ancorché di scarso interesse se considerata isolatamente, può essere di aiuto per confermare o smentire le conclusioni ottenute ad esempio dalla XRD.

Le apparecchiature hanno ormai raggiunto una notevole automazione ma con costi elevati. Gli strumenti in commercio partono da circa 200 milioni di lire.

MICROSCOPIA ELETTRONICA

- Trasmissione (TEM)

Utilizza un fascio di elettroni generato da un filamento incandescente, accelerato da una DDP e indirizzato sul campione da lenti elettromagnetiche. L'immagine viene poi raccolta su uno schermo fluorescente o su pellicola.

E' utile nello studio dei minerali argillosi poiché le dimensioni delle loro particelle sono comprese nel campo

ottimale di ingrandimento (10^3-10^5). La risoluzione massima dello strumento arriva a 2 A. E' anche possibile realizzare la diffrazione degli elettroni ed ottenere uno spettro analogo a quello della diffrattometria, così come l'analisi elementare del campione secondo il principio della fluorescenza.

La TEM fornisce dunque informazioni sulle dimensioni, forma, struttura e composizione dei minerali argillosi con una risoluzione molto maggiore rispetto ad altre tecniche.

Gli svantaggi principali stanno nella piccola quantità di campione che viene esaminato (lo spessore del campione deve essere <100 nm) e che quindi può essere non rappresentativo, e nella somiglianza morfologica di molti minerali argillosi che ne rende impossibile la distinzione. E' inoltre una tecnica che richiede molta esperienza e ha tempi di analisi abbastanza lunghi.

- Scansione (SEM)

Questa tecnica impiega un fascio di elettroni come nella TEM, elettroni che vengono però utilizzati per eccitare l'emissione, da parte del campione, di elettroni secondari che forniscono un'immagine tridimensionale su di uno schermo. Anche qui può essere accoppiata una microsonda che

fornisce l'analisi di aree anche molto piccole del campione sul principio della XRF.

E' dunque possibile esaminare la morfologia delle particelle, le loro relazioni in termini di microstruttura ed osservarne le variazioni di composizione.

L'analisi SEM non può avere validità diagnostica se non per pochi minerali e, nello studio dei minerali argillosi, deve essere affiancata da altre tecniche.

I tempi di analisi dipendono essenzialmente dal tempo di preparazione del campione, operazione che può richiedere da poche ore ad alcune settimane.

I costi delle apparecchiature sono di 100-200 milioni di lire per il SEM e 7-800 milioni per il TEM . Per la microsonda occorrono da 60 a 100 milioni di lire. Dati questi costi e la necessità di personale altamente specializzato si vanno diffondendo Centri di microscopia elettronica che offrono servizi a più utenti.

SPETTROSCOPIA INFRAROSSO (IR)

Si basa sull'assorbimento di una radiazione infrarossa (lunghezza d'onda: 25.000-160.000 A) da parte delle molecole all'interno di un cristallo. L'assorbimento si verifica solo per i legami che possono subire un cambiamento del loro dipolo elettrico. Poiché l'entità dell'assorbimento dipende

dalle masse atomiche, dalle lunghezze e forze dei legami interatomici, nonché dal grado di ordine, dimensione e forma della particella minerale, si possono ottenere informazioni sulla composizione chimica, sulle sostituzioni isomorfe (molto efficace per strato ottaedrico delle smectiti e delle illiti) e sulla cristallinità dei minerali argillosi.

Gli spettri si ottengono nel campo di numeri d'onda da 4000 a 250 cm^{-1} in cui sono comprese le vibrazioni di legame attive nell'infrarosso e più utili per l'identificazione dei minerali.

Uno dei vantaggi dell'IR è che può essere usato anche per sostanze amorfe (allofane, imogolite) e per studiare i rapporti tra molecole organiche e minerali argillosi. Ha lo svantaggio di avere una sensibilità dell'ordine di 5-10% e dall'essere limitato al riconoscimento di minerali a struttura semplice e non a strati misti.

I tempi di analisi sono ridotti (1 ora per campione). I moderni strumenti hanno prezzi variabili tra 50 e 120 milioni di lire.

ANALISI TERMICHE

-Termodifferenziale (DTA)

Si tratta di una tecnica essenzialmente complementare alla XRD che permette di acquisire ulteriori informazioni sulla struttura fisica e chimica dei minerali argillosi.

Vengono misurati gli effetti termici connessi con qualunque trasformazione (di fase, sublimazione, adsorbimento, disidratazione, riduzione, ossidazione...) subita dal campione durante il riscaldamento o il raffreddamento.

L'apparecchiatura consiste di un forno in cui trovano posto due crogioli di cui uno contenente il campione in esame e l'altro una sostanza di riferimento che non subisce trasformazioni nel campo di temperatura indagato. La temperatura dei crogioli è misurata da una termocoppia.

La sostanza in esame, durante il riscaldamento, subisce trasformazioni chimiche o fisiche eso- o endotermiche dando così luogo a differenze di temperatura rispetto alla sostanza inerte. Riportando su un asse cartesiano le temperature crescenti progressivamente raggiunte dalla sostanza inerte contro le variazioni di temperatura Δ T del campione in esame, si ottiene una curva

termodifferenziale.

La curva DTA di una caolinite ben cristallizzata ad esempio, presenta due picchi principali: uno endotermico tra 500-600°C (deidrossilazione del minerale) ed uno esotermico a 900-1000°C (cristallizzazione di ossidi). Il picco esotermico è però di difficile interpretazione poiché attribuibile anche ad altre fasi.

Nel caso delle caoliniti la variazione dei picchi nelle curve DTA, quando sia possibile trascurare l'interazione con gli altri componenti del campione, è riferibile alle dimensioni delle particelle ed al grado di cristallinità (il picco endotermico diminuisce con il diminuire della cristallinità).

Simile alla DTA è la calorimetria differenziale a scansione (DSC), che misura l'energia termica necessaria a mantenere il campione alla stessa temperatura della sostanza di riferimanto. Pur coprendo un campo di temperature più limitato, ha il vantaggio, rispetto alla DTA, di avere una migliore risoluzione nell'identificazione di gibbsite, goetite e caolinite.

-Termogravimetria

Il cambiamento di massa è una delle variazioni fisiche misurabili che un campione minerale può subire durante il riscaldamento. L'apparecchiatura impiegata a tale scopo è simile a quella della DTA; i crogioli sono però posti su una bilancia a molla di alta precisione che converte le variazioni di massa in segnali elettrici e quindi in una curva termoponderale.

Le analisi termiche sono particolarmente efficaci per minerali come caolinite, gibbsite, goethite, calcite o altri carbonati i quali possono essere determinati a livelli <1%. Tuttavia, quando la struttura si faccia più complessa, aumenta la variabilità termica della fase mineralogica e l'identificazione diventa più difficile.

I tempi di analisi dipendono dalla velocità di riscaldamento e variano da pochi minuti a diverse ore per campione.

Gli strumenti sul mercato consistono per lo più di un modulo centrale cui sono collegate le varie unità analitiche. I prezzi vanno da un minimo di 20 a un massimo di 60 milioni di lire.

METODI CHIMICI

Tutti i metodi chimici (determinazione dei totali, capacità di scambio cationico ed anionico, identificazione dei cationi di scambio, ecc.) possono essere di aiuto alla completa caratterizzazione dei vari componenti la frazione argillosa.

Particolarmente utili, nel caso dei minerali amorfi, sono le dissoluzioni selettive che, isolate o in sequenza, permettono la separazione anche quantitativa delle varie fasi. I principali reattivi impiegati e le specie individuabili sono indicati nella tabella 1.

Tabella 1: Dissoluzione di Al, Fe e Si in vari costituenti argillosi e complessi organici per trattamento con diversi reagenti (Wada, 1977)

Element in: specified component and complex	Treatment with: 0.1*M*† $Na_4P_2O_7$	Dithionite-‡ citrate	2%§ Na_2CO_3	0.15-0.2*M*¶ Oxalate-oxalic acid (pH 3.0-3.5)	0.5*N*# NaOH
Al in:					
Organic complexes	good	good	good	good	good
Hydrous oxides					
Noncrystalline	poor	good	good	good	good
Crystalline	no	poor	poor	no	good
Fe in:					
Organic complexes	good	good	no	good	no
Hydrous oxides					
Noncrystalline	poor	good	no	good	no
Crystalline	no	good	no	no	no
Si in:					
Opaline silica	no	no	poor	no	good
Crystalline silica	no	no	no	no	poor
Al and Si in:					
Allophanelike	poor	good	good	good	good
Allophane	poor	poor	poor	good	good
Imogolite	poor	poor	poor	good-fair	good
Layer silicates	no	no	no	no	poor-fair

† McKeague et al. (1971); Wada and Higashi (1976).
‡ Mehra and Jackson (1960); Wada and Greenland (1970); Tokashiki and Wada (1975).
§ Jackson (1956); Wada and Greenland (1970); Tokashiki and Wada (1975).
¶ Schwertmann (1964); Higashi and Ikeda (1973); Wada and Wada (1976).
# Hashimoto and Jackson (1960); Wada and Greenland (1970); Tokashiki and Wada (1975).

Bibliografia

K.Wada (1977); Allophane and Imogolite, p.603-638; In J.Dixon and S.B. Weed (ed.), Minerals in soil environments. Soil Science Society of America, Madison, WI.

Verona 1988

TECNICHE CHIMICO-FISICHE PER L'ANALISI DEL SUOLO

APPLICAZIONE DEL FORNO A MICROONDE ALLA DETERMINAZIONE DEGLI ELEMENTI TOTALI NEL TERRENO

Giuseppe Piccone, Bruno Biasiol, Giovanni De Luca

Istituto di Chimica Agraria dell'Università degli Studi di Torino

Riccardo Fortina

Istituto di Zootecnica Speciale dell'Università degli Studi di Torino

Riassunto

Viene illustrata l'applicazione del forno a microonde alla disgregazione di campioni da sottoporre all'analisi elementare. Numerose esperienze hanno dimostrato la validità della tecnica e le possibili applicazioni su diversi materiali: terreni, minerali e rocce, vegetali, fanghi, compost ecc. Tra i principali vantaggi sono da annoverare i ridotti tempi di mineralizzazione, la completa disgregazione, la riduzione di perdite di elementi volatili.

1. Introduzione

L'analisi degli elementi totali è influenzata da numerosi fattori connessi soprattutto alle modalità di dissoluzione dei campioni o " digestione " degli stessi, alle tecniche strumentali, alla sensibilità e ai limiti di rilevabilità delle misure, alla ripetibilità dei risultati, all'automazione operativa ecc.

Negli ultimi anni sono stati ottenuti notevoli progressi in campo strumentale mentre altrettanto non può dirsi nel caso della preparazione dei materiali da sottoporre all'analisi elementare. Il processo di digestione rimane pertanto un momento critico e una fase rallentante l'analisi sia per quanto concerne i macroelementi sia i microelementi e i metalli pesanti in genere.

L'analisi dei totali nel terreno, nei vegetali e negli altri prodotti di interesse agrario, acquista rilevante importanza soprattutto dal punto di vista ecologico dati i noti effetti inquinanti di molti elementi metallici. Essi si accumulano nel suolo e contaminano le falde in seguito ai continui apporti, anche in dosi massiccie, di fertilizzanti, compost, fanghi di depurazione, rifiuti industriali, acque di irrigazione, fall-out atmosferico e gravi sono i rischi che ne conseguano per l'ambiente.

1.1 - Tecniche di digestione

In generale la digestione dei campioni da sottoporre all'analisi degli elementi totali, in particolare elementi in traccia e metalli pesanti, può procedere attraverso due vie: trattamento per via secca, trattamento per via umida.

a) trattamento per via secca: si tratta di un riscaldamento in muffola ad alta temperatura con conseguente distruzione della matrice organica (incenerimento) oppure di una fusione alcalina con completa demolizione delle strutture dei minerali.

b) trattamento per via umida: si tratta di una disgregazione a caldo con acidi forti ossidanti e conseguente dissoluzione dei metalli. Quest'ultimi, nel terreno, sono

generalmente presenti sotto forma di: costituenti dell'edificio cristallino dei minerali oppure di complessi organo-minerali, di ioni adsorbiti sui colloidi, di sali insolubili.

La digestione a caldo con acidi rappresenta il metodo tradizionalmente più seguito e comporta l'impiego di piastre riscaldanti e di recipienti aperti. Richiede, inoltre, molte precauzioni al fine di evitare eventuali fenomeni di sovraebollizione o di evaporazione a secchezza oltre che perdite, durante l'attacco, di elementi volatili. I tempi di trattamento sono molto lunghi, alcune ore o giorni, data la bassa azione disgregante condizionata dal punto di ebollizione, a pressione atmosferica, della miscela acida.

L'uso di recipienti ermeticamente chiusi, le cosidette bombe o autoclavi, consentono temperature più elevate e riduzione dei tempi di reazione, ma non sono esenti da inconvenienti quali: difficoltà di manipolazione, difficile controllo della digestione, piccoli volumi di campione trattabili.

Per quanto riguarda i terreni LIM e JACKSON (1982) riportano alcune metodiche di dissoluzione per l'analisi degli elementi totali. Ad esempio:

- <u>Digestione con acido fluoridrico in recipienti chiusi</u>

Reagenti impiegati: HF; H_3BO_3 sol. satura.

Materiale dei recipienti: teflon o polipropilene.

Temperatura di digestione: compresa tra 25 e 110°C in funzione della pressione. Per minerali resistenti fino 170°C in recipienti di teflon.

Digestione con acidi fluoridrico, solforico e perclorico

Reagenti: HF, H_2SO_4, $HClO_4$; in associazione o meno ad HNO_3.

Materiale dei recipienti: platino o teflon.

Temperatura di digestione: 200 - 225 °C.

Fusione alcalina con sodio carbonato

Reagenti: Na_2CO_3 anidro.

Materiale dei recipienti: crogiuoli di platino.

Temperatura di digestione: 900 - 1000 °C.

Analogamente la SISS (1985) nei Metodi Normalizzati di Analisi del Suolo indica i seguenti metodi:

- attacco nitrico - fluoridrico sotto pressione con l'uso di autoclavi in teflon per il dosaggio di Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cr, Cu, Mo, Ni, Co. Per la determinazione degli elementi volatili, come Cd, Pb, Hg, Se, As, occorre evitare il trattamento preliminare della calcinazione.

- attacco solforico - fluoridrico; è simile al precedente, non comporta l'impiego di autoclavi, ma solo di capsule di platino. Elementi determinabili: Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co.

- fusione alcalina effettuata in presenza di carbonato sodico e potassico o di solo carbonato sodico. Utilizzata per il dosaggio di Si e Al oppure anche Fe, Ca, Mg.

- estrazione con acqua regia; permette la determinazione di Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, Cu, Zn, Cd, Mo. Per elementi volatili quali Hg e As occorre munire i recipienti usati per l'attacco di refrigerante a ricadere. Durata effettiva della digestione (all'ebollizione della miscela acida): 2 ore. Pretrattamento con miscela acida a temperatura ambiente: 12 ore.

VERLOO (1983), facendo riferimento a suoli e vegetali, mette in evidenza che il trattamento per via secca (incenerimento a secco) determina la perdita di elementi volatili come Hg, Pb, Cd, As. Talvolta é possibile, a seconda della temperatura, la volatilizzazione anche di B, Cr, Cu, Fe, Ni, P, V e Zn in forma di metalli, cloruri, composti organometallici. Nel caso dei vegetali temperature non eccessivamente alte, comprese tra 450 – 500 °C, minimizzano le perdite anche di elementi come Pb e Cd.

Il trattamento per via umida (incenerimento ad umido) riduce le perdite dovute a volatilizzazione o a formazione di leghe con i materiali costituenti i recipienti (generalmente platino oppure nichel o oro).

I reagenti impiegati nel trattamento ad umido si suddividono in:

- agenti ossidanti (HNO_3, $HClO_3$, $HClO_4$, H_5IO_6, H_2O_2 ecc.);

- agenti solubilizzanti e neutralizzanti (H_2SO_4, HCl, H_2O, NH_3, NaOH);

- catalizzatori (Fe^{2+}, Ag^{+}, Se, Hg^{2+}, V_2O_5 ecc.).

Fattori limitanti questo tipo di attacco, oltre la scelta dell'acido, la lentezza del procedimento, i continui controlli necessari, sono lo scarso grado di purezza di alcuni reagenti, la mancata mineralizzazione della matrice organica anche operando sotto pressione e quindi digestione acida non sempre efficace per tutti i metalli presenti nei vari tipi di campioni.

Basse temperature, associate a reagenti molto puri, riducono le perdite e i fenomeni di contaminazione, ma aumentano sensibilmente i tempi di analisi.

Il lungo tempo di esecuzione della digestione rimane, comunque, uno dei maggiori incovenienti soprattutto se confrontato con la rapidità delle misure ottenibile con la moderna strumentazione.

2. Impiego delle radiazioni microonde

L'applicazione delle radiazioni microonde alla dissoluzione, mediante acidi forti ossidanti, dei materiali da sottoporre all'analisi elementare è stata proposta per la prima volta da ABU-SAMRA nel 1975 soprattutto per il trattamento di campioni biologici. Successivamente è stata estesa la nuova tecnica a campioni di varia natura e sono stati messi a punto dettagli tecnici come: protezione dei forni dalla corrosione, impiego di recipienti trasparenti alle radiazioni, studio dei parametri che regolano il processo di attacco. E' stata anche verificata la validità del procedimento in funzione delle tecniche di misura: spettrofotometria di assorbimento atomico (AA), spettrofotometria di emissione a plasma (ICP), attivazione neutronica ecc.

Le microonde sono onde elettromagnetiche con lunghezza d'onda compresa tra le radioonde e l'infrarosso. Possono essere prodotte per radiazione diretta attraverso scariche tra due elettrodi oppure per irraggiamento di corpi caldi. In pratica nei forni a microonde si utilizza un particolare generatore detto magnetron, cioè un tubo elettronico che funziona da oscillatore e produce onde continue o modulate ad impulsi delle quali viene anche amplificata la potenza.

I vantaggi del magnetron, rispetto ad altre sorgenti, sono: alto rendimento nella produzione di microonde e possibilità di regolazione della frequenza mediante variazione di tensione.

Il principale effetto delle radiazioni microonde, in particolare sulle soluzioni acquose o sostanze contenenti molecole d'acqua, è rappresentato dal riscaldamento dei materiali irradiati. Il calore non si genera in seguito agli urti delle particelle tra loro e a trasmissione attraverso fenomeni convettivi, ma dipende dal rapido allineamento delle molecole polari che vengono eccitate dalla radiazione. L'entità della polarizzazione varia con il carattere dipolare delle molecole ed è molto accentuata nel caso dell'acqua e delle soluzioni acquose, acide e basiche in particolare.

Nel caso di processi di disgregazione, fenomeni di polarizzazione differenziata migliorano anche la penetrazione e quindi il contatto tra acido e particelle solide dei campioni.

Inizialmente l'applicazione delle microonde ai processi di digestione veniva effettuata utilizzando forni di tipo casalingo dotati di recipienti aperti; attualmente si opera con apparecchi specifici da laboratorio equipaggiati con recipienti chiusi.

I principali vantaggi del trattamento con microonde, soprattutto se condotto in contenitori a pressione, sono:

- riduzione dei tempi di mineralizzazione;

- applicabilità ad un ampio spettro di matrici organiche e inorganiche;

- sensibile contenimento delle perdite di volatili;

- notevole flessibilità operativa;

- alti recuperi analitici;

- ridotti consumi di reattivi e quindi bassi bianchi.

3. - Applicazione delle radiazioni microonde all'analisi degli elementi totali

L'uso dei forni a microonde in questi ultimi anni si è notevolmente diffuso e ormai molti laboratori sono dotati di questa attrezzatura che rende possibile la rapida esecuzione di due analisi fondamentali: la determinazione dell'umidità e la determinazione dei totali. La tecnica, però, è ancora troppo recente: non sono, infatti, ben noti gli effetti delle radiazioni microonde sulle diverse molecole, in particolare quelle di natura biologica e non si è giunti, per ora, al pieno sfruttamento di queste radiazioni in campo analitico; per certi substrati, come il terreno, non è stata collaudata e definita un'adeguata metodologia applicabile all'analisi degli elementi totali compresi azoto e fosforo.

I dati, che già con una certa frequenza sono rilevabili dalla letteratura per quanto riguarda rifiuti, alimenti, vegetali, rocce ecc., sono spesso discordanti tra loro, hanno validità solo parziale per certi materiali e determinate situazioni; ciò sottolinea il fatto che la tecnica necessita ancora di ulteriore sperimentazione ed estensione ad una maggiore tipologia di campioni affinché possa sostituire le metodiche tradizionali, molto lente e laboriose ma ampiamente sperimentate.

3.1 - Esperienze e definizione delle condizioni operative

Di seguito vengono passate in rassegna alcune esperienze relative all'applicazione delle microonde alla disgregazione di substrati diversi. Attraverso controlli di temperatura, pressione, tempi di attacco, efficienza delle miscele acide, entità dei recuperi degli elementi, vengono definite le condizioni operative ritenute migliori per un determinato tipo di materiale analizzato.

I risultati di queste esperienze potranno essere utilizzati per l'estensione di questa metodica all'analisi dei terreni defininendo e variando opportumanente tempi, potenze e modalità di attacco.

KINGSTON e JASSIE (1986) hanno dato un rilevante contributo alla conoscenza della nuova tecnica; hanno definito i valori di temperatura e pressione durante il riscaldamento e gli effetti delle radiazioni microonde su differenti acidi.

I risultati sono stati generalmente soddisfacenti usando differenti miscele ossidanti e confrontando i dati ottenuti impiegando il forno a microonde con quelli ottenuti con metodi convenzionali.

In particolare si è messo in evidenza come la digestione con microonde è strettamente connessa all'effetto combinato della radiazione elettromagnetica con la natura dell'acido o degli acidi impiegati per la dissoluzione dei campioni.

L'efficienza della reazione incrementa sensibilmente con la temperatura. Infatti mentre nei metodi tradizionali la condizione limitante è rappresentata dal punto di ebollizione degli acidi, nel caso del metodo microonde tale limitazione è superata dall'elevate temperature e pressioni raggiunte. Alte temperature e pressioni sono ottenute in 1 - 2 minuti e quindi drastiche possono essere la riduzioni dei tempi di trattamento dei campioni. Essenziale un campo omogeneo di microonde ottenuto mediante rotazione dei campioni.

Per quanto riguarda la digestione di materiali biologici e vegetali si è messo in evidenza che l'efficacia delle radiazioni microonde dipende anche da fattori direttamente collegati con il campione: produzione di prodotti gassosi che incrementano la pressione; produzione di reazioni esotermiche che incrementano la temperatura.

REVESZ e HASTY (1987), operando anch'essi in recipienti chiusi, hanno messo in evidenza l'effetto delle radiazioni microonde sull'incremento di temperatura di due acidi comunemente impiegati nei processi di digestione: acido nitrico e acido cloridrico. L'acido nitrico può raggiungere i 200°C (80°C sopra il suo punto di ebollizione) e l'acido cloridrico i 153 °C (43 °C sopra il punto di ebollizione). A queste temperature corrispondono pressioni di 120 PSIG (tab. 1). Per quanto riguarda i tempi si è stabilito che la pressione di 100 PSIG è raggiunta, con potenza del generatore di microonde pari a 600 W, in 12 minuti

per l'acido nitrico (temperatura 193 °C), 4.5 minuti per l'acido cloridrico (temperatura 140 °C).

I medesimi Autori hanno condotto prove di disgregazione con microonde su alcuni materiali effettuando il confronto con i metodi tradizionali di digestione (tab. 2): riscaldamento in recipienti aperti su piastra riscaldante oppure attacco in bombe. Viene così ulteriormente confermato che la digestione con microonde permette il rapido raggiungimento di alte temperature con sensibile abbreviazione dei tempi di analisi. I dati analitici sono in accordo con i metodi tradizionali e il procedimento è applicabile a diverse matrici.

KRUSE (1986) ha condotto prove di digestione con microonde su fanghi e acque di scarico e ha confrontato i risultati con quelli ottenuti con i metodi USEPA (tab. 3).

Le prove con microonde hanno considerato tipi diversi di recipienti (vetro e teflon), potenze e tempi variabili di trattamento, diverse miscele acide. Per molti metalli la digestione è stata completa dopo 60 minuti.

FISCHER (1986) ha applicato la tecnica microonde alla dissoluzione di materiali geologici da sottoporre all'analisi per diluizione isotopica. La miscela acida impiegata conteneva acido nitrico, fluoridrico e perclorico e il trattamento con microonde è avvenuto attraverso tre step della durata complessiva di 1 h nel caso della disgregazione dei soli feldspati, 5 h per la disgregazione completa della roccia. I risultati ottenuti sono stati soddisfacenti e confrontabili con i metodi tradizionali e notevole è stato l'incremento di velocità ed efficienza del trattamento. Si conclude, pertanto, che il forno a microonde si presta ad essere normalemente impiegato nell'analisi di routine di rocce e minerali.

Per quanto riguarda i vegetali si fa riferimento a due esperienze di digestione con microonde effettuate sia in recipiente aperto sia in recipiente chiuso (bombe).

WHITE (1985) ha disgregato tessuti vegetali con miscela acido nitrico - acqua ossigenata utilizzando la spettrofotometria ICP per la determinazione di 9 elementi: Ba, Ca, Mg, Mn, P, K, Na, S, Zn .

Il procedimento di dissoluzione, in recipiente aperto, è stato eseguito come segue:

- 30 minuti al 90 % di potenza con solo HNO_3;

- aggiunta di ulteriore acido nitrico e acqua ossigenata (rapporto 10 : 1), riposo per 10 minuti a tamperatura ambiente;

- 30 minuti di riscaldamento al 90 % di potenza.

Il trattamento si è rivelato rapido e affidabile; infatti controlli effettuati con standards NBS di vegetali hanno dato buone percentuali di recupero comprese tra il 91.3 e il 114.3 % (tab. 4).

LACHICA (1988) ha operato su campioni di vegetali utilizzando una bomba Parr e il riscaldamento mediante microonde.

Le misure sono state eseguite con fotometria di fiamma (Na), spettrofotometria di assorbimento atomico con fiamma (K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn) e con fornetto di grafite (Cu, Cd, Pb), spettrofotometria di emissione a fiamma (P, B).

Anche in questo caso sono stati impiegati standard di riferimento di vegetali (standard forniti dal C.I.I.: Comité Inter-Instituts d'Etudes des Techniques Analytiques "). Le

condizioni operative hanno previsto il solo trattamento con acido nitrico e tempo di attacco di 30 secondi alla massima potenza. I risultati ottenuti sono stati molto soddisfacenti e in accordo con le concentrazioni degli standards (tab. 5). Fanno eccezione i bassi valori di Na e Fe, i più alti di Pb. Il sodio era presente in quantità molto ridotte nel campione originario per essere determinato accuratamente; il ferro probabilmente è stato assorbito sul residuo di silice formatosi dopo il trattamento; per piombo o è intervenuto un errore analitico oppure sono state minimizzate le perdite per volatilizzazione con l'impiego del recipiente a tenuta (bomba).

PICCONE et al. (1988) stanno conducendo prove con differenti miscele ossidanti allo scopo di definire le condizioni operative ottimali per la determinazione di metalli pesanti in materiali di difficile disgregabilità e di scarsa omogeneità come i compost da RSU (rifiuti solidi urbani).

La digestione è stata condotta in forno a microonde MDS 81D della CEM Corporation equipaggiato con un magnetron da 600 W. I dosaggi degli elementi sono stati condotti mediante spettrofotometria di Assorbimento Atomico.

E' stato anche eseguita una disgregazione di confronto di tipo tradizionale utilizzando recipienti cilindrici di vetro, riscaldati su piastra elettrica e dotati di sistema di condensazione dei vapori. In quest'ultimo caso si è operato secondo quanto previsto dai Metodi Ufficiali di Analisi della REGIONE PIEMONTE (1986) per fanghi di depurazione di uso agricolo.

Le miscele ossidanti collaudate sono state le seguenti:

1) HNO_3 - HCl rapporto 1 : 3 in contenitore 60 o 120 ml

2) HNO_3 - $HClO_4$ rapporto 5 : 1 in contenitore 60 o 120 ml

3) HNO_3 - H_2O_2 rapporto 3 : 1 in contenitore 120 ml

Sono stati collaudati due programmi di attacco messi a punto sulla base dei risultati ottenuti su standars NBS:

Programma A:

- primo step: 30 minuti al 40 % di potenza

- secondo step: 10 minuti di raffreddamento

- terzo step: 30 minuti al 40 % di potenza

- quarto step: 30 minuti al 50 % di potenza

Programma B:

- unico step: 6 minuti al 100 % di potenza

I risultati di questa esperienza, riportati nelle tabb. 6 e 7, hanno messo in evidenza:

- recipienti

l'uso dei recipienti da 120 ml è preferibile in quanto è garantita la chiusura anche in condizione di alta pressione interna ed inoltre è evitato il raggiungimento del valore critico di 8 atmosfere che determina l'apertura delle valvole (eccetto che nel caso della

miscela nitrico - perclorica al massimo della potenza) con conseguenti perdite di elementi volatili.

- miscela acido nitrico - acido cloridrico

con il programma A sono stati riscontrati incrementi, anche sensibili, delle concentrazioni dei vari elementi rispetto al metodo convenzionale e questo soprattutto per Cr,Cu, Hg, Mn, Ni e Zn. Leggermente più bassi sono i valori di Cd. Il programma B ha dato risultati simili a parte l'incremento, in questo caso, del cadmio e la diminuzione di mercurio a causa delle perdite per apertura delle valvole.

- miscela acido nitrico - acido perclorico

la miscela ossidante ha fornito buoni risultati per Cd, Cu, Hg, Mn utilizzando entrambi i programmi. Gli altri valori sono, invece , più bassi di quelli ottenuti con la miscela nitrico - cloridrica e con il metodo tradizionale di attacco.

- miscela acido nitrico -acqua ossigenata

la miscela si è rivelata meno efficace delle altre, in entrambe le due condizioni operative, soprattutto per Cr, Mn, Ni e Zn.

La prova, quindi, ha confermato l'efficacia e l'affidabilità della digestione, mediante microonde, di campioni di compost da RSU (rifiuti solidi urbani). Il trattamento garantisce:

- ridotti tempi di digestione;

- disgregazione del materiale più completa rispetto alla mineralizzazione tradizionale;

- recuperi soddisfacenti anche nel caso di elementi volatili soprattutto se si sceglie la miscela ossidante e il procedimento più adatto;

- minore contaminazione rispetto alla digestione tradizionale con recipienti aperti;

- dissoluzione di campioni che altrimenti richiederebbero la fusione o l'incenerimento;

- riduzione od assenza di formazione di schiuma durante la digestione.

In particolare per quanto riguarda il materiale analizzato il metodo di dissoluzione con HNO_3/HCl nel rapporto 1 : 3 (acqua regia) si è rivelato valido se associato a potenza medie di irradiazione e a tempi di dissoluzione non eccessivamente brevi.

4.- Conclusioni

Il forno a microonde sta entrando nella dotazione di molti laboratori di analisi dove viene accolto con molto favore. Ciò in relazione agli indubbi vantaggi del nuovo sistema di riscaldamento riconsciuti e ribaditi, come si è detto, da molti ricercatori.

Tali aspetti positivi in pratica si risolvono in un notevole risparmio di tempo e di lavoro dedicato ad un'operazione analitica, la disgregazione dei campioni, lunga, noiosa e fonte di numerosi errori analitici. Si potrebbe aggiungere che la dissoluzione con l'attacco microonde comporta anche: maggiore precisione nel dosamento della maggior parte degli elementi, anche se presenti a basse concentrazioni, soluzioni derivanti dalla digestione più

limpide e, in molti casi, minore manipolazione dei campioni per travasi, diluizioni e filtrazione.

La nuova tecnica, però, necessita ancora di un'ampia sperimentazione almeno per quanto riguarda l'applicabilità alle analisi di interesse agrario. In particolare per rifiuti organici, compost, fanghi di depurazione di uso agricolo l' Autore di questa nota ha in corso prove su diverse tipologie di materiali al fine di definire una metodologia standardizzabile da inserire nei Metodi Ufficiali di Analisi per fanghi e compost.

Analogamente si potrebbe procedere con i terreni per i quali si è sempre sentita l'esigenza di una normalizzazione dei metodi e la digestione con microonde sarebbe una valida alternativa alle metodiche riportate nei Metodi SISS. Nel caso specifico l'attacco nitrico - cloridrico potrebbe essere attuato con riscaldamento tradizionale o in alternativa, con riscaldamento con microonde dando le dovute prescrizioni operative.

Da un punto di vista generale, sulla base della propria esperienza e dei dati della bibliografia, si ritiene che sia preferibile operare la disgregazione mediante microonde con potenze medie e per tempi più lunghi di quanto venga normalmente indicato al fine di evitare quelle perdite di elementi ed insuccessi nell'analisi che alcune volte vengono riscontrate. Inoltre non si deve escludere la possibilità di operare con recipienti aperti, con allungamento dei tempi ma con possibilità di attacchi più blandi e con l'impiego anche di altri reagenti come l'acqua ossigenata e l'acido solforico. L'uso di H_2SO_4, in particolare, consentirebbe l'esecuzione di altre analisi molto importanti per il terreno come quelle dell'azoto e del fosforo totali.

Bibliografia

ABU-SAMRA et al.
Anal. Chem., 1975, 47, 1475 - 1477

FISCHER L.B.
Anal. Chem. 1986, 58, 261 - 263

KINGSTON H.M., JASSIE L.B.
Anal. Chem. 1986,58, 2534 - 2541

KRUSE D.
Illinois Water Pollution Control Association Meeting, Naperville, Illinois, USA, 1986

LACHICA M.
VIIth International Colloquium for the Optimization of Plant Nutrition
Nyborg Strand, Danmark, 1988

LIM C.I., JACKSON M.L.
Agronomy, 1982, 9, 1 - 12

PICCONE G. et al.
in preparazione, 1988

REGIONE PIEMONTE
Boll. Uff., 1986, 44, 6219 - 6241

REVESZ R., HASTY E.
Pittsburg Conference and Exposition on Anlytical Chemistry and Applied Spectroscopy 1987

SISS
Metodi Normalizzati di Analisi del Suolo, 1985

VERLOO M. et al.
Chemical Anaysis of Plants and Soils. Laboratory of Analytical and Agrochemitry State University, Ghent, Belgium, 1982

WHITE R.T., DOUTHIT G.F.
J. Assoc. of Anal. Chem., 1985, 68 (4), 766 - 769

Tab. 1 Valori di temperatura e pressione di acidi riscaldati con microonde in recipienti chiusi da 120 ml (REVESZ ,1987)

Acidi	Temperatura °C	Pressione psig
Nitrico 70 % p/p	200	120
Cloridrico 37 % p/p	153	120
Nitrico 70 % p/p	193	100
Cloridrico 70 % p/p	130	100

Tab. 2 Analisi di standard di fanghi EPA - valori in mg/Kg (REVESZ,1987)

Digestione	Ag	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Pb	Ni	Se	Zn
Microonde rec. chiusi	81	4	20	184	1139	17500	575	185	4	1308
HNO3/H2O2	81	3	20	184	1132	17450	576	187	4	1308
Microonde rec. chiusi	80	4	21	188	1136	18350	593	197	4	1319
HNO3/H2O	78	4	21	187	1125	18550	598	193	4	1325
Piastra rec. aperto	84	3	21	183	1117	17700	601	191	4	1283
HNO3/H2O2	88	3	21	183	1128	17650	591	192	4	1287
EPA valori	80,6	17	19,1	193	1080	16500	526	194		1320

Tab. 3 Metodi di digestione di fanghi a confronto - risultati in mg/Kg (KRUSE,1986)

Digestione	Cd	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Incenerimento umido	21	217	1023	17051	191	558	1230
Microonde	20	170	969	12609	171	526	1200
Microonde sotto vuoto	21	198	1070	14500	191	574	1319
Metodo USEPA	19,1	193	1080	16500	194	526	1320

Tab. 4 Analisi mediante spettroscopia ICAP di standard NBS di vegetali trattati con forno a microonde (WHITE,1985)

Elemento	Spinaci	Foglie di agrumi	Foglie di pomodoro	Aghi di pino
Ca %	1,34	3,19	2,91	0,42
NBS	1,35	3,15	3	0,41
Mg %	0,86	0,56	0,65	0,12
NBS		0,58	(0,7)	
P %	0,53	0,13	0,33	0,12
NBS	0,55	0,13	0,34	0,12
K %	3,6	1,84	4,34	0,39
NBS	3,56	1,82	4,48	0,37
S %	0,48	0,459	0,69	0,14
NBS		0,407		
Ba ppm	13,9	24	66	7,8
NBS		21		
Mn ppm	165	21	219	693
NBS	165	23	238	675
Na ppm	15470	164	369	26
NBS		160		
Zn ppm	50	28	61	72
NBS	50	29	62	

Tab. 5 Analisi di standard C.I.I. di vegetali trattati con forno a microonde (LACHICA,1988)

Elemento	Codia discolor	Cotone	Eucalipto	Fieno	Caucciù	Lattuga	Mais
				% p/p			
P MO	0,023	0,434	0,102	0,252	0,319	0,896	0,259
RV	0,025	0,36	0,085	0,214	0,26	0,72	0,219
K MO	0,409	1,9	0,689	1,9	1,01	6,16	1,9
RV	0,37	1,84	0,68	1,85	0,93	7,13	1,94
Na MO	0,137	0,04	0,175	0,076	0,005	0,454	0,18
RV	0,137	0,045	0,171	0,087	0,01	0,489	0,178
Ca MO	0,712	3,12	1,54	0,428	0,991	1,48	1,1
RV	0,83	3,1	1,56	0,46	1,08	1,4	1,12
Mg MO	0,29	0,439	0,221	0,135	0,351	0,476	0,382
RV	0,28	0,41	0,21	0,137	0,33	0,46	0,36
				mg/Kg			
Fe MO	92,5	289	106	190	146	352	264
	87	404	102	198	160	489	259
Mn MO	637	224	594	252	170	64,3	71,1
RV	653	220	574	240	162	51,8	66
Cu MO	3,2	13,5	6,8	11,7	12,5	8,3	12,1
RV	4,69	15	8,4	11,4	14,8	8,3	11,4
Zn MO	7,74	110	11,7	77,3	37,8	285	29,1
RV	11,3	127	12,4	69,2	37,7	249	27
Cd MO		0,113		0,183		0,705	
RV		0,21		0,22		0,87	
Pb MO		2,91		3,8		5,65	4,36
RV		2,36		4,68		6,7	2,84

MO = digestione in forno a microonde

RV = valori di riferimento C.I.I.

Tab. 6 Analisi di compost da rifiuti solidi urbani

Risultati in mg/Kg di residuo secco (PICCONE,1988)

Elementi	M.S.R.P.	Attacco microonde con miscela HCl/HNO3 in recipienti da 120 ml			
		Programma A	dif.	Programma B	dif.
Cd	5	4,5	-0,5	5,7	+0,7
Cr	432	515	+83	394	-38
Cu	796	809	+14	817	+21
Hg	1,3	1,9	+0,6		-1,3
Mn	450	608	+158	420	-30
Ni	308	332	+24	284	-24
Zn	1021	980	-41	995	-26
Tempo di digestione		4 - 5 ore		90 min.	6 min.

M.S.R.P. = metodi standard della Regione Piemonte

Tab. 7 Digestione mediante microonde in recipienti da 120 ml con miscela HCl/HNO3

Deviazioni standard (PICCONE,1988)

Elementi	M.S.R.P.	Programma A	Programma B
Cd	0,8	0,2	0,4
Cr	45	28	60
Cu	42	35	1,7
Hg	0,8	0,1	
Mn	37	22	10
Ni	64	12	28
Zn	43	40	17

M.S.R.P. = metodi standard della Regione Piemonte

GIORNATE DI STUDIO

SULL'ANALISI DEL SUOLO

Verona **1988**

FT-NMR E FT-IR APPLICATI ALLO STUDIO DELLA SOSTANZA ORGANICA DEL SUOLO

Alessandro Piccolo

Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo.

Piazza M.D'Azeglio 30, 50121 Firenze

RIASSUNTO

Viene descritta la teoria alla base della spettroscopia a Risonanza magnetica Nucleare insieme ai principali elementi costituenti uno spettrometro NMR. Sono discusse le differenze tra la tecnica NMR ad onda continua (CW) e quella ad impulso con conseguente elaborazione di segnali con Trasformata di Fourier (FT). In relazione ai principi teorici, sono spiegate le attuali condizioni tecniche di acquisizione di spettri NMR per le sostanze umiche. E' descritta la differenza tra la spettrometria infrarossa a dispersione e la moderna ad interferogrammi e Trasformata di Fourier con i relativi vantaggi di quest'ultima. Sono riportati e discussi spettri FT-NMR e FT-IR di sostanze umiche estratte da un suolo con diversi meccanismi e purificate con HCl-HF.

SUMMARY

Basic theory of NMR spectroscopy in described together with the principal elements constituing a NMR spectrometer. Differences between continuous wave (CW) NMR and pulse NMR with related Fourier Transform (FT) are discussed. In relation to theoretical principles, actual acquisition conditions of a FT-NMR spectrum of humic substances are explained. Furthermore, the difference between traditional dispersion infrared spectrometry and modern computer-assisted interferogram infrared spectrometry and relative advantages, is outlined. Then, FT-NMR and FT-IR spectra of humic substances extracted from a soil with different mechanisms are reported and discussed.

1. INTRODUZIONE

Lo studio della struttura della sostanza organica del suolo ha ricevuto negli ultimi venti anni un importante contributo dell'applicazione di tecniche chimiche-fisiche fini quali la

spettroscopia infrarossa (IR) la risonanza elettronica di spin (ESR) e la risonanza magnetica nucleare (NMR) (Stevenson, 1982). I migliori risultati, comunque, sono stati ottenuti con la tecnica ESR attraverso la determinazione delle proprietà paramagnetiche della sostanza organica (presenza di radicali liberi altamente reattivi) e, principalmente, con la spettroscopia infrarossa. Quest'ultima infatti, permette di ottenere numerose bande diagnostiche delle strutture molecolari delle sostanze umiche fornendo informazioni, inaccessibili in altro modo, sulla natura e reattività dei gruppi funzionali contenenti ossigeno, sulla presenza di costituenti proteici e carboidratici e sul grado di impurezze inorganiche. Inoltre la tecnica infrarossa ha dato la possibilità di un'analisi quantitativa, benchè indiretta, delle bande diagnostiche.

Nonostante il largo impiego della risonanza magnetica nucleare in chimica organica ed i fondamentali risultati ottenuti, questa tecnica non ha avuto il successo sperato per le applicazioni sulle sostanze umiche a causa del loro alto peso molecolare e del conseguente basso rapporto segnale/rumore di fondo. Per le stesse ragioni il limitato impiego dell'NMR ad onda continua (CW) sia per il nucleo del protone (1H) che del carbonio (13C) ha interessato anche lo studio strutturale dei grandi polimeri biologici. Una soluzione a questa difficoltà è venuta dalla graduale commercializzazione di nuovi spettrometri NMR che alla tecnica CW sostituivano quella a Trasformata di Fourier (FT) permettendo con l'aiuto di calcolatori l'accumulazione di più spettri in tempi notevolmente brevi e, conseguentemente,

l'efficiente aumento del rapporto segnale-rumore. All'inizio degli anni 80, vi sono stati i primi tentativi di applicazione della tecnica FT-NMR allo studio delle sostanze umiche del suolo (Wilson and Goh, 1981), indicando così una via di grandi potenzialità nella ricerca sulla caratterizzazione della sostanza organica del suolo. Contemporaneamente, la tecnica della trasformata di Fourier veniva impiegata in spettroscopia infrarossa con ottimi risultati. Sono ora disponibili spettrometri FT-IR a prezzi ragionevoli che sostituendo gli sturmenti IR a sistema di dispersione possono dare dei notevoli vantaggi nella indagine infrarossa sulle sostanze umiche.

Questa presentazione si propone di fornire i principi basilari della spettroscopia NMR per poter comprendere come essa possa essere impiegata per lo studio della sostanza organica del suolo. Successivamente, saranno discusse alcune applicazioni pratiche delle tecniche FT-NMR e FT-IR.

2. TEORIA BASE NMR

La spettrometria di risonanza magnetica nucleare è un'altra forma di spettrometria di assorbimento analoga alla spettrometria di assorbimento infrarossa e ultravioletta. Infatti un campione immerso in un campo magnetico può assorbire una radiazione elettromagnetica nella regione delle frequenze radio ad una frequenza caratteristica delle proprietà del campione.

Il modo in cui un campione assorbe energia a radiofrequenza è funzione delle caratteristiche chimiche-fisiche dei nuclei presenti nella molecola. Tutti i nuclei atomici hanno una carica elettrica. In alcuni nuclei questa carica ruota attorno all'asse

nucleare e la rotazione della carica nucleare genera un dipolo magnetico lungo l'asse del nucleo. Il momento angolare della carica rotante è descritto dal numero di spin I che a seconda dei nuclei può assumere valori di 0, 1/2, 1, 3/2 ecc. (La grandezza del dipolo è espressa dal momento magnetico nucleare μ che è legato al momento angolare I dalla relazione $\mu = Ih/2\pi$ dove è una costante per ogni nucleo). Il numero di spin dipende dagli spin dei neutroni e protoni del nucleo. Se la somma dei loro spin è dispari, il risultante spin nucleare è metà di un intero (1/2, 3/2, 5/2), se la somma è pari I è un intero (0, 1, 2). I nuclei del 12C e del 16O hanno numero di spin intero e non danno segnali all'NMR. I nuclei più comunemenți usati in NMR hanno I= 1/2 (1H, 13C, 31P, 15N, 19F).

Applicando un campo magnetico, i momenti magnetici nucleari possono orientarsi solo in determinate direzioni indicate dalla trattazione quanto-meccanica del sistema. Un nucleo di spin I dovrà avere solo 2I+1 orientazioni possibili in un campo magnetico. Nel caso di I=1/2 (1H, 13C) vi sono solo due possibili orientazioni di μ (Fig. 1). L'energia relativa a ciascuna

(Qui Fig.1)

orientazione è proporzionale al momento magnetico ed al campo applicato perciò la differenza di energia sarà data da $\Delta E = \gamma hB/2\pi$ dove B è il campo magnetico applicato. Ricordando l'eguaglianza di Planck $E=h\nu$, si avrà che la frequenza applicabile per far passare il momento magnetico nucleare da un orientazione all'altra per un nucleo con costante γ sarà $\nu = \gamma B/2\pi$. Questa espressione rappresenta la condizione fondamentale di risonanza per ottenere uno spettro NMR. Il nucleo osservato sarà perciò

soggetto ad una variazione di frequenza (ν) a campo magnetico (B) costante o viceversa e gli spettri ottenuti saranno calibrati in unità di frequenza Hertz. A campi magnetici dell'ordine di 10-100 kiloGauss, le frequenze di risonanza della maggior parte dei nuclei cadono nella regione delle radiofrequenze (5-400 MHz). Per ottenere uno spettro NMR è necessario un eccesso di popolazione di spin nel livello a più bassa energia così che possa esserci assorbimento di energia e passaggio a un livello ad alta energia. Benchè questo sia vero in equilibrio termico, l'eccesso è piuttosto basso ed è perciò causa di una scarsa sensibilità della tecnica NMR rispetto, ad esempio, all'infrarosso. Tuttavia c'è il vantaggio che il segnale NMR è direttamente proporzionale al numero dei nuclei che lo producono e si ottiene quindi una misura quantitativa.

2.1. Spettrometri NMR

Gli Spettrometri NMR ad alta risoluzione con tecnica ad onda continua (cioè la scansione continua di frequenza in un intervallo) necessitano di un magnete, o di un trasmettitore e ricevitore di radiofrequenza. Quando si raggiunge la condizione di risonanza per il nucleo in osservazione, questo assorbe energia passando al livello di spin più energetico. La variazione di frequenza è captata dal ricevitore, amplificata e registrata (Fig.2). Gli spettri sono normalmente registrati con il campo

(Qui Fig.2)

magnetico che aumenta da sinistra a destra mentre la frequenza aumenta da destra a sinistra.

2.2 Chemical shift

Gli elettroni dei nuclei in una molecola, quando sono immersi in un campo magnetico, ruotano generando un campo magnetico a loro volta che può schermare o deschermare il campo magnetico applicato. Questo fenomeno permette di ottenere una serie di bande, invece di una sola banda per i nuclei in osservazione in una molecola a seconda del loro intorno chimico. cioè il campo magnetico risentito da un nucleo sarà diverso da quello applicato di una differenza dovuta ai campi magnetici degli elettroni circostanti. Questa differenza in frequenza di un assorbimento rispetto ad un composto di riferimento diviso per la frequenza applicata:

δ= (v campione - v riferimento)/frequenza applicata (Hz) x 10^6

ed è espresso in ppm. Per esempio in uno spettro 1H a 60 MHz, due picchi separati da 60 Hz sono ad una distanza di 1 ppm. Gli stessi due picchi in uno spettrometro a 100 MHz saranno distanti 100 hz ma sempre di 1ppm.

2.2 Accoppiamento spin-spin

La proporzione tra l'intensità di un picco NMR ed il numero di nuclei che lo produce e la differente frequenza di assorbimento di gruppi di nuclei dovuta al chemical shift, sono fattori importanti per ottenere informazioni molecolari da uno spettro. Un altro fenomeno, l'accoppiamento spin-spin, fa apparire i picchi come strutture a multipletto arricchendo così lo spettro di informazioni. Questo effetto è causato dall'interazione degli spin nucleari (momenti magnetici) di una serie di nuclei con quelli di un'altra. Più i nuclei sono lontani e meno questo effetto è visibile. Due gruppi CH vicini, per esempio, danno due coppie di picchi poichè ciascun protone

risente delle due orientazioni di spin dall'altro. Un CH vicino ad un CH2, fornisce un multipletto di 3 picchi poichè risente degli accoppiamenti di spin del CH2 che sono 4: ↑↑, ↓↓, ↑↓, ↓↑. Gli ultimi due sono di uguali energia perciò si sommano dando un picco di intensità doppia. Il CH2 a sua volta risente delle due sole orientazioni di spin del CH e da due picchi di uguale intensità. Il tripletto del CH ed il doppietto del CH2 hanno i picchi separati dalla stessa frequenza (Hz) che si chiama costante di accoppiamento. In generale quando un nucleo interagisce con n altri nuclei equivalenti mostra un multipletto di n+1 picchi.

2.3. Tempi di rilassamento

Come è stato accennato, per ottenere uno spettro NMR è necessaria una popolazione di stati di spin a bassa energia che possono assorbire alla radiofrequenza. Dopo un'eccitazione ci deve essere un ritorno degli spin nucleari al livello di bassa energia per ottenere una nuova misura NMR. Questo effetto è espresso con i tempi di rilassamento necessari per raggiungere di nuovo l'equilibrio termico. Vi sono due tipi di rilassamento che contribuiscono sia singolarmente sia in comune al ristabilirsi dell'equilibrio termico di spin. Il primo è il rilassamento reticolare di spin (spin -lattice) ed è dovuto al trasferimento di energia dal nucleo ad alta energia verso i campi fluttuanti del reticolo molecolare circostante. Il tempo di questo rilassamento (T1) è inversamente proporzionale al segnale NMR. Negli spettrometri ad onda continua (CW) la scansione nell'intervallo di frequenza è sufficientemente lento per

permettere a nuclei di essere sempre in equilibrio termico. Problemi esistono negli spettrometri ad impulsi o a Trasformata di Fourier (FT) in cui la frequenza degli impulsi è troppo breve per far si che quei nuclei con T1 lungo raggiungano l'equilibrio termico e perciò si ottengono dei bassi segnali. Il secondo processo è il rilassamento spin-spin (tempo T2) per il quale il nucleo a più alto stato di spin, trasferisce energia ad un nucleo più vicino per scambio di spin con questo. T2 è inversamente proporzionale alla larghezza del picco NMR. Perciò per tempi di rilassamento troppo brevi come nel caso di polimeri ad alto peso molecolare o di atomi paramagnetici, si avranno segnali bassi ed allargati con conseguente perdita in risoluzione. I tempi di rilassamento influiscono sugli spettri dei nuclei in osservazione. I tempi per il protone sono generalmente corti (1s) e gli spettri non risentono delle differenze in tempi di rilassamento dei vari protoni nella molecola. Per il 13C invece, questi tempi variano da millisecondi (nei polimeri) ad alcune centinaia di secondi, cosi che uno spettro può cambiare notevolmente a seconda delle condizioni di acquisizione dello spettro.

2.4. NMR a impulsi

La limitazione più grande inerente alla spettroscopia NMR è la mancanza di sensibilità dovuta al numero ristretto di salti di energia tra i livelli di spin derivante dal piccolo eccesso di popolazione di spin a bassa energia. Poichè l'energia degli stati di spin è proporzionale alla forza del campo magnetico applicato si è tentato di risolvere il problema aumentando la forza del magnete impiegato. Oggi con i magneti superconduttori sono

disponibili spettrometri NMR che operano fino a campi di 600 MHz. Ciò ha permesso un notevole aumento di sensibilità per lo studio del nucleo di idrogeno. Tuttavia per il 13C, poichè la presenza naturale di questo isotopo è molto bassa (1,1%), la sensibilità ottenibile è solo 1.7x10-4 volte quella del protone. Un modo per aumentare il rapporto segnale/rumore è di accumulare più spettri di un campione. Nonostante l'aiuto di un calcolatore questo procedimento è ancora molto lento perchè, nell'NMR ad onda continua, per la scansione ad una sola frequenza lungo l'intervallo di frequenze, occorrono dai 100 ai 500 s. Invece di una frequenza alla volta sarebbe molto più veloce irradiare contemporaneamente tutte le frequenze di uno spettro. Questo è il principio su cui si basa la tecnica NMR a impulsi: i nuclei sono soggetti ad un impulso di radiazione brevissimo ed ad alta energia in modo che tutti i nuclei del campione risuonino contemporaneamente a tutte le frequenze volute. (0-1000 Hz per 1H; 0-5000 Hz per 13C; 0-10.000 per 15N). Togliendo l'impulso, l'energia emessa dal sistema di spin per tornare all'equilibrio termico è registrata e immagazzinata da un calcolatore. Mentre la tecnica NMR ad onda continua è una pettroscopia di assorbimento, quella ad impulsi è perciò di emissione. Lo spettro NMR ad impulsi è una misura di intensità in funzione del tempo ed è rappresentato da una curva che mostra il decadimento esponenziale del segnale fino a 0 cioè il ritorno della popolazione di spin all'equilibrio termico. (Fig.3a). Questa curva esponenziale è conosciuta come FID (free induction decay) o interferogramma ed ha un andamento sinusoidale tanto più complesso quanti più sono i

nuclei a risuonare a diverse frequenze (Fig. 3b,c).

(Qui Figura 3)

Negli spettrometri NMR ad impulso esiste una geometria tale che l'impulso ricevuto dai nuclei che ruota il momento magnetico nucleare di 90° è quello che produce il massimo rapporto segnale/rumore. Tuttavia dopo questa rotazione, i tempi di rilassamento necessari per ristabilire l'equilibrio termico prima di un nuovo impulso e quindi di una nuova misura di risonanza sono molto lunghi. Al fine di diminuire il tempo di attesa tra un impulso e l'altro si preferisce irradiare i nuclei così da ottenere rotazioni tra 30° e 50°. In questo modo si può ottenere uno spettro ogni 0.1-2 s a seconda dei tempi di rilassamento dei nuclei e i FID per ogni spettro sono sommati e mediati da un calcolatore incorporato.

2.5. Trasformata di Fourier

E' impossibile risalire dall'aspetto di un FID (intensità contro tempo) ad una struttura molecolare come si è visto è possibile da uno spettro ad onda continua (intensità contro frequenza). Per ottenere informazioni utili si trasforma, con l'aiuto di un calcolatore, uno spettro FID in uno spettro CW. A questo si arriva attraverso un processo matematico chiamato Trasformata di Fourier che mette in relazione il tempo con la frequenza: $F(w)=\int_{-\infty}^{+\infty} f(t)\ \exp{-iwt}\ (dt)$ dove F(w) è una funzione di frequenza e f (t) la corrispondente funzione di tempo. Attraverso l'integrazione reiterativa da parte di un calcolatore delle emissioni nucleari è possibile ottenere uno spettro FT-NMR con un rapporto segnale/rumore molto più alto di uno spettro CW-NMR in un tempo circa 1000 volte inferiore.

2.6. Spettri 13C NMR

Gli spettri FT-NMR del carbonio 13 sono comunemente ottenuti con una scansione su un intervallo da 0 a 5000 Hz che con un campo magnetico applicato di 24.5 kG corrispondono ad un intervallo di circa 0-200 ppm. Un esempio di spettro di routine per il magnesio è riportato in Fig.4 con i relativi dati di acquisizione.

(Qui Fig.4)

2.7. Disaccoppiamento del protone in spettri 13C-NMR

L'accoppiamento spin-spin descritto per gli spettri 1H NMR non esiste per il 13C poichè, data la bassa presenza naturale di questo isotopo (1,1%), la probabilità di trovare due nuclei 13C accoppiati in una molecola produrrà un singolo segnale separato in uno spettro 13C-NMR semplificando notevolmente l'interpretazione degli spettri. Non trascurabile invece è l'accoppiamento con nuclei di 1H che darà luogo alla formazione di multipletti complessi. Per mantenere la semplicità degli spettri 13C-NMR si usa disaccoppiare i protoni con una tecnica chiamata disaccoppiamento del rumore del protone (proton noise decoupling) che consiste nell'irradiare con un impulso contemporaneo all'impulso per il 13C l'intervallo di frequenze del protone (0-1000 Hz).

2.7. Effetto nucleare di Overhauser (NOE)

Il disaccoppiamento del protone dal 13C ha come effetto di intensificare i segnali del 13C fino ad un massimo di 3 volte. Questo fenomeno, che deriva da un più efficiente ritorno degli stati di spin all'equilibrio termico, viene chiamato effetto

nucleare di Overhauser (NOE)

2.8. Disaccoppiamento "inverse gated"

Specialmente in polimeri ad alto peso molecolare dove i nuclei 13C possono avere intorni chimici molto diversi e quindi differenti comportamenti all'NMR, l'effetto NOE può distorcere l'aspetto dello spettro favorendo in modo fittizio alcuni segnali rispetto ad altri. Per ovviare a questo inconveniente si acquisisce lo spettro mantenendo il disaccoppiamento del protone ma eliminando l'effetto Overhauser conseguente. Per ottenere ciò si spenge il disaccoppiatore prima dell'impulso così che al momento dell'impulso gli stati di spin del protone sono in normale equilibrio di popolazione. Lo si accende poi solo durante l'impulso per ottenere il disaccoppiamento e quindi si attende, a disaccoppiatore spento, un tempo sufficiente a ristabilire l'equilibrio termico. In questo modo non si perturbano i tempi di rilassamento e si elimina l'effetto Overhauser.

2.9. NMR di solidi. Cross Polarization Magic Angle Spinning (CP-MAS).

I principi su esposti per FT-NMR sono principalmente applicabili a misure su molecole in soluzione. Le cose si complicano nel caso dei solidi. Il rilassamento spin-spin in un solido è così efficiente da far aumentare enormemente la larghezza dei segnali e da limitare conseguentemente, le informazioni ricavabili dal chemical shift. Inoltre il tempo di rilassamento reticolare è invece molto lungo estendendo in maniera proibitiva i tempi di acquisizione di spettri. Questo problema è in parte risolto con una tecnica chiamata Cross

Poralization. Senza entrare in troppi dettagli, questa tecnica si basa su un disaccoppiamento dei protoni e un riarrangiamento delle loro energie di spin così da avvicinarle a quelle del 13C. In questo modo si aumenta il numero di transizioni di spin, si diminuiscono quindi i tempi di acquisizione degli spettri e si migliora la risoluzione dei picchi. La larghezza dei picchi è ulteriormente ridotta quando il campione in osservazione è posto ad un angolo di 54° 44' rispetto al campo magnetico. Questo angolo è chiamato "magic angle".

3. SPETTROMETRIA INFRAROSSA FT

La spettrometria infrarossa si basa sull'assorbimento da parte di molecole organiche di energia luminosa nell'intervallo di frequenze tra 4000 e 700 cm-1 (cm-1 o numeri d'onda cioè l'inverso della lunghezza d'onda espressa in cm). L'energia luminosa viene trasformata in energia vibrazionale di una molecola intorno ai suoi vari assi di simmetria. Le intensità delle oscillazioni simmetriche o non simmetriche di atomi di una molecola intorno agli assi sono funzione della massa atomica e delle forze di legame. Perciò l'assorbimento di energia avverrà a frequenze specifiche a seconda dei tipi di atomi impegnati nella oscillazione. Cioè le energie corrispondenti ai salti tra gli stati quantici vibrazionali hanno valore diverso per ogni gruppo biatomico o triatomico oscillante. Ciò permette di registrare uno spettro di bande in cui ciascuna di esse corrisponde ad un determinato gruppo (O-H, C-H, C=O ecc) e ottenendo così notevoli informazioni sulla struttura della molecola in osservazione.

Gli spettrometri infrarossi tradizionali a dispersione rivelano la diminuzione di energia di un fascio di luce che

attraversa il campione analizzando una ad una le frequenze luminose dopo che esse sono state disperse attraverso un prisma e sottratte da quelle provenienti da un riferimento. Ciò si ottiene facendo percorrere ai due fasci luminosi (quello del campione e quello del riferimento) lo stesso cammino ottico.

Nei moderni spettrometri FT-IR il cammino ottico di uno dei due fasci è costante mentre per il secondo vi è una variazione di lunghezza dovuta ad uno specchio mobile. I due fasci sono poi riuniti e fatti passare per il rivelatore. L'effetto dello specchio mobile è quello di introdurre una differenza di fase tra i due fasci luminosi e quindi provocare una interferenza al momento della loro congiunzione. Per una sorgente luminosa ad una sola frequenza, il segnale misurato dal rivelatore è una curva sinusoidale chiamata interferogramma di Michelson. Per una sorgente a frequenza multipla, come nel caso reale, l'interferogramma sarà la risultante dei segnali sinusoidali di ogni singola frequenza emessa. In questo modo, durante una misura, una radiazione contenente informazioni relative a tutte le frequenze raggiunge il rivelatore contemporaneamente. L'interferogramma è quindi registrato da un calcolatore e trasformato in uno spettro IR utilizzando il processo matematico della Trasformata di Fourier come per le misure NMR. Qui, da un interferogramma che da le intensità in funzione della distanza dello specchio, si passa allo spettro delle intensità contro la frequenza. La possibilità di utilizzare il principio di Michelson è stata data dall'introduzione di rivelatori molto più sensibili dei tradizionali bolometri o termocoppie, come i Tellurii di

Cadmio e Mercurio o gli Antimoniuri di Indio raffreddati in azoto liquido.

Con i moderni FT-IR, gli spettri che si acquisivano tradizionalmente in un quarto d'ora, sono ottenuti in 1 o 2 secondi. In un veloce strumento è possibile accumulare 50 interferogrammi ed ottenere il relativo spettro in un secondo. Altri fondamentali vantaggi degli spettrometri FT-IR sono un'altissima sensibilità ed un'alta risoluzione dai segnali dovuta alla grande precisione nel rivelamento della frequenza. Inoltre grazie all'alto rapporto segnale rumore, alla grande sensibilità, ed all'ausilio di potenti calcolari sono offerte possibilità di manipolazione di spettri impensabili con gli IR a dispersione. Per esempio, è possibile fare delle sottrazioni di spettri accuratissime e, con i dovuti programmi, comparare uno spettro con 10.000 spettri in libreria computerizzata in meno di 10 secondi.

4. SPETTRI FT-NMR E FT-IR DI SOSTANZE UMICHE

Diversi autori hanno iniziato ad impiegare la tecnica FT-NMR in esperimenti con sostanze umiche del suolo che di altra origine. Sono stati individuati i chemical shift relativi al protone (Tavola 1) e da questi studi si è evidenziato che almeno

(Qui Tavola 1)

il 30% delle sostanze umiche è composto da catene polimetileniche e da gruppi metili terminali. La presenza di gruppi aromatici sembra variare con l'origine delle sostanze umiche esaminate e con il loro peso molecolare ma non si è ancora giunti ad una definitiva conclusione.

E' comunque l'applicazione del 13C FT-NMR che ha dato e sta

dando le maggiori soddisfazioni. Gli spettri di soluzioni di sostanze umiche e dei loro derivati (prodotti metilati) e di campioni solidi di suolo con CP-MAS-NMR hanno permesso di individuare i chemical shift dei vari 13C nelle molecole umiche (Tavola 2). Si è inoltre confermata la presenza delle catene polimetileniche, si sono individuati segnali di carboni legati ad alcoli e eteri, si sono osservati picchi per i carboni aromatici eccetto che per sostanze umiche sottoposte a dialisi estensive, e si sono identificati i carboni dei gruppi carbossilici e chetonici.

(Qui Tavola 2)

4.1 FT-NMR di sostanze umiche estratte con diversi meccanismi

L'autore del presente lavoro ha utilizzato la tecnica 13C FT-NMR su sostanze umiche estratte dal suolo con tre diversi meccanismi. I primi due meccanismi, repulsione di carica e scambio di legante, sono operanti quando si usano come soluzioni estraenti NaOH e Na4 P2 O7 a pH=7, rispettivamente. Il terzo meccanismo di estrazione è ottenuto solvatando le sostanze umiche con miscele di solventi dipolari aprotici (DMSO, DMF, Acetone) con HCl diluito. Queste miscele separano le macromolecole umiche rompendo i legami d'idrogeno più forti a causa del loro forte momento dipolare con gli idrogeni dei gruppi funzionali acidi (Piccolo e Mirabella, 1987; Piccolo, 1988) Benchè l'estrazione con le miscele di dipolari aprotici diano delle rese di estratti umici inferiori a quelle ottenute con i primi due meccanismi, solvatono meno contaminanti inorganici e quindi, teoricamente, dovrebbero subire minori alterazioni dalla successiva

purificazione con HCl-HF 0.5%. Gli estratti con i tre meccanismi da un suolo organico (Histosol) prima e dopo la purificazione delle impurità inorganiche sono stati esaminati al 13C FT-NMR.

Gli spettri sono stati registrati in uno spettrometro Varian XL 300 a 75.4 MHz, seguendo le indicazioni di Preston e Blackwell (1985) per ottenere spettri quantitativi limitando la distorsione dovuta all'effetto Overhauser ed al rilassamento reticolare incompleto. E' stata usata la tecnica di disaccoppiamento "inverse gated", con un tempo di acquisizione di 0.1 s, con un impulso a 45° ed un tempo di attesa senza disaccoppiatore di 1.9 s. In questo modo sono stati accumulati da 50.000 a 100.000 scansioni.

Gli spettri estratti con i vari estraenti e poi purificati con HCl-HF 0.5% sono riportati in Fig. 5-9. Tutti gli spettri non purificati mostrano un forte segnale intorno a 32 ppm tipico dei

(Qui Figura 5)

gruppi CH2 in lunghe catene polimetileniche. Questa banda è ridotta notevolmente dopo la purificazione pur rimanendo ben visibile specialmente per gli estratti con DMF e Acetone (HE1 e HE3). Il picco a 40 ppm è attribuito a carboni alchilici e amminoacidici. Sembra, quindi, che il contributo in amminoacidi sia più consistente negli estratti con NaOH, Na4 P2 O7, e DMSO (HA1, HA2, HE2) dove con la purificazione il picco a 40 ppm

(Qui Fig. 6)

aumenta relativamente a quello a 32 ppm. I picchi a 53 e 56 ppm sono attibuiti ai gruppi metossilici mentre il segnale a 58 ppm è anch'esso dovuto a carboni amminoacidici. Quest'ultimo picco non appare diminuito dal trattamento di purificazione così da far

supporre che i relativi gruppi peptidici siano intimamente legati alla struttura umica.

(Qui Fig. 7)

I segnali intorno a 63, 74 e 105 ppm sono attribuiti a carboni in carboidrati ed appaiono più prominenti negli spettri da NaOH e DMSO. In quest'ultimo sono visibili picchi a 101 e 105 ppm. Questi segnali sono comunque ridotti dalla purificazione indicando una perdita di carboidrati per tutti gli estratti. La regione dei carboni aromatici include l'intervallo 105-145 ppm. Questi segnali sono spostati a campi più bassi con l'aumentare della sostituzione sugli anelli. La presenza di un forte segnale a 120 ppm negli spettri dei dipolari aprotici suggerisce la presenza di anelli non sostituiti in questi estratti.

(Qui Fig. 8)

Questa regione è comunque generalmente ridotta dal trattamento con HCl-HF 0.5%. L'intervallo 165-190 ppm copre i carboni in diversi tipi di gruppi COOH. I segnali in questa regione diminuiscono con la purificazione negli spettri dei dipolari aprotici mentre aumentano in HA1 P e HA2 P. Ciò può essere dovuto o ad un effetto di concentrazione al diminuire di altre classi di composti o a delle reazioni di ossidazione.

(Qui Fig. 9)

Gli spettri 13C NMR di sostanze umiche mostrano normalmente dei buoni rapporti segnale rumore ma sono poco risolti per la natura eterogenea delle molecole e per la loro tendenza ad aggregarsi in micelle. Gli estratti dipolari aprotici presentano degli spettri con maggiore risoluzione di quelli ottenuti con

NaOH e Na4 P2 O7 fornendo un'indicazione della loro minore eterogeinità e complessità molecolare.

4.2. FT-IR di Sostanze Umiche estratte con diversi meccanismi

Gli stessi campioni di sostanze umiche estratte con i tre meccanismi suddetti sono stati studiati anche con spettrometria FT-IR e gli spettri per gli estratti prima e dopo la purificazione con HCl-HF 0.5% sono riportati in Fig. 10. Gli spettri FT-IR sono stati ottenuti con uno spettrometro DIGLAB FTS-15 attrezzato con un calcolatore DATA GENERAL NOVA 4, con una sorgente Globar, un divisore di fascio Ge/Kbr ed un rivelatore al Hg/Cd/Te raffreddato con azoto liquido. Lo spettro per ogni campione è stato ottenuto accumulando 400 interferogrammi ad una risoluzione di circa 2 cm-1 in un tempo totale di circa 8 min. Inoltre ogni spettro è stato moltiplicato di un coefficiente F=100/100-C che tiene conto del contenuto di ceneri (C) misurato per termogravimetria in modo da correggere per il reale contenuto di sostanza organica.

(Qui Fig. 10)

Gli spettri di tutti gli estratti mostrano con la purificazione un aumento delle bande a 3400 cm-1 (vibrazione di stretching) di OH in gruppi carbossilici e alcolici), 2600 cm-1 (OH di COOH impegnati in legami di idrogeno), 1715 cm-1 (stretching C=O dei COOH) e 1220 cm-1 (stretching e deformazioni di OH di COOH). Questa intensificazione della banda deve essere attribuita alla liberazione, dovuta al HF, dei gruppi carbossilici impegnati nei complessi umo-argillosi. Infatti le bande attribuite agli stretching simmetrici e asimmetrici C=O negli ioni carbossilati sono contemporaneamente ridotte a 1620 e

1415 cm-1. Gli spettri mostrano una generale diminuzione dai gruppi alchilici centrati a 2920 e 2850 cm-1, particolarmente accentuata per gli estratti con NaOH e Acetone. La banda intorno a 1515 cm-1 attribuibile al C-N stretching del gruppo ammidico peptidico è visibile in tutti gli spettri eccetto HA2. Questa banda non scompare con la purificazione confermando l'osservazione fatta per gli spettri NMR che catene peptidiche sono fortemente legate alla struttura umica. Molto chiaro è l'effetto della purificazione sulla banda del Si-O dei minerali argillosi e 1030 cm-1 che scompare quasi del tutto.

(Qui Fig. 11)

Il calcolatore abbinato allo spettrometro FT-IR permette di ottenere la sottrazione di spettri sfruttando l'alta sensibilità e risoluzione dello strumento. Gli spettri sottrazione degli estratti non purificati meno i purificati sono mostrati in Fig. 11. I segnali positivi rappresentano gruppi presenti negli estratti non purificati e che sono stati persi negli estratti purificati mentre i segnali negativi indicano gruppi che sono stati resi visibili all'infrarosso dalla purificazione. La scomparsa delle impurezze silicatiche è evidenziata dai segnali positivi intorno ai 3650 cm-1 e 1030 cm-1 per gli estratti con NaOH e Na4 P2 O7 (HA1 e HA2). Un aspetto simile hanno gli spettri differenza per Na4 P2 O7 e DMF nei quali è ben visibile l'aumento di gruppi carbossilici nel purificato (1715 e 1220 cm-1) dovuto probabilmente anche ad un effetto di concentrazione. Nei due spettri differenza per DMSO e Acetone (HE2, HE3) più dell'acquisto di COOH è da notare il segnale positivo a 1580 e

1390 cm-1 dovuto alla perdita per purificazione dei segnali per lo ione carbossilato. La differenza per NaOH (HA1) mostra una leggera perdita di COOH oltre che di gruppi CH2 e CH3 (2920 e 2850 cm-1). In generale, appare, che i meccanismi di scambio di legante (Na4 P2 O7) e di legame d'idrogeno solvatano sostanze umiche che, dopo purificazione, hanno un contenuto relativamente più alto di funzioni carbossiliche e quindi rappresentano una frazione umica del terreno a maggiore reattività acida.

5. RIFERIMENTI

Piccolo A., 1988. Characteristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl-HF treatment. Soil Science, in corso di stampa.

Piccolo A. e A. Mirabella, 1987. Molecular weight distribution of peat humic substances extracted with different inorganic and organic solutions. The Sci. of Tot. Environ. 62:39-46.

Preston C.M. e B.A. Blackwell, 1985. Carbon-13 NMR for a humic and a fulvic acid: signal-to-noise optimization, quantitation, and spin-echo techniques. Soil Sci. 139:88-96.

Stevenson F.S., 1982. Humus Chemistry. Genesis, composition, reactions. Wiley, New York.

Wilson M.A., 1981. Applications of nuclear magnetic resonance spetrocopy to the study of the structure of soil organic matter. J. Soil Science, 32:167-186.

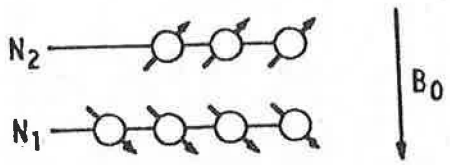


Fig.1 Orientazione di spin nucleari in un campo magnetico (^1H)

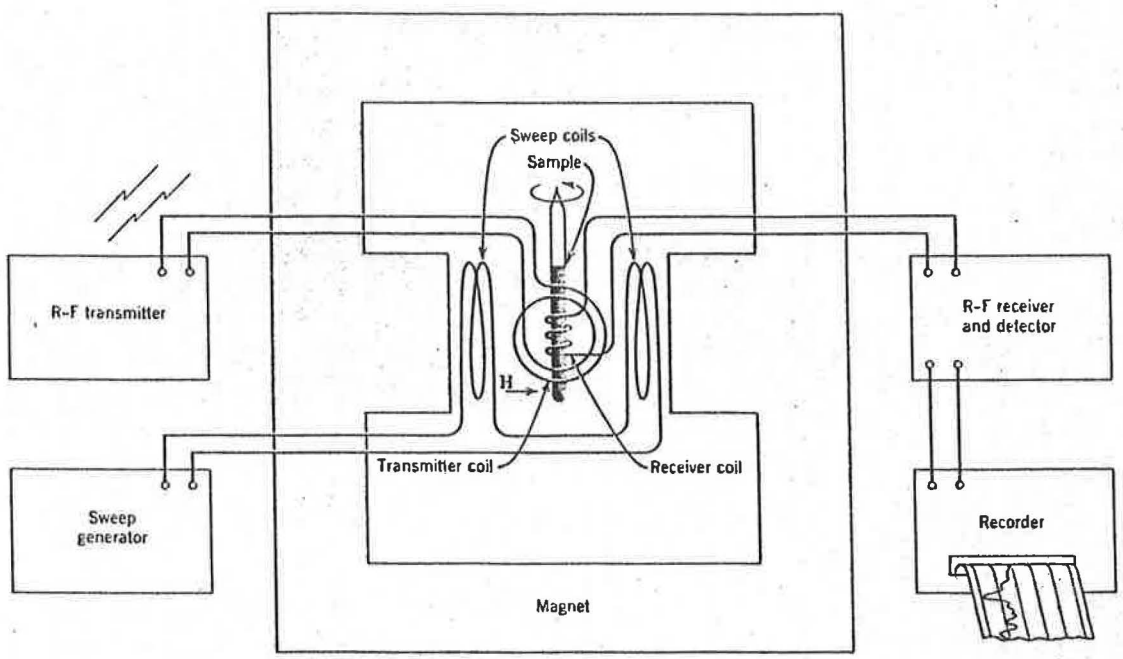


Fig.2 Schema di uno Spettrometro NMR

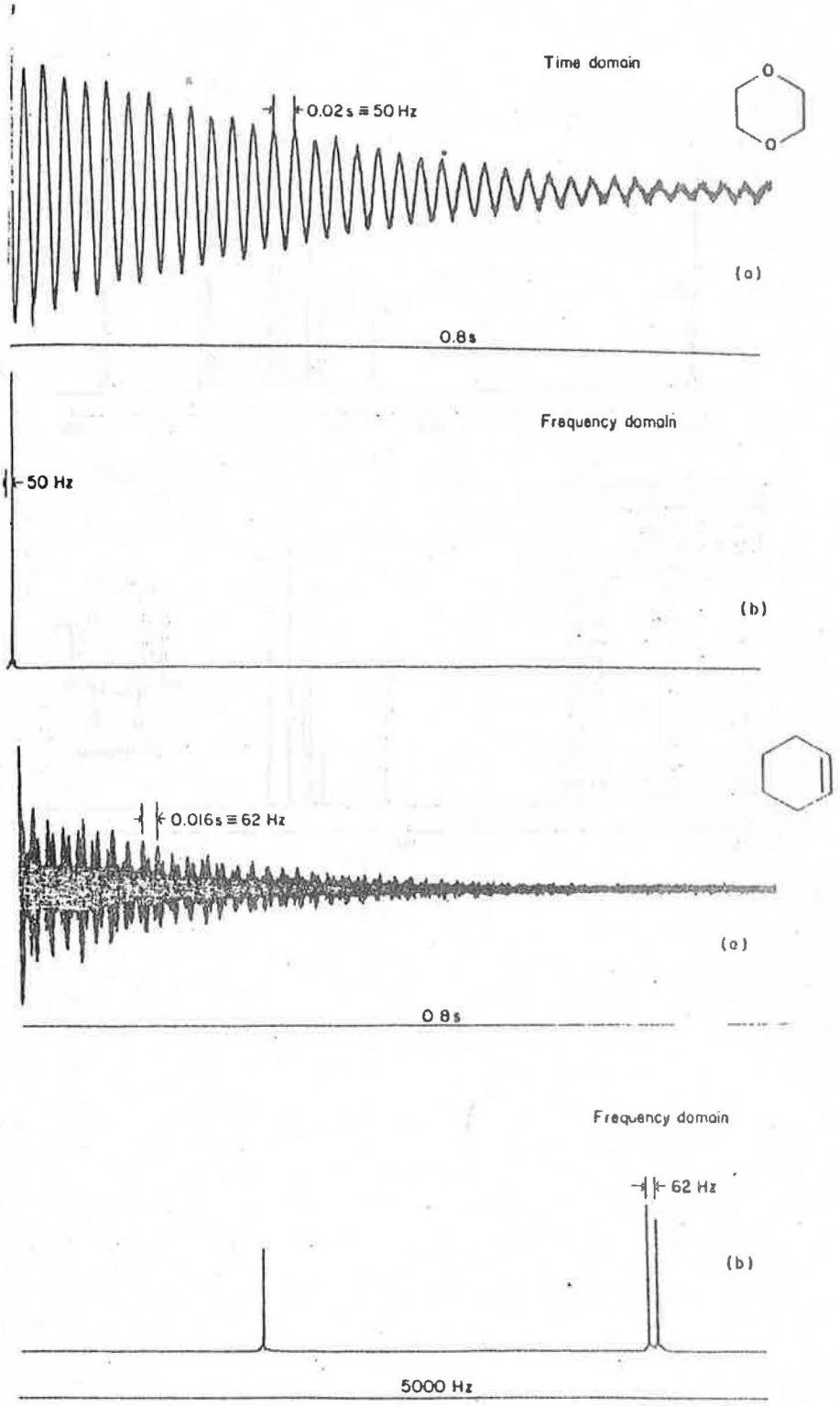
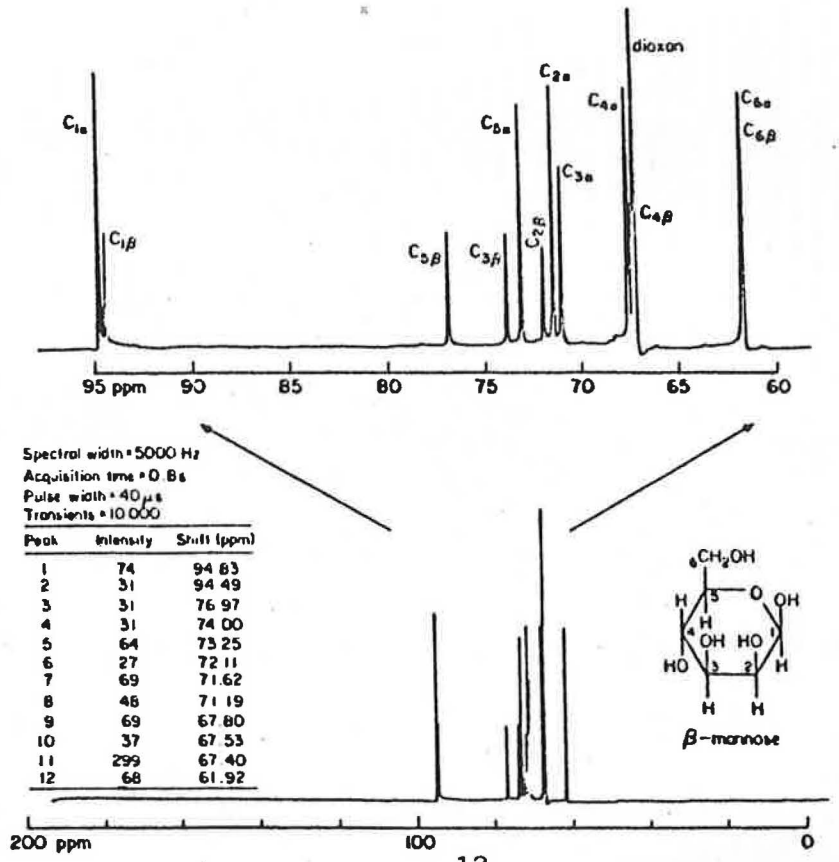


Fig.3 1. FID di uno spettro contenente una singola linea(a) spettro CW convebzionale(b).
2. FID complicato dall'interferenza di due segnali di C alifatici(a) spettro convenzionale CW (b).



Peak	Intensity	Shift (ppm)
1	74	94.83
2	31	94.49
3	31	76.97
4	31	74.00
5	64	73.25
6	27	72.11
7	69	71.62
8	48	71.19
9	69	67.80
10	37	67.53
11	299	67.40
12	68	61.92

Fig.4 Esempio di spettro ^{13}C NMR (Mannosio)

Tav.1 Frequenze di assorbimento ^{1}H NMR

δ (relative to TMS as 0)	Assignment
13.0 ppm	Carboxylic acid protons
10.0 ppm	Hydroxyl protons
6.0–7.5 ppm	Aromatic protons
4.0–5.5 ppm	Lactone protons
3.7 ppm	Methoxyl protons
2.6 ppm	Aliphatic protons attached C atom α to a benzene ring[b]
1.3 ppm	Aliphatic protons β to a benzene ring[b]
0.9 ppm	Aliphatic protons γ to a benzene ring[b]

Tav.2 Frequenze di assorbimento ^{13}C NMR

Chemical Shift (ppm)	Assignment
190–200	Carbons in aldehydes, ketones, and C=S groups
160–190	Carboxyl carbons in carboxyl, ester and amide groups
110–160	Aromatic carbons and olefinic carbons
90–110	Acetal carbons
50–70	CO carbons—alcohols esters, ethers, carbohydrates, amines
0–50	Alkyl carbons

Fig.5 ^{13}C NMR di estratti umici con NaOH non purificati (HA_1U) e purificati (HA_1P).

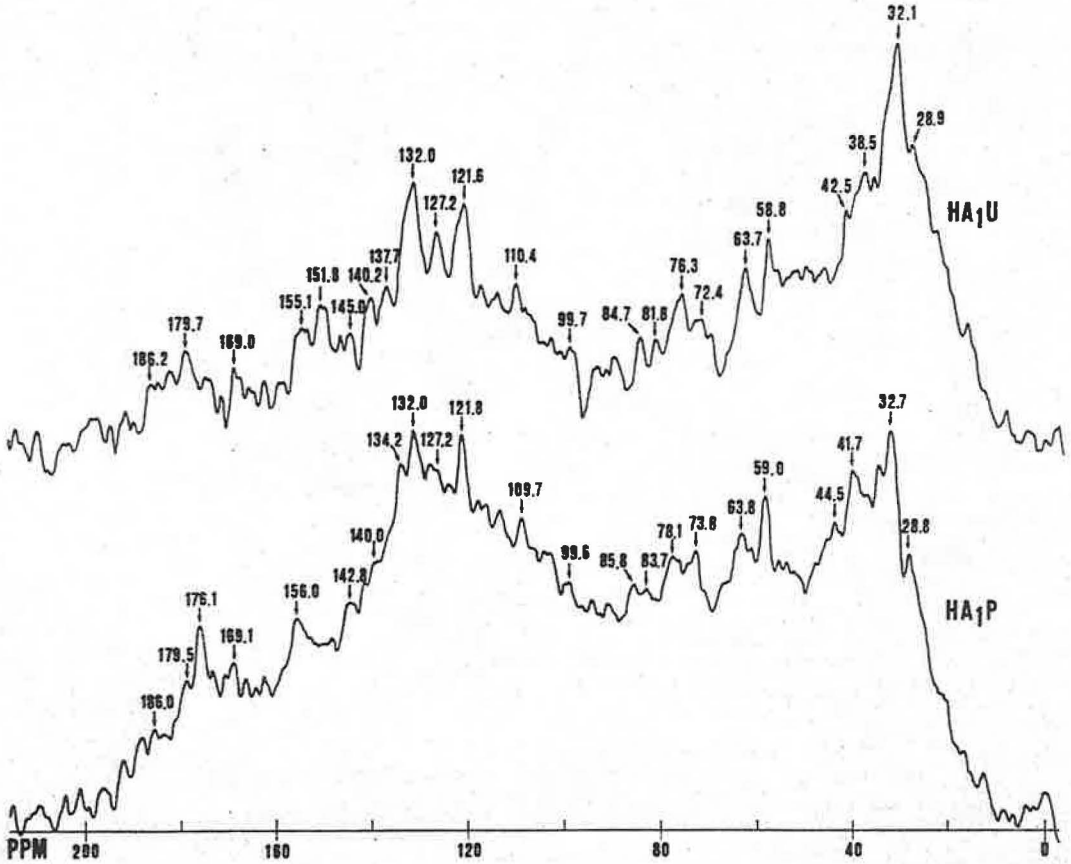


Fig.6 ^{13}C NMR di estratti umici con $Na_4P_2O_7$ non purificati (HA_2U) e purificati (HA_2P).

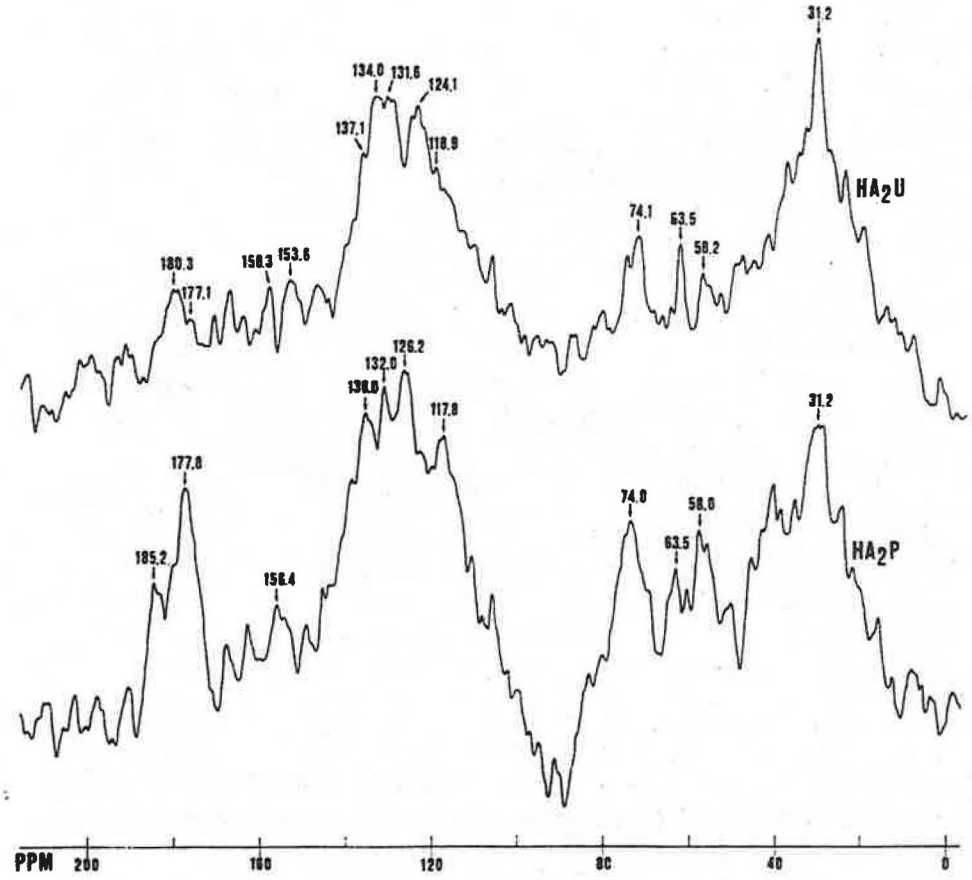


Fig.7 ^{13}C NMR di estratti umici con DMF non purificati (HE_1U) e purificati (HE_1P)

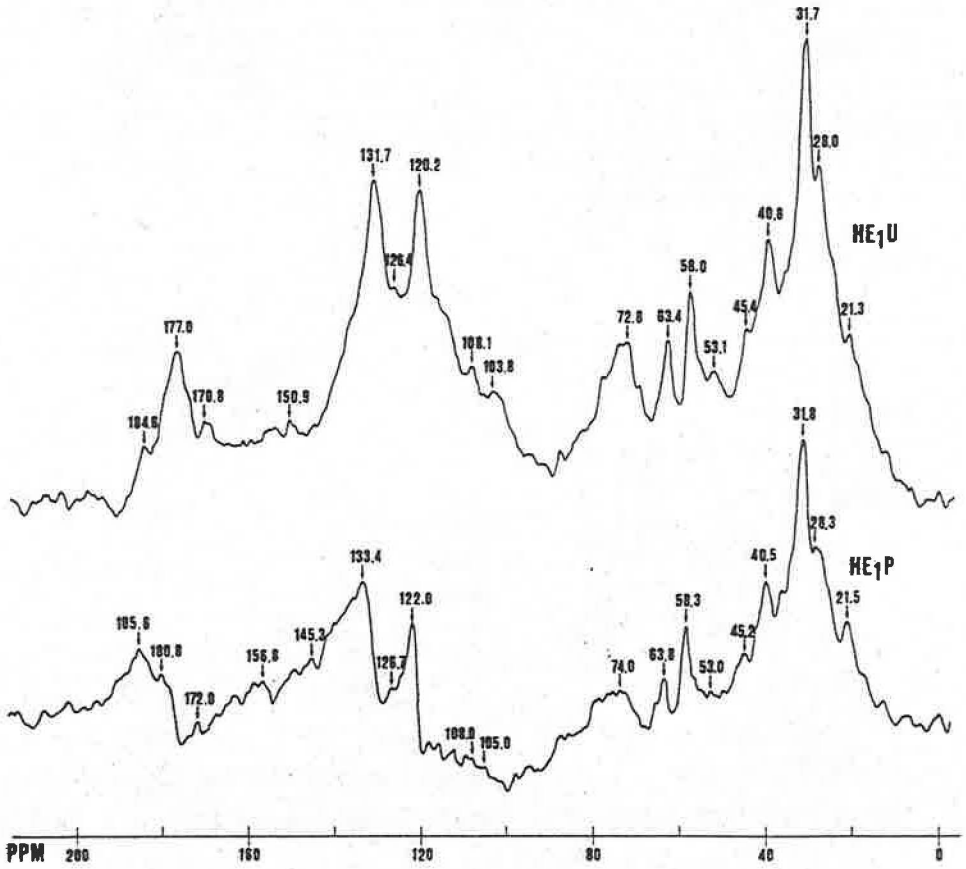


Fig.8 ^{13}C NMR di estratti umici con DMSO non purificati (HE_2U) e purificati (HE_2P).

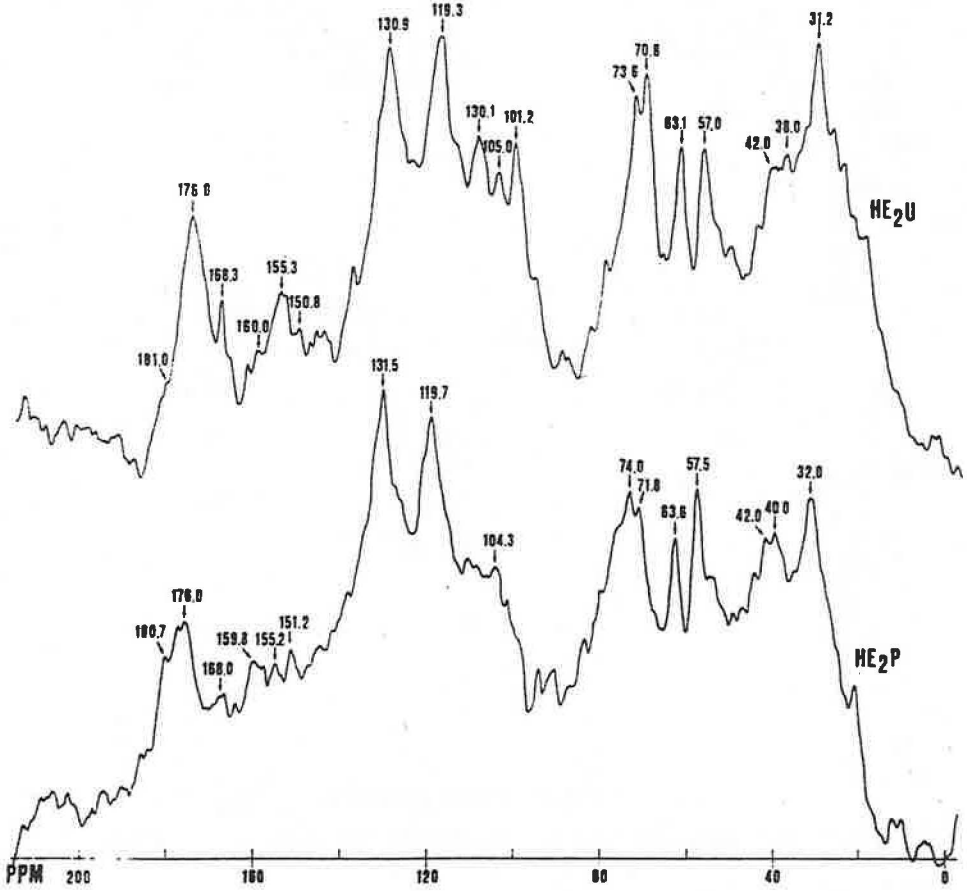


Fig.9 ^{13}C NMR di estratti umici con Acetone non purificati (HE_3U) e purificati (HE_3P)

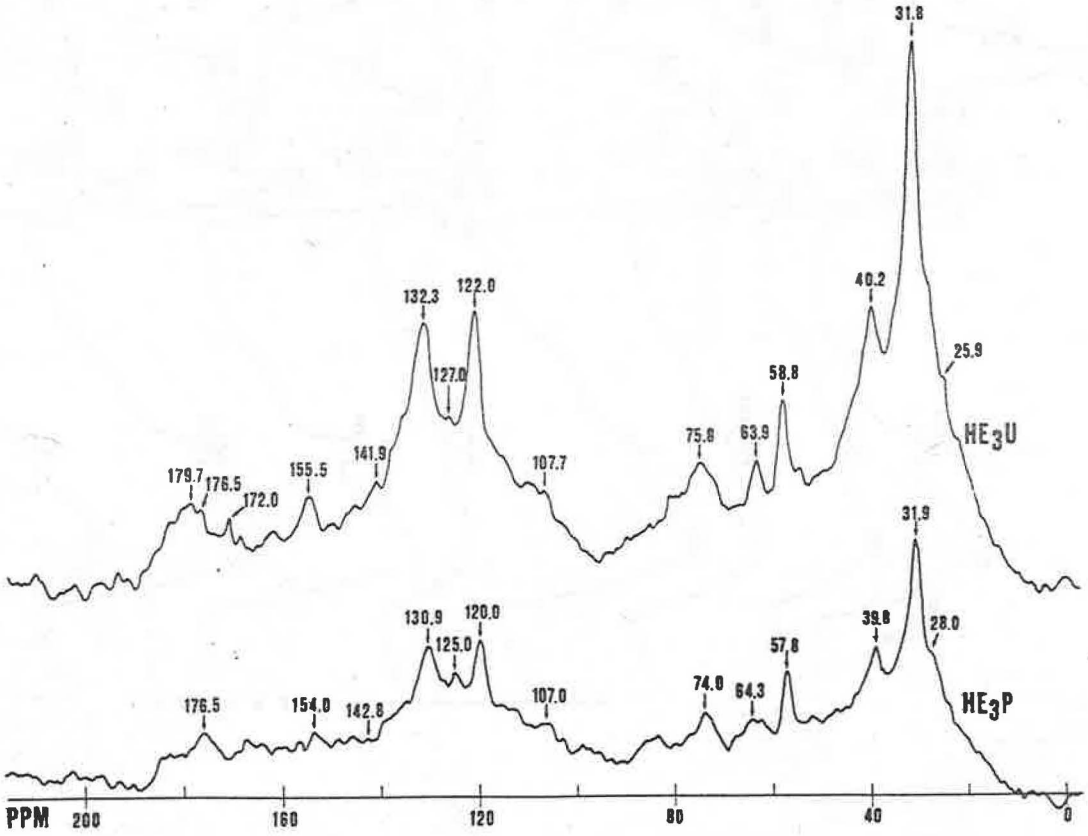
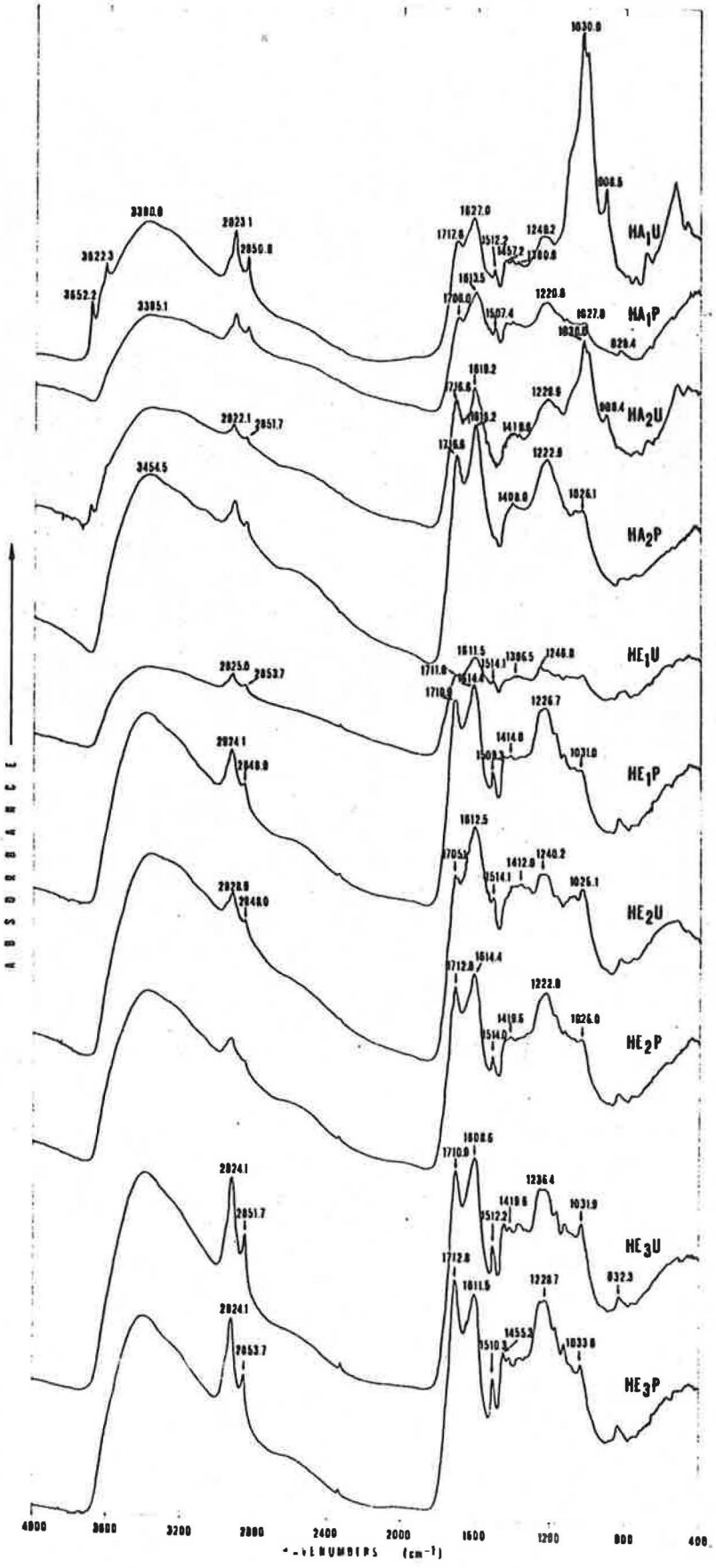
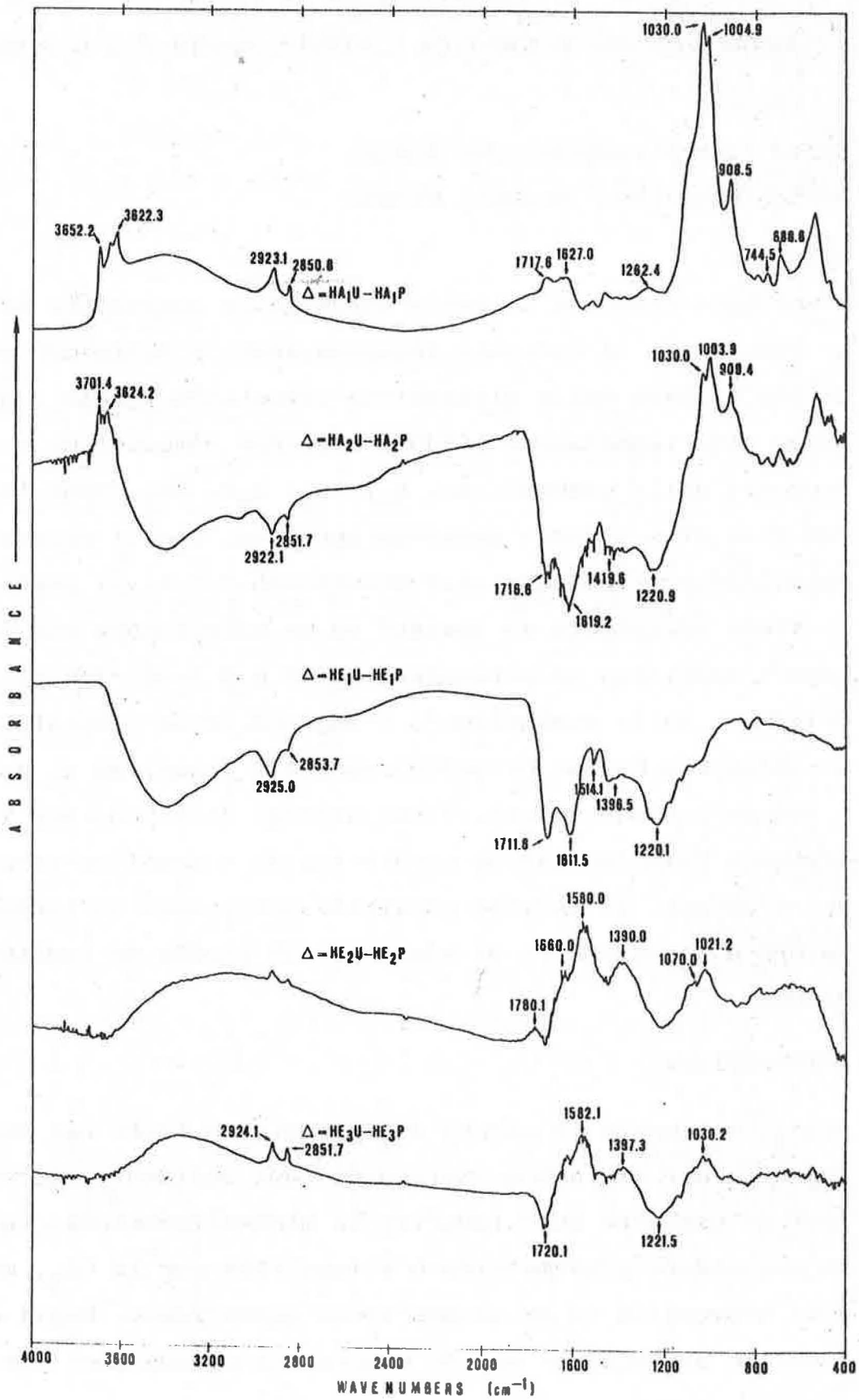


Fig.10 Spettri FT-IR di sostanze Umiche estratte con diversi meccanismi.



„Fig.11 Differenze di spettri FT-IR per i vari estratti umici



Verona 1988

GIORNATA DI STUDIO
SULL'"ANALISI DEL SUOLO

DETERMINAZIONE AUTOMATICA E SIMULTANEA DI C H N S NEI SUOLI

B. COLOMBO

Carlo Erba Strumentazione S.p.A.

Strada Rivoltana (Rodano) Milano

SOMMARIO

Viene descritta una metodica strumentale automatica per l'analisi simultanea di Carbonio,Idrogeno,Azoto e Zolfo nei suoli. Il metodo si basa sulla distruzione istantanea totale e quantitativa ad alta temperatura (1800°) mediante combustione a flash. I prodotti della combustione, N_2, Co_2, H_2O, So_2, sono trasferiti con Elio alla colonna gascromatografica, che li separa e rilascia quantitativamente alla misura con T.C.D. Il segnale generato viene registrato ed inviato ad un calcolatore che origina un report analitico in percentuali di C H N S ed rapporti tra i gas originati dalla combustione. L'impiego di un rivelatore specifico (Electron Captur Detector) consente l'analisi di zolfo totale a concentrazione di ppm. Viene altresì differenziato il carbonio organico dall'inorganico previa rapida e semplice preparazione del campione. E' inoltre possibile accoppiare in linea l'analizzatore a spettrometro di massa per lo studio di isotopi stabili di CNSO.

INTRODUZIONE

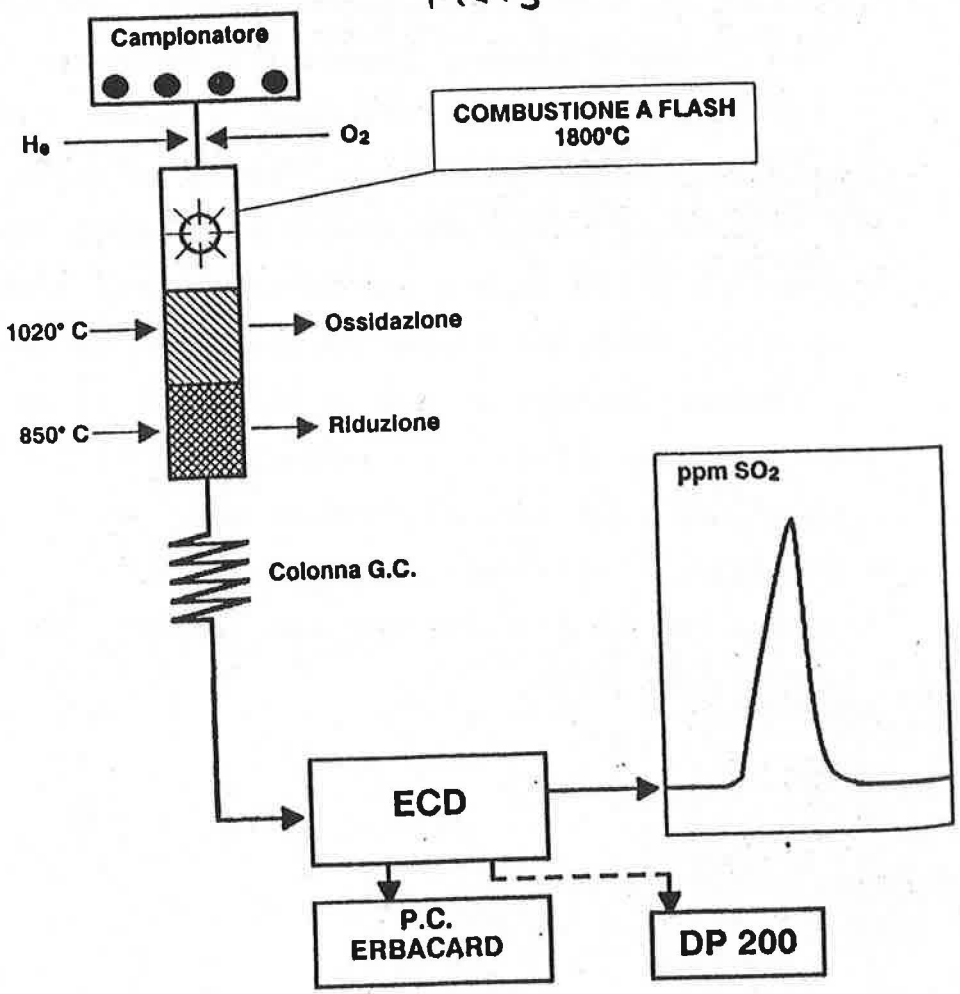
Tradizionalmente la misura di Carbonio ed Azoto nei suoli viene eseguita per via umida impiegando come ossidanti miscele di donatori di ossigeno onde favorire la mineralizzazione. La rivelazione può essere gravimetrica o volumetrica per la CO_2, mentre l'azoto convertito ad ammoniaca viene quantizzato. Negli ultimi decenni lo sviluppo di metodi moderni di combustione per la deter-

minazione simultanea di più elementi (1) conferma oggi la sua validità soprattutto per ciò che concerne accuratezza, riproducibilità e tempo totale di analisi. La combustione dinamica e quantitativa, seguita dalla separazione G.C. del singolo elemento è determinante per l'analisi rapida e precisa nella caratterizzazione dei suoli. Il tempo totale d'analisi, ridotto ad alcuni minuti non inficia precisione ed accuratezza, l'elaborazione dati, è affidata ad un Personal Computer, o ad un Processore dedicato. Per il calcolo percentualitico degli elementi vengono impiegati due metodi diversi di calibrazione, il primo tradizionale consiste nel calcolo mediante fattore di calibrazione. (2) Il secondo più attuale, impiega la calibrazione mediante l'equazione della retta utilizzando sostanze standard a contenuto variabile di ciascun elemento. Per questa esperienza è stato utilizzato l'Analizzatore Elementare E.A. 1108 della Carlo Erba Strumentazione, che impiega la tecnica originale di combustione dinamica quantitativa FIG. 1, a flash; rilasciando così inalterati i gas dopo la combustione e misura. Elementi interferenti alla misura, quali etereoelementi, metalli vengono ritenuti irreversibilmente mediante catalizzatore selettivo i primi ed nella zona di combustione i secondi. Particolare interesse è stato rivolto alla determinazione di Zolfo totale che in condizioni standard viene rilevato in concentrazioni minime di centinaia di ppm. Per rilevare Zolfo in concentrazione di ppm lo strumento viene equipaggiato di un detector specifico a cattura di elettroni E.C.D. (3) che consente minimi analitici rilevabili dell'ordine di 1-2ppm . La differenziazione della matrice organica dall'inorganica è fondamentale e viene esuita routinariamente impiegando l'analizzatore automatico E.A. 1108.

ANALISI DI TRACCE DI ZOLFO CON DETECTOR SPECIFICO E.C.D.

La procedura per la conduzione dell'analisi è la stessa già descritta per C H N S. All'uscita dell'analizzatore, a valle del T.C.D. fluisce Elio che trasporta i prodotti della combustione, N_2 CO_2 H_2O ed SO_2, questi sono convogliati al dector E.C.D.per la misura selettiva di Zolfo. FIG. 4. L'acqua è stata ritenuta mediante filtro l'azoto e l'anidride carbonica non danno risposta rilevabile quantitativamente, il minimo analitico di Zolfo rilevabile è nell'ordine di alcuni ppm. La determinazione di Zolfo è quantitativa e non tiene conto del tipo di matrice ove esso è contenuto, questo grazie al principio di combustione dinamica quantitativa ad alta temperatura. TAB. 1.

FIG. 3



PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Il suolo viene prelevato osservando le norme che lo regolamentano e comunque in un quantitativo che esprima la rappresentatività del prelievo stesso. FIG. 2

Il suolo è essicato in aria secca a bassa temperatura onde evitare perdita di prodotti labili o volatili.

Durante la fase di essicamento sono ompiegati diversi agenti essicanti quali la P_2O_5 in presenza della quale sotto vuoto il suolo mantiene integralmente le caratteristiche chimico fisiche, oppure uno strato sottile viene posto in camera termostatica sino a peso costante.

Bisogna tenere presente che il suolo può venire analizzato sul tale quale con l'impiego della tecnica del freddo, che porta il campione a bassa temperatura con azoto liquido con repentina macinazione, questo permette di ottenere un campione omogeneo con granulometria molto fine senza peraltro alterare la composizione complessa dei componenti volatili e labili.

Questa ultima tecnica ci permette di ottenere un campione omogeneo, e disponibile per ulteriori indagini e misure analitiche.

PROCEDIMENTO PER L'ANALISI C H N S

Il suolo, indipendentemente dal tipo di trattamento preparatorio a cui è stato sottoposto viene pesato su bilancia elettronica nell'ordine di alcune decine di mg in un apposito contenitore di stagno e chiuso ermeticamente. Il contenitore con il suolo è alloggiato in un campionatore automatico che può contenere un massimo di 200 campioni. A tempi prefissati il contenitore cade nel reattore di combustione mantenuto a 1030°C nello stesso istante il gas di trasporto Elio è arricchito di una quantità nota di ossigeno. Lo stagno che contiene il suolo dapprima fonde ed in pochi secondi origina una combustione violenta che raggiunge i 1800°C FIG. 1. La combustione violenta e repentina ci permette l'analisi quantitativa nei suoli ove la matrice, così complessa non è totalmente distrutta dall'ossidazione per via umida tradizionale. L'Elio trasferisce i gas generati dalla combustione attraverso uno strato di Rame dove l'eccesso di O_2 impiegato nella combustione è ritenuto ad eventuali ossidi di azoto ridotti ad N_2. Azoto, Anidride Carbonica, Acqua ed Anidride Solforosa, raggiungono la colonna cromatografica dove vengono separati e rilasciati quantitativamente alla misura termoconduttimetrica sulla base dei loro tempi di ritenzione. La misura del singolo componente è effettuata mediante T.C.D. che genera un segnale che è inviato ad un Data Processor 200 TAB. 2, per il calcolo delle percentuali e del rapporto tra gli elementi. Parallelamente l'Analizzatore E.A. 1108 può essere accoppiato ad Personal Computer che accetta direttamente il peso del suolo dalla bilancia elettronica, elabora il segnale proveniente dall'Analizzatore e genera mediante SW dedicato il report analitico con informazioni dettagliate di percentuali degli elementi C H N S i rapporti tra questi elementi. Questo sistema di elaborazione dati è stato concepito in modo tale da renderlo disponibile flessibilmente per

qualsiasi tipo di trattamento dati elaborazione ricalcolo o implementazioni dedicate. L'accoppiamento della bilancia elettronica via RS 232 al P.C. rende il sistema completamente automatico, la sola operazione manuale rimane la pesata del suolo.

DETERMINAZIONE DI CHNS SIMULTANEA

Principio del metodo

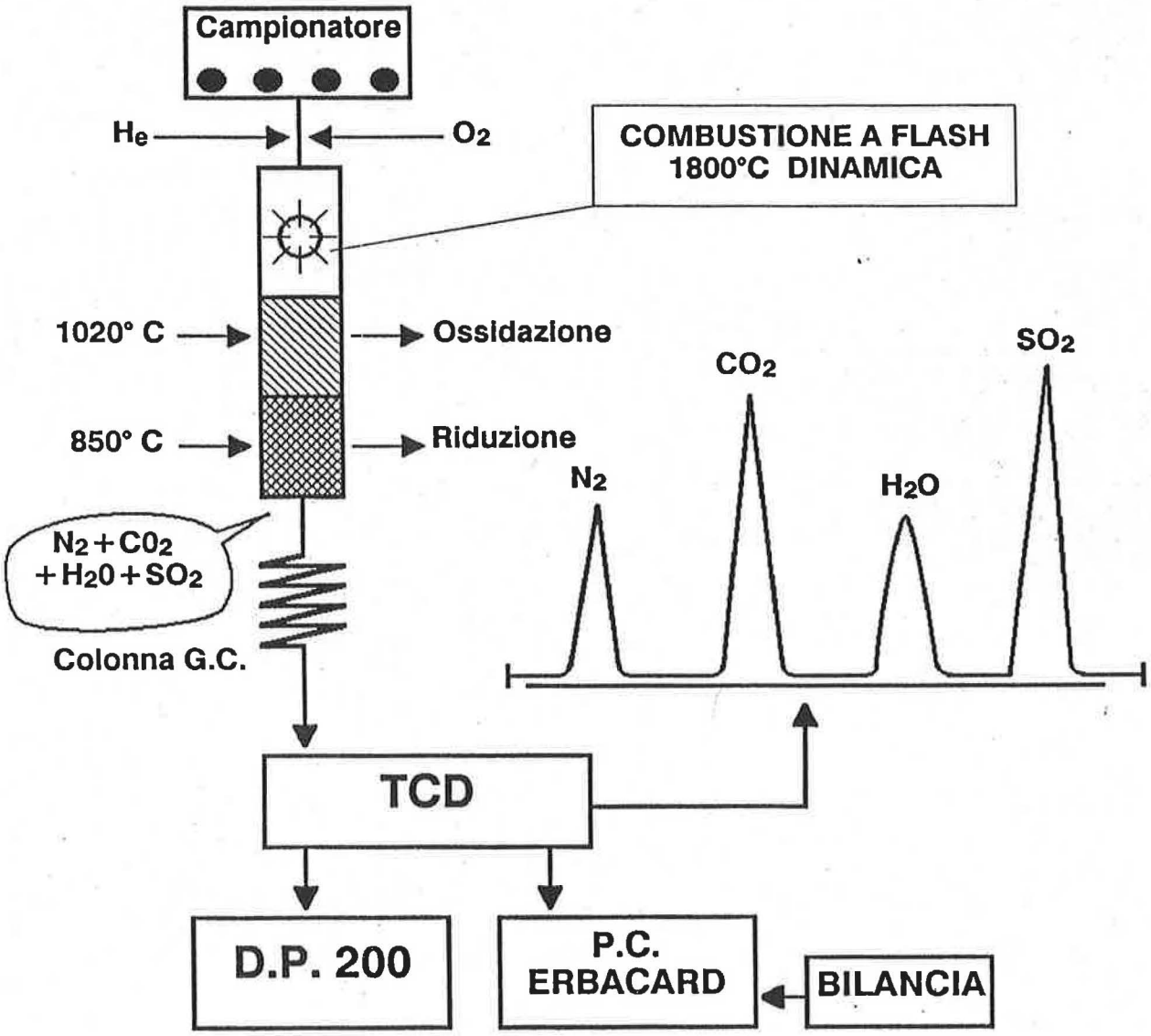


FIG. 1

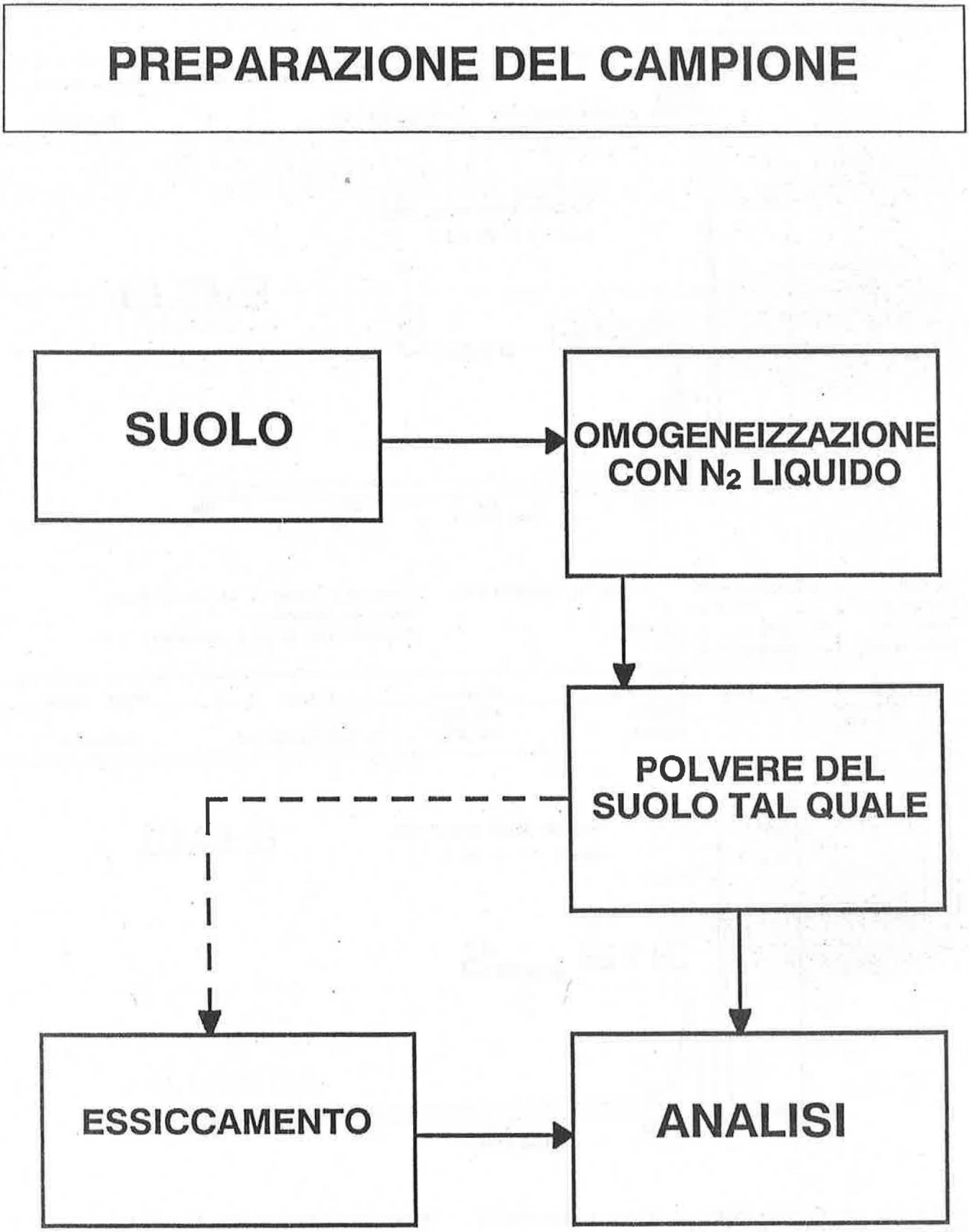
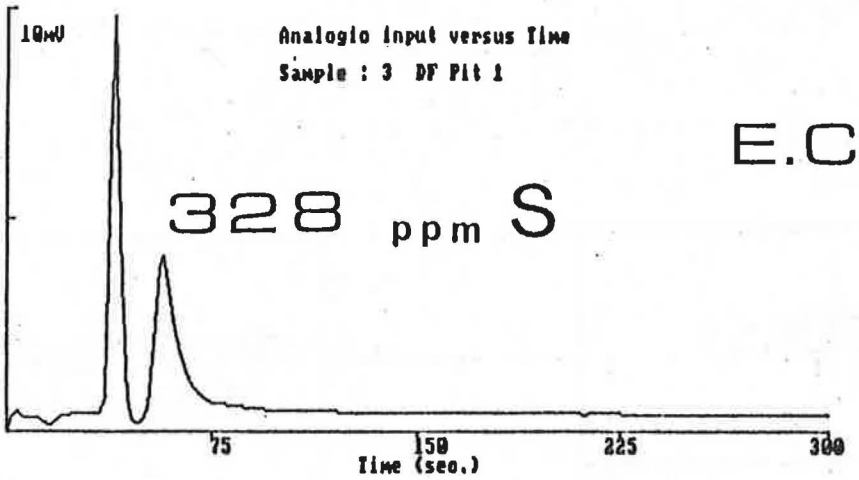

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE
SUOLO
OMOGENEIZZAZIONE CON N_2 LIQUIDO
POLVERE DEL SUOLO TAL QUALE
ESSICCAMENTO
ANALISI

FIG. 2

Operator : L.Ragaglia

_#	Ret.T.	Area (micV*s)	K factor	K fac.AVG.	No AVG.	Peak name
1	39	5042				
2	57	143582	2.801266E-06	2.801266E-06	1	Sulphur

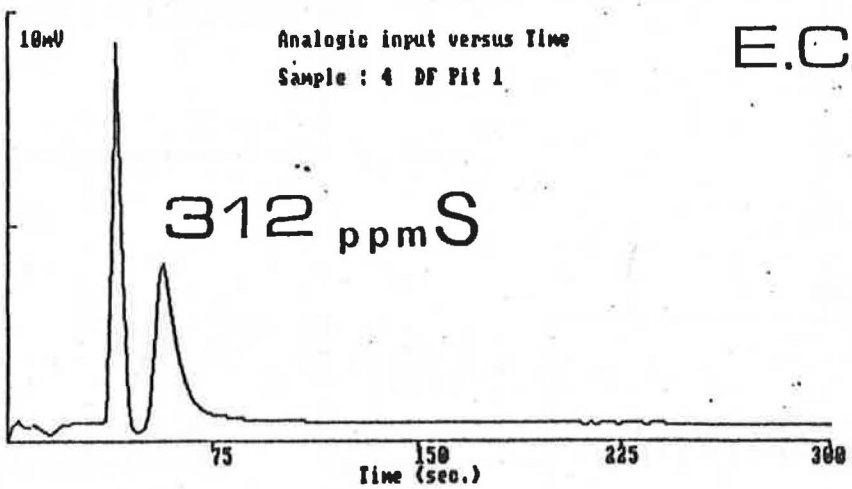
FIG. 3



Date : 07-05-1988 Time : 15:59:19 Company name : Mr.Jay Kuhn
Sample : 3 DF Pit 1 Type : Unknown
Sample Weight : 3.842 Base Line drift (micV): 19
Operator : L.Ragaglia

_#	Ret.T.	Area (micV*s)	Area %	Comp. %	Peak name
1	39	39832	45.345		
2	56	48010	54.654	3.286347E-02	Sulphur

FIG. 4



Date : 07-05-1988 Time : 16:19:26 Company name : Mr.Jay Kuhn
Sample : 4 DF Pit 1 Type : Unknown
Sample Weight : 3.798 Base Line drift (micV): 21
Operator : L.Ragaglia

_#	Ret.T.	Area (micV*s)	Area %	Comp. %	Peak name
1	39	34828	43.533		
2	56	45175	56.466	.0311532	Sulphur

Determinazione di ZOLFO in tracce con detector specifico E.C.D.

Campioni : Seattle (Wa) COLUMBIA-

SUOLO	ppm ZOLFO TOTALE
RA PIT (1) 0,7 Cm.	448 435 445
RA PIT (5) 15-30 Cm.	754 797 742
DF PIT (1)	311 329 309
FL CONTROL	60 67 65

PESATA: 5-25 mgr.

STANDARD: MICROANALITICO ORGANICO

TAB. 1

DETERMINAZIONE DEL CARBONIO ORGANICO

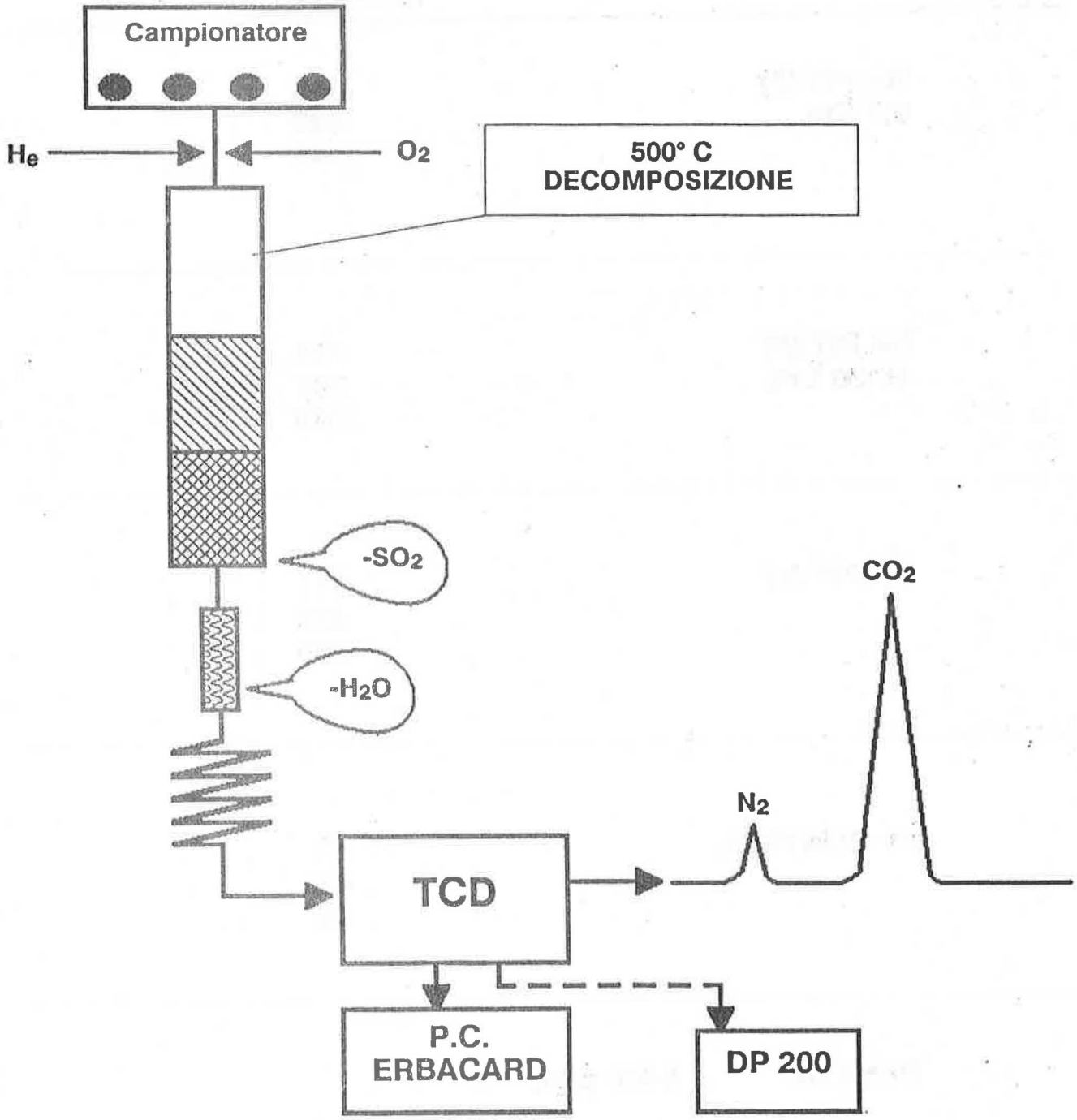


FIG. 5

TAB. 2

ANALISI SIMULTANEA DI N C S

L'AZOTO E' COMPARATO AL METODO KJELDAHL

CAMPIONE DI SUOLO	N%	C%	S%	N% Kjeldahl
822	0,20 0,20	4,36 4,40	0,059 0,052	0,109 ---
570	0,105 0,106	2,33 2,35	0,0217 0,0215	0,113 ---
442	0,26 0,27	4,91 4,92	0,46 0,49	0,271 ---
410	0,16 0,15	8,39 8,45	0,0546 0,0545	0,167 ---
790	0,14 0,15	4,83 4,86	0,0380 0,0408	0,136 ---
114	0,12 0,12	2,54 2,50	0,0330 0,0360	0,118 0,118

I suoli sono stati cortesemente forniti dal dr. R. MAGGIOLO della ditta CEREA PERFOSFATI (VR)

TAB. 3 COMPARAZIONE DELLE METODOLOGIE NELLA DIFFERENZIAZIONE DI CARBONIO ORGANICO DALL'INORGANICO

CAMPIONE DI SUOLO	CARBONIO ORGANICO MEDIANTE EA 1108	CARBONIO ORGANICO METODO UNICHIM
822	2.08 2.05	2.10
570	0.95 0.96	0.96
442	3.35 3.30	3.28
410	1.55 1.55	1.56
790	1.15 1.18	1.17
114	0.96 0.95	0.97

La tabella 2 mostra i valori di carbonio totali, mentre la TAB. 3 i valori di carbonio organico comparati. La differenza tra totale ed organico dà direttamente l'inorganico.

ANALIZZATORE ELEMENTARE CHNS-O

Accoppiamento a Spettrometro di Massa per lo studio di Isotopi stabili

Grazie all'originale sistema di combustione dinamica seguito dalla rivelazione Termoconduttimetrica, i gas Co_2 N_2 So_2 sono disponibili per altre misure.

Una di queste è la determinazione degli Isotopi stabili mediante Spettrometro di Massa Specifico.

FIG. 6

(6), (7), (8).

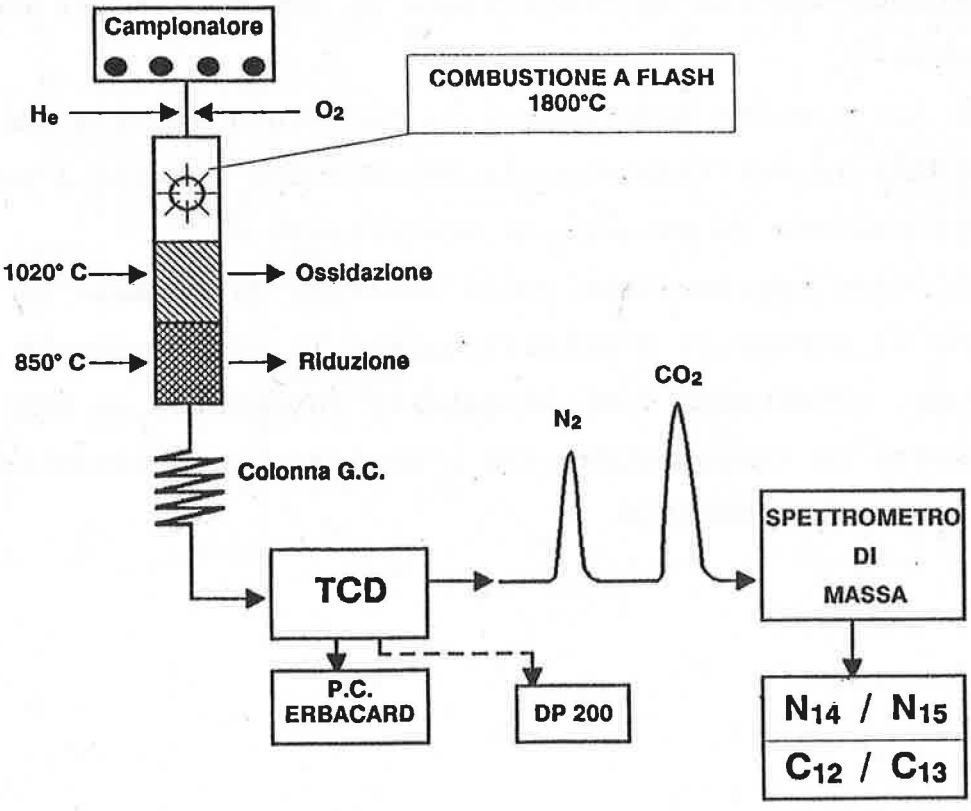


FIG. 6

METODI SELETTIVI PER LA DIFFERENZIAZIONE DEL CARBONIO ORGANICO DALL'INORGANICO

La tecnica consiste nel trattamento termico del suolo ad una temperatura inferiore a quella di decomposizione del carbonio e che deve essere (4) a 750°C. FIG.5 Sono stati analizzati diversi tipi di suoli, ed è stato notato che indipendentemente dalla sua composizione la temperatura di decomposizione deve essere selezionata accuratamente.

Ne risulta quindi che il metodo selettivo di combustione per la differenziazione del carbonio organico dall'inorganico nei suoli o materiali simili, è fortemente dipendente dalla composizione della matrice che influenza la temperatura di decomposizione.

Il metodo di combustione può essere impiegato con buoni risultati quando si conosca previamente anche con approssimazione la temperatura di decomposizione del suolo.

Di particolare interesse è la procedura per via umida ufficialmente riconosciuta UNICHIM che prevale l'acidificazione in condizioni controllate.

E' stato sperimentato con l'utilizzo di capsule di Stagno ed Alluminio l'acidificazione in situ mediante HCl conc. eliminando così la matrice inorganica, la TAB. 3 mostra la comparazione tra l'analizzatore automatico e la metodica UNICHIM.

BIBLIOGRAFIA

1) E. PELLA and B. COLOMBO Mikrochimica Acta 271-286 1978
Simoultaneous CHNandS microdetermination by combustion and gaschromatography.

2) B. COLOMBO e coll.Analytical Chemistry vol. 44.9
Processing Elemental Analysis data A563-1571 1972

3) W.KIRSTEN B.NORDENMARK Analytica Chimica Acta 1987
196, 59-68 Rapid Automatic hight precision method for micro, ultramicro and trace determination of sulphur.

4) G.GIOVANNINI, G.POGGIO, P.SEQUI comm, SOIL SCIENCE and plant Analysis 6 (1) 39-49 1175
Use of an automatic CHN analyzer to determine organic and inorganic carbon in SOILS.

5) F. PICHLMEYER B. COLOMBO K. BLOKBERGER
Gas separation for on line isotope mass spectrometry by means of the NA 1500 Elemental Analyser.
(presented of the Symposium in Torino 2-5 sept. 1986 M/S

6) A. BARRY C.T. WORKMAN Spectroscopy Int. J.3 439-447, 1984
An Automated Analytical System for nutritional investigation using N_{15} tracers.

7) F. PICHLMEYER und K. BLOKBERGER Fresnius Z. Anal. Chem. 1988 331, 196-201

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

CARATTERIZZAZIONE DELLA STRUTTURA DEL TERRENO ATTRAVERSO LE ANALISI MICROMORFOLOGICHE

M. Pagliai
Istituto per la Chimica del Terreno, C.N.R.
Via Corridoni, 78 - 56100 Pisa

RIASSUNTO

L'avvento delle tecniche di analisi di immagine ha reso possibile la caratterizzazione della struttura del terreno attraverso l'analisi della porosità su sezioni sottili, preparate da campioni indisturbati di terreno. Le misure dirette dei pori includono: numero, dimensione, area, perimetro, proiezioni e diametri in ogni direzione; inoltre l'elaborazione delle misure dirette consente di ottenere informazioni quali la forma, l'irregolarità e l'orientazione dei pori stessi. Tali parametri sono fondamentali per la caratterizzazione e la quantificazione della struttura del terreno in relazione, soprattutto, alla fertilità fisica e alla crescita delle piante.

SUMMARY

Using the technique of image analysis it is now possible to characterize soil structure by the quantification of soil porosity on thin sections, prepared from undisturbed soil samples. Basic measurements on pores include number, size, area, perimeters, Feret diameters and projection, and these are supplemented by derived measurements such as shape, irregularity and orientation. Such parameters are essential for characterization and quantification of soil structure in relation to soil conservation, soil fertility, soil management and plant growth.

1. INTRODUZIONE

La struttura del terreno è una delle più importanti proprietà che determinano lo sviluppo delle colture proprio perchè è la struttura stessa che influenza la profondità che le radici possono esplorare, il volume dell'acqua che può essere immagazzinata, e i movimenti dell'acqua stessa, dell'aria, dei nutrienti, dei pesticidi e della fauna terricola. Finora, nonostante la sua importanza, la struttura del terreno rimane una delle meno studiate e più soggettive proprietà del terreno. Molti sistemi di classificazione e descrizione sono ancora

oggi basati sulle osservazioni di campo (pedologia di campagna). I primi tentativi di quantificare la struttura del terreno si basavano sulla distribuzione in classi dimensionali degli aggregati (e.g. U.S.D.A., 1951), e sulla distribuzione dimensionale dei pori derivata principalmente dalle curve di ritenzione idrica (Childs, 1940). Successivamente le tecniche microscopiche, basate sull'analisi di sezioni sottili preparate da campioni indisturbati di terreno, si rivelavano appropriate per le indagini sulla struttura, perchè consentono un apprezzamento visivo dello stato di aggregazione e del sistema poroso del terreno stesso; in un primo momento, ivece, poco veniva fatto dal punto di vista quantitativo (Brewer, 1964; Bullock e Murphy, 1976). La principale ragione di ciò era dovuta al fatto che i metodi erano troppo laboriosi per ottenere dati quantitativi statisticamente validi. Questi metodi includevano, ad esempio, la conta per punti (Eswaran, 1968). L'avvento dei computers ottico-elettronici per l'analisi d'immagine ha consentito notevoli progressi nelle analisi quantitative della struttura del terreno. Con strumenti come il Quantimet 720 è possibile analizzare sezioni sottili di terreno in pochissimi minuti (Jongerius et al., 1972; Ismail, 1975; Murphy et al. 1977a, b; Bullock e Murphy, 1980; Pagliai, 1983). Nel presente lavoro vengono discussi gli sviluppi e le applicazioni di questo metodo micromorfometrico. Tale metodo ha avuto un notevole impulso anche perchè recentemente molti autori (Lawrence, 1977; Greenland, 1981; Sequi, 1979) si sono trovati concordi nel definire la struttura del terreno come la risultante della combinazione di differenti tipi di pori con le particelle solide (aggregati), e nel ritenere le misure di porosità fondamentali per caratterizzare la struttura stessa.

2. PREPARAZIONE DELLE SEZIONI SOTTILI DI TERRENO

La micromorfologia del terreno è basata sullo studio del terreno stesso al microscopio ottico. A questo scopo è necessario preparare sezioni sottili di terreno seguendo una procedura che prevede il prelievo in campo del campione, in modo tale da non alterarne la struttura all'interno; successivamente, il campione viene indurito, impregnandolo sotto vuoto con una resina che ha la caratteristica di polimerizzare lentamente nel tempo, e che riempie gli spazi vani del terreno senza provocare alcuna alterazione. Una volta indurito il campione può essere lavorato meccanicamente e quindi con apposite attrezzature, quali ad esempio una sega a disco diamantato ed una lapidatrice, vengono preparate sezioni sottili di circa 20 µm di spessore, cioè trasparenti alla luce e quindi analizzabili al microscopio ottico (Jongerius e Heintzberger, 1975). Le dimensioni di tali sezioni dipendono dalle attrezzature di cui si dispone; nel nostro Istituto si preparano sezioni sottili fino a 6 x 8 cm^2. Per lo studio della porosità e della struttura è necessario che il campione sia indurito nel suo stato naturale e non sia, ad esempio, essiccato

all'aria. In questo caso si avrebbe una alterazione della porosità dovuta al crepacciamento del campione durante l'essiccamento. Per ovviare a questo inconveniente, prima dell'indurimento con la resina, viene seguita una procedura, già messa a punto e riportata nella letteratura internazionale (Miedema et al., 1974; Murphy, 1986), la quale prevede la sostituzione dell'acqua del campione con l'acetone.

L'analisi d'immagine richiede che il livello di grigio della figura o del gruppo di figure da misurare differisca chiaramente dal materiale circostante. Con il microscopio ottico polarizzatore è impossibile, con le normali sezioni sottili, ottenere il necessario contrasto fra i pori e alcuni granuli minerali perchè con i nicols incrociati i minerali in estinzione e i pori appaiono entrambi neri; allo stesso modo pori e molti minerali appaiono bianchi a nicols paralleli. Per superare questo ostacolo si possono adottare due procedure. La prima è una procedura fotografica che prevede diverse esposizioni sullo stesso fotogramma (usando macchine polaroid 4x5 inch) ruotando contemporaneamente i filtri nicols, in modo da ottenere foto in cui solo i pori sono neri e, quindi, bianchi (trasparenti) sul negativo usato poi per le analisi (Ismail, 1975; Pagliai et al., 1984). L'altra procedura prevede l'impregnamento con una resina addizionata di un colorante fosforescente; quindi, affinchè i pori siano posti in evidenza si fotografano a luce ultravioletta le sezioni sottili (Murphy, 1986).

Il terreno è un mezzo molto eterogeneo e quindi il campionamento deve essere fatto con molta cura. Murphy e Banfield (1978), esaminando la variabilità della porosità negli orizzonti del suolo, conclusero che almeno 6 campioni dovrebbero essere prelevati da ciascun orizzonte per avere dati statisticamente rappresentativi.

3. L'ANALIZZATORE DI IMMAGINE QUANTIMET 720

Il Quantimet, schematizzato nella Fig. 1, è basato sull'analisi ottico-elettronica dell'immagine, la quale può essere ottenuta da un macroepidiascopio o da un microscopio, sia ottico che elettronico. Tale immagine, ripresa da una telecamera e proiettata su uno schermo video ("monitor"), è scansita da 688 linee orizzontali, ciascuna delle quali è costituita da 880 punti, detti punti immagine. L'intero schermo è così costituito da 605.440 punti immagine, ma onde evitare eventuali effetti di bordo le misure vengono effettuate su una "maschera" più piccola, costituita da 625 linee di 800 punti, dando così un totale di 500.000 punti immagine. Ciascun punto è quadrato e la dimensione del suo lato dipende dall'ingrandimento; ad esempio con il macroepidiascopio, calibrato per l'analisi della porosità di tutta una sezione sottile mediante i negativi polaroid, il lato del punto immagine è 30 µm, quindi sono misurabili tutti i pori il cui diametro equivalente è maggiore di 30 µm (porosità strutturale, c.f. Monnier et al., 1973). Usando, invece, un microscopio Leitz Orthoplan con un obbiettivo 40X il lato del punto immagine è 0,16 µm.

Il segnale video passa attraverso un modulo chiamato "detector" il quale può essere regolato in modo da classificare in gruppi i punti immagine secondo il loro livello di grigio. Questo significa che figure, le quali contrastano otticamente con i materiali circostanti, possono essere discriminate e tale operazione è visibile sul monitor. Gli impulsi elettronici delle figure discriminate vengono inviate ad un modulo "analyser" il quale provvede a quantizzare detti impulsi fornendo cioè le misure che vengono poi inviate sia al monitor, dove compaiono digitalmente, sia, mediante un'interfaccia, al computer. Lo strumento è collegato ad un computer della serie "Digital PDP-11" il cui software è costituito sia da programmi in linguaggio "Basic" sia da programmi in linguaggio macchina ad hoc per l'analisi di immagine. I risultati possono essere stampati immediatamente o "salvati" su dischetti per eventuali ulteriori elaborazioni.

4. MISURE OTTENIBILI DALL'ANALISI DI IMMAGINE

Le misure di analisi di immagine, fondamentali per caratterizzare la struttura del terreno, sono di due tipi: misure dirette e misure derivate dall'elaborazione matematica di una o più misure dirette. Le prime sono le seguenti:

1) area, cioè la somma dell'area di ciascun punto immagine entro le figure discriminate, nel nostro caso pori o aggregati;
2) numero delle suddette figure;
3) perimetro, cioè la somma del lato di ciascun punto immagine sul bordo dei pori o aggregati;
4) perimetro convesso, cioè la lunghezza di una ipotetica stringa circoscrivente la figura analizzata;
5) proiezione orizzontale;
6) proiezione verticale;
7) lunghezza, massima dimensione lineare delle figure indipendentemente dall'orientazione;
8) larghezza, dimensione delle figure misurate a 90° della lunghezza;
9) diametro di una figura con possibilità di misurarlo con un grado di intervallo (diametro a 0°, 1°,...45°, 90°, ecc.).

Al secondo tipo di misure appartengono invece le seguenti:

Fattore di forma. Come già accennato il "software" consente l'elaborazione e la composizione di operazioni aritmetiche: per esempio, dividendo l'area di una figura per il suo perimetro al quadrato (A/Pe^2) si ottiene il fattore di forma; per una figura circolare tale rapporto è 0,08 ($1/4\pi$). Usando la suddetta espressione, i pori possono essere divisi in tre classi morfologiche e cioè quelli con fattore di forma superiore a 0,04 rappresentano i pori rotondeggianti o regolari, quelli con fattore di forma compreso fra 0,015 e 0,04 rappresentano i pori irregolari ed infine quelli il cui fattore di forma è inferiore a 0,015 rappresentano i pori allungati. Questa prima classificazione della porosità è molto importante perchè, ad esempio, i movimenti dell'acqua

e la crescita delle radici dipendono dalla continuità e quindi dalla lunghezza dei pori nel terreno.

Distribuzione dimensionale. L'analisi di immagine permette la suddivisione dei pori o degli aggregati del terreno in classi dimensionali (massimo 20) identificate in termini di area, perimetro ecc., cioè in termini di uno dei parametri precedentemente accennati oppure in termini di parametri derivanti dai primi mediante l'uso di opportune equazioni. Per esempio, le prime due classi morfologiche di pori, cioè i pori regolari ed irregolari, possono essere suddivisi secondo il loro diametro equivalente "equivalent pore diameter" (Bouma et al., 1977). In questo caso si ricorre alla seguente espressione:

$$\text{"equivalent pore diameter"} = 2 \times \sqrt{\text{area}/\pi}$$

quindi impostando sulla tastiere 2 x ("feature area"/ 3,14)** 0.5, dove **0.5 è la funzione della radice quadrata, e memorizzandola poi nell'apposita "routine" del programma software, si determina dalla misura dell'area, il diametro equivalente dei pori o degli aggregati regolari e irregolari.

Larghezza e lunghezza dei pori allungati. Per quanto concerne i pori allungati sarebbe inattendibile dividere questi pori in classi dimensionali secondo il loro diametro equivalente, in quanto di questi pori è importante conoscere la larghezza proprio perchè essa influenza i movimenti dell'acqua, la crescita delle radici ecc. Non sarebbe neppure attendibile una misura diretta della larghezza in quanto, come già detto, viene misurata a 90° della direzione della lunghezza ed essendo l'andamento di questi pori nel terreno più spesso tortuoso che lineare, con questo tipo di misura si avrebbero dati falsati. L'area ed il perimetro di questi pori allungati si possono invece misurare con esattezza e proprio da questi due parametri, mediante la seguente equazione di secondo grado, si determina in maniera attendibilissima sia la loro larghezza sia la loro lunghezza:

$$l = 1/4 \left(Pe \pm \sqrt{Pe^2 - 16\ A}\right)$$

dove l = larghezza, Pe = perimetro e A = area. Tale equazione può essere impostata sulla tastiera e inserita nelle "routine" di analisi: usando il segno - si ha la larghezza dei pori mentre usando il segno + si ha la loro lunghezza (Pagliai, 1983).

Orientazione dei pori allungati. E' abbastanza intuitivo che le caratteristiche fisiche del terreno cambiano radicalmente se una serie di pori allungati è disposta parallelamente o perpendicolarmente alla superficie. Con il Quantimet è possibile determinare questo importante aspetto della porosità mediante l'ausilio della seguente espressione (Fv/Fh)-1; dove Fv rappresenta la dimensione (Feret diameter) nella direzione verticale e Fh la dimensione nella direzione orizzontale dei pori allungati (Fig. 2). Se la soluzione di detta equazione risulta un

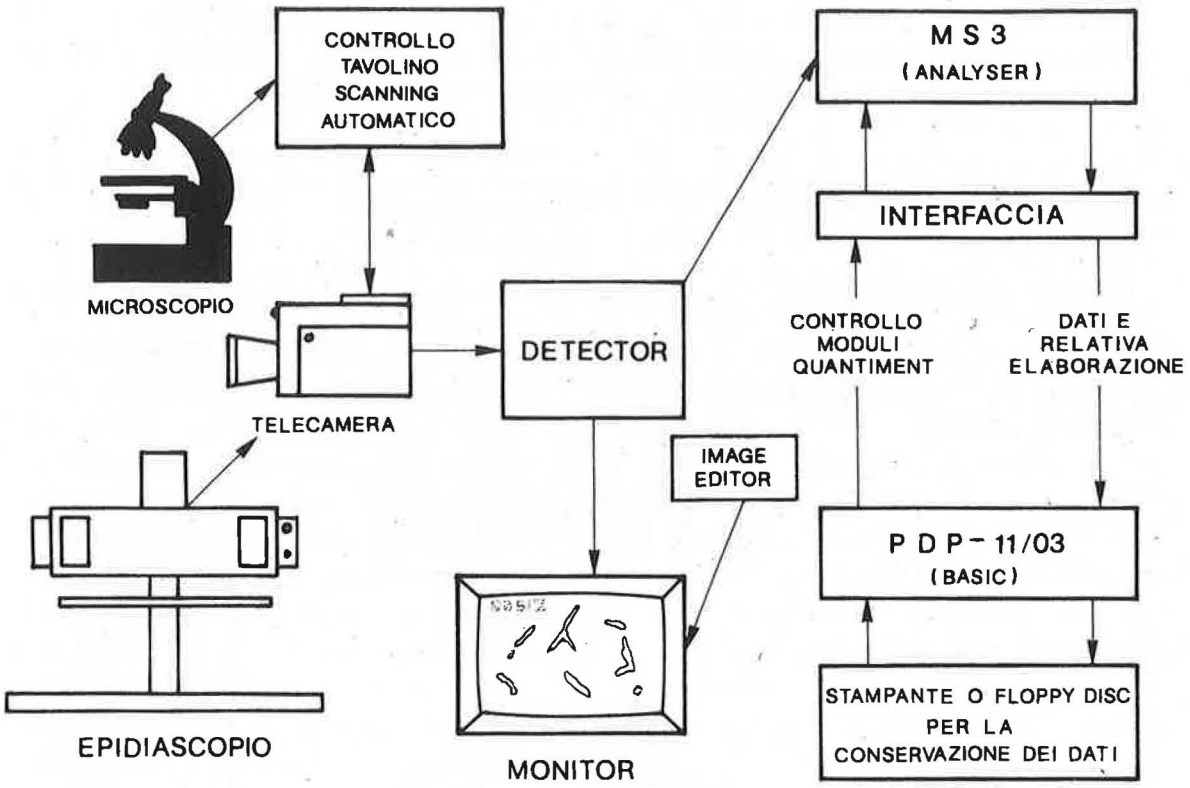


Fig. 1 - Rappresentazione schematica del Quantimet 720 dell'Istituto per la Chimica del Terreno.

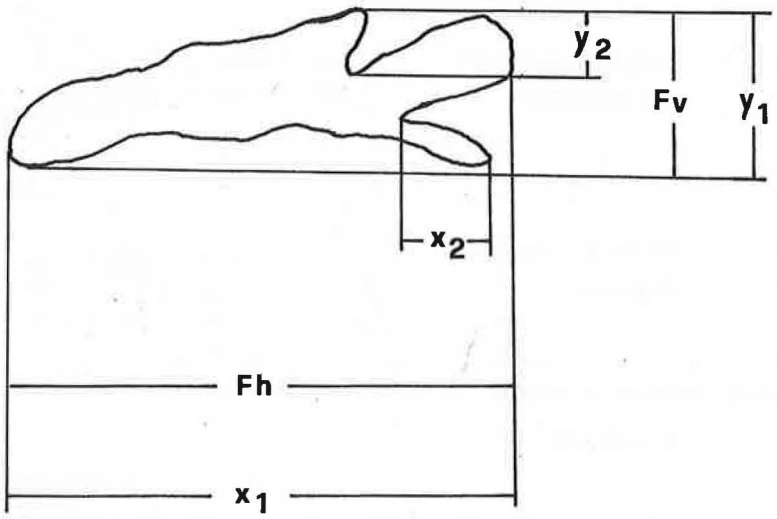
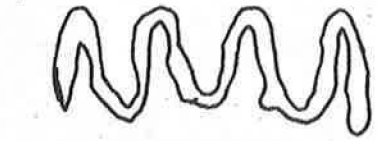
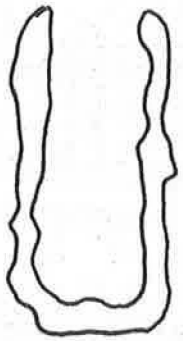
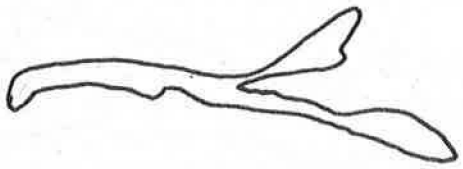


Fig. 2 - Esemplificazione schematica della dimensione orizzontale (Fh) e verticale (Fv) e della proiezione orizzontale (Ph = x_1+x_2) e verticale (Pv = $y_1 + y_2$).

Tabella 1 - Classificazione dei pori allungati secondo la loro irregolarità (classi morfologiche) determinata dal rapporto perimetro convesso/perimetro (Modificato da Pagliai et al. 1984).

Classi Morfologiche	Morfologia	Rappresentazione schematica
0-0,3	Molto irregolari	 Tortuosi Fortemente digitati  forma a U
0,3 - 0,5	Moderatamente irregolari	
0,5 - 0,7	Moderatamente regolari	
0,7 - 1	Regolari	

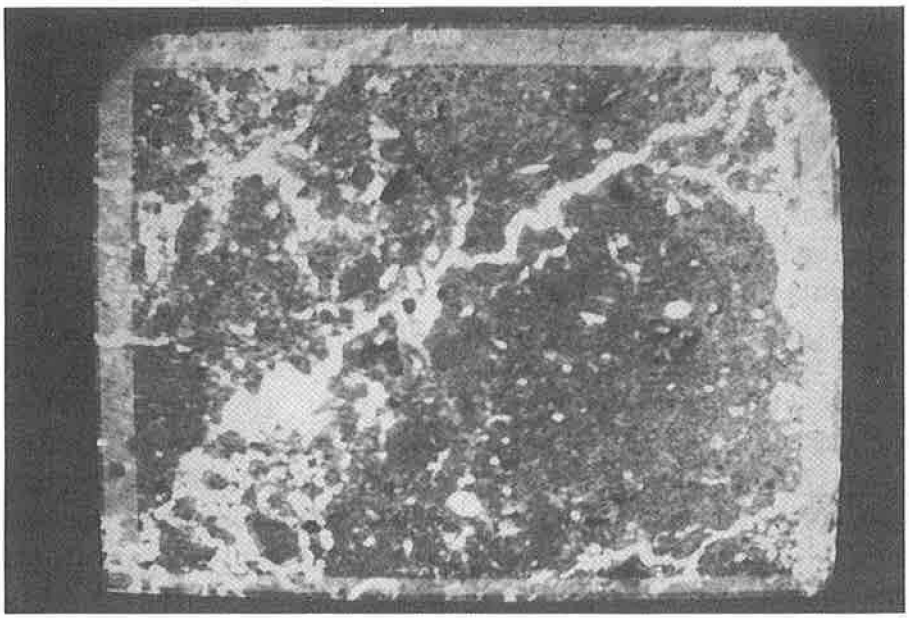
numero negativo vuol dire che i pori sono tanto più orientati orizzontalmente quanto più tale valore si avvicina a -1. Per questo tipo di determinazione l'apparecchio è programmato in modo che, se incontra nell'analisi pori in cui Fv > Fh, cambia la precedente espressione in: 1-(Fh/Fv). In questo modo è possibile ottenere istogrammi di distribuzione dei pori secondo la loro orientazione in classi da -1 a +1; le classi vicino a -1 rappresentano i pori orientati orizzontalmente, le classi vicino a +1 rappresentano i pori orientati verticalmente, mentre le classi intorno a 0 rappresentano i pori senza una orientazione preferenziale. Oltre agli istogrammi il sistema fornisce indicazioni statistiche come la media, la mediana, la deviazione standard, il numero dei pori (o aggregati) contati, il massimo e il minimo valore del parametro analizzato (Fig. 3).

Irregolarità. La quantificazione della irregolarità dei pori allungati fornisce un altro dato fondamentale per caratterizzare la struttura del terreno in relazione alla crescita delle piante. Infatti, per lo sviluppo delle radici, la continuità e l'irregolarità dei pori sono altrettanto importanti come la loro lunghezza e la loro distribuzione dimensionale. L'analisi di immagine permette la misura di questo parametro mediante il rapporto di due misure dirette quali il perimetro convesso e il perimetro dei pori allungati. Anche in questo caso si possono ottenere istogrammi di frequenza dei pori allungati compresi da 0 a 1, come riportato nella Tabella 1 (Pagliai et al. 1984).

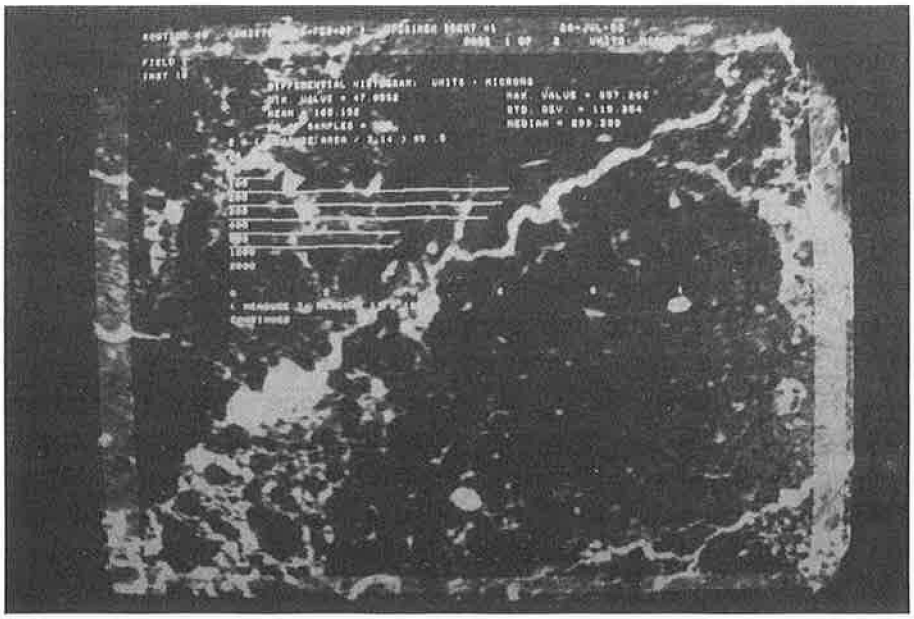
Il grado di irregolarità e l'interconnessione dei pori irregolari (presenza di protuberanze più o meno accentuate) si può determinare con il seguente rapporto messo a punto da Murphy et al. (1977a, b):
(Ph x Pv) / (Fh x Fv) dove Ph e Pv sono le proiezioni orizzontali e verticali dei pori (o altre figure analizzate) e Fh e Fv le dimensioni nelle direzioni orizzontale e verticale (Fig. 2). Quando il rapporto è uguale a 1 significa che non ci sono interconnessioni o protuberanze.

Coordinate x-y. Le coordinate xy di una figura (poro, aggregato, ecc.) nel piano bi-dimensionale di una sezione sottile possono essere memorizzate. Quindi, preparando una serie di sezioni sottili di uno stesso campione e analizzandole, richiamando le coordinate delle figure di interesse e comparando i dati con quelli delle sezioni adiacenti, è possibile costruire un'immagine tridimensionale delle figure. Questa possibilità consente, ad esempio, di stabilire se un poro rotondeggiante è sferico oppure se è la sezione trasversale di un canalicolo e quindi classificabile come poro allungato.

"Image editor". L' "image editor" consente la selezione, l'esclusione o l'alterazione di dettagli d'immagine. Negli studi della struttura e porosità del terreno ciò è particolarmente utile per eliminare artefatti sulle sezioni sottili, legare aggregati o pori poco definitivi nell'immagine per le misure di distribuzione dimensionale e separare particolari aree (Fig. 4). Un esempio classico può essere costituito dall'analisi di foto scattate in pieno campo allo scopo di

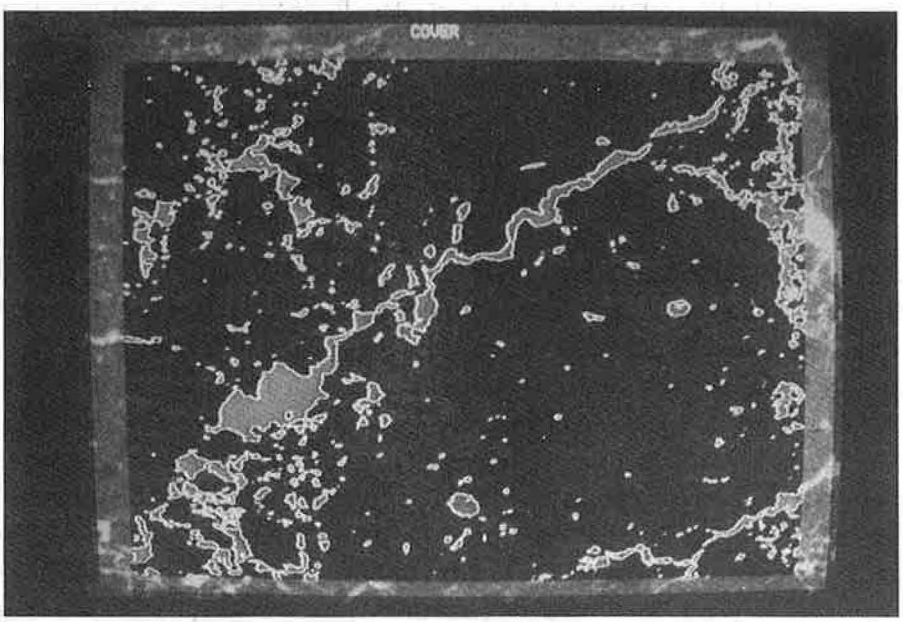


a

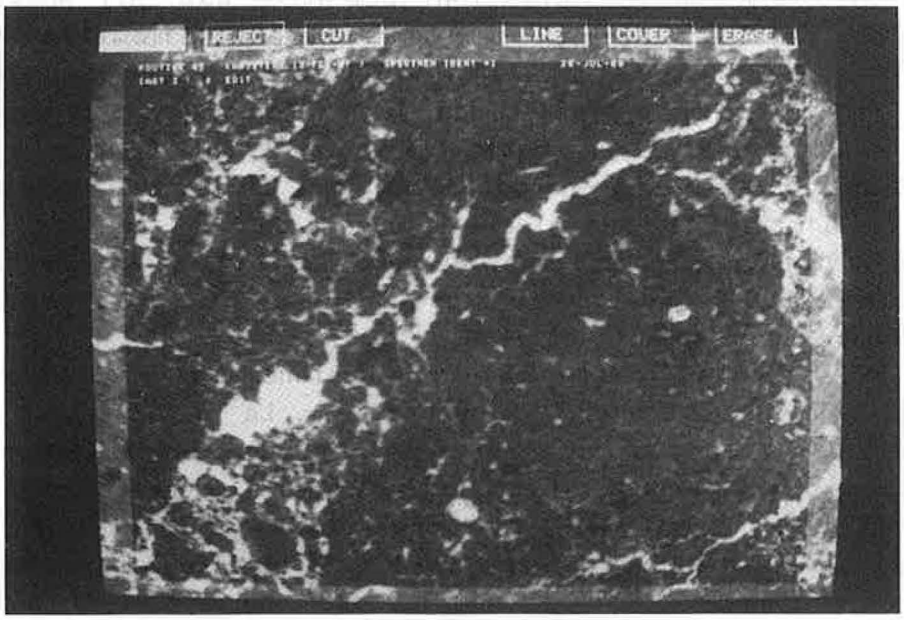


b

Fig. 3 - Immagine di una parte di sezione sottile di terreno come appare sul monitor del Quantimet (a). Le parti bianche rappresentano i pori. Istogrammi della distribuzione dei pori (b).



a



b

Fig. 4 - Esempio di evidenziazione sul monitor di parametri di misura: in questo caso il perimetro dei pori (a) e le funzioni dell' "Image editor" (b).

indagare sulle variazioni stagionali del crepacciamento del terreno: in questo caso possibili ombreggiature o la vegetazione stessa hanno lo stesso livello di grigio delle crepe, quindi per ottenere misure reali è necessario intervenire con l' "image editor" sull'immagine modificandola in modo corretto prima dell'analisi.

5. QUANTIFICAZIONE DELLA STRUTTURA DEL TERRENO

Le applicazioni di alcune delle misure sopra descritte al fine di quantificare la struttura del terreno sono mostrate nelle Fig. 5 - 12.

Nella Fig. 5 sono riportati i grafici delle distribuzioni dimensionali, secondo il diametro equivalente per i pori regolari e irregolari e la larghezza per i pori allungati, di un terreno franco argilloso alluvionale non lavorato da 3 anni (prato) e lavorato annualmente mediante aratura convenzionale. La porosità totale, espressa come percentuale di area occupata dai pori $>$ 30 µm per sezione sottile, era maggiore nel terreno lavorato ma la proporzione dei pori compresi fra 50 e 500 µm detti pori di "trasmissione" (Greenland, 1977) e che sono considerati i più importanti per i movimenti dell'acqua, la crescita delle radici e per il mantenimento di buone condizioni strutturali, è maggiore nel terreno non lavorato (Pagliai et al., 1983b; 1984). Questi risultati indicano che le lavorazioni aumentano solo gli spazi vani (pori $>$ 500 µm), ma la maggior proporzione dei pori allungati di trasmissione (50-500 µm) nel terreno non lavorato origina una struttura migliore, più omogenea costituita da piccoli aggregati, la quale si rigenera in seguito al riposo dalla lavorazione, come illustrato nella Fig. 6. Sequi et al. (1985) hanno trovato che esiste una correlazione positiva tra l'attività enzimatica e il numero dei pori compresi fra 30 e 200 µm; orbene nel terreno non lavorato ove la proporzione di tali pori era più alta rispetto al terreno lavorato, anche l'attività biochimica doveva essere più elevata.

Nella Fig. 7 è riportata la distribuzione dei pori allungati, secondo la loro lunghezza nello stesso terreno. La lunghezza dei pori è un indice della loro continuità. Nel terreno non lavorato la maggior frequenza dei pori allungati si ha nella classe di maggior lunghezza.

Nela Fig. 8 è riportata l'orientazione dei pori allungati. Nel terreno non lavorato la maggior frequenza di pori allungati si ha nella classe compresa da -0,4 a +0,4 cioè non mostrano alcuna orientazione preferenziale, mentre nel terreno lavorato la frequenza maggiore si ha nella classe da +0,4 a 1 cioè indica una orientazione verticale. Molti di questi pori allungati sono fessure originate dal crepacciamento, fenomeno assai più evidente nel terreno lavorato rispetto al prato adiacente, a causa della minor stabilità di struttura. La notevole frequenza di pori allungati nella classe da -1 a -0,4 (orientamento orizzontale) sempre nel terreno lavorato può essere un indice di compattamento superficiale dovuto, ad esempio, all'impatto della pioggia. In questo caso i pori allungati orientati orizzontalmente

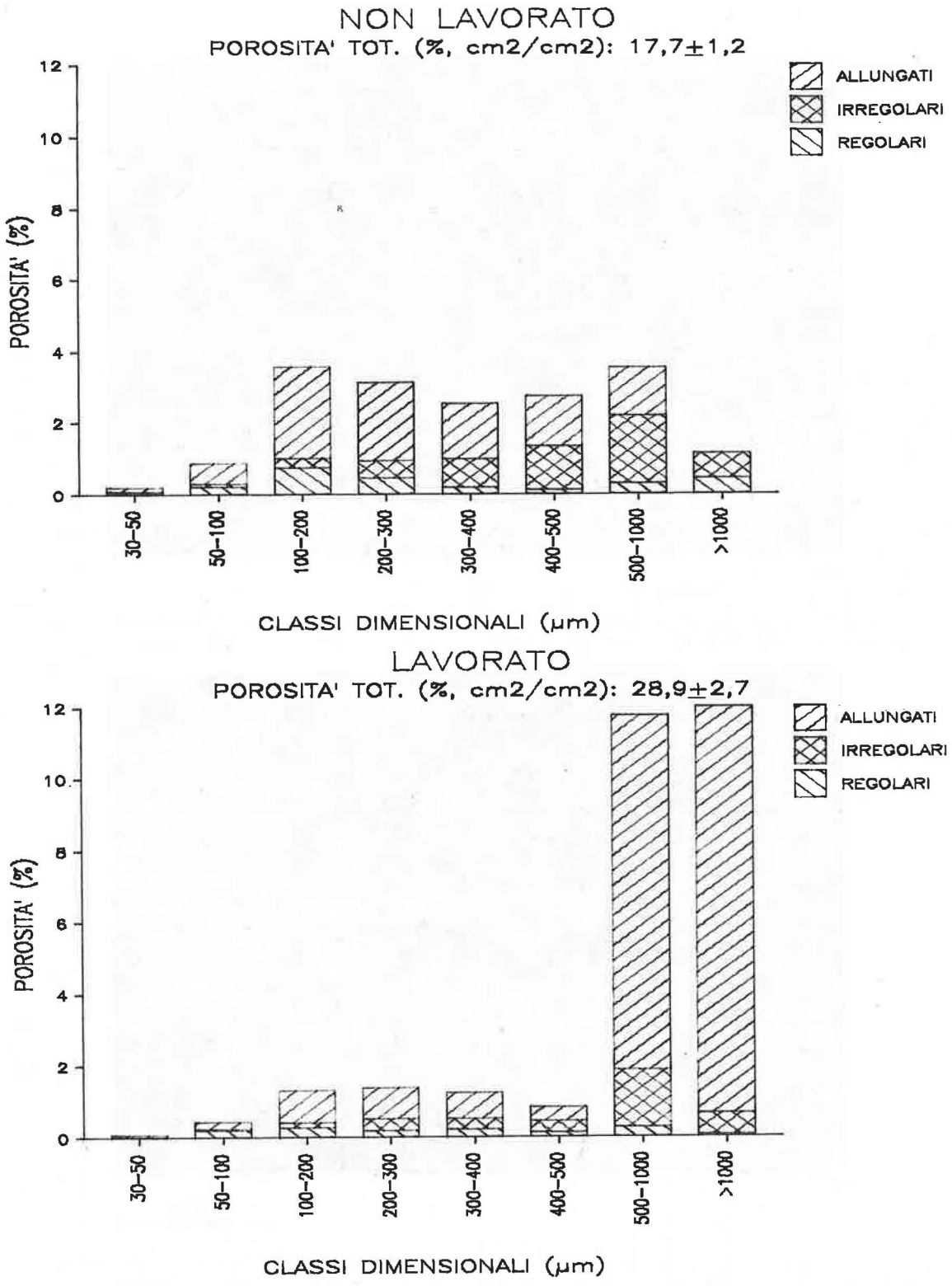


Fig. 5 - Distribuzione dimensionale dei pori secondo il loro diametro equivalente per quelli regolari e irregolari e la loro larghezza per quelli allungati.

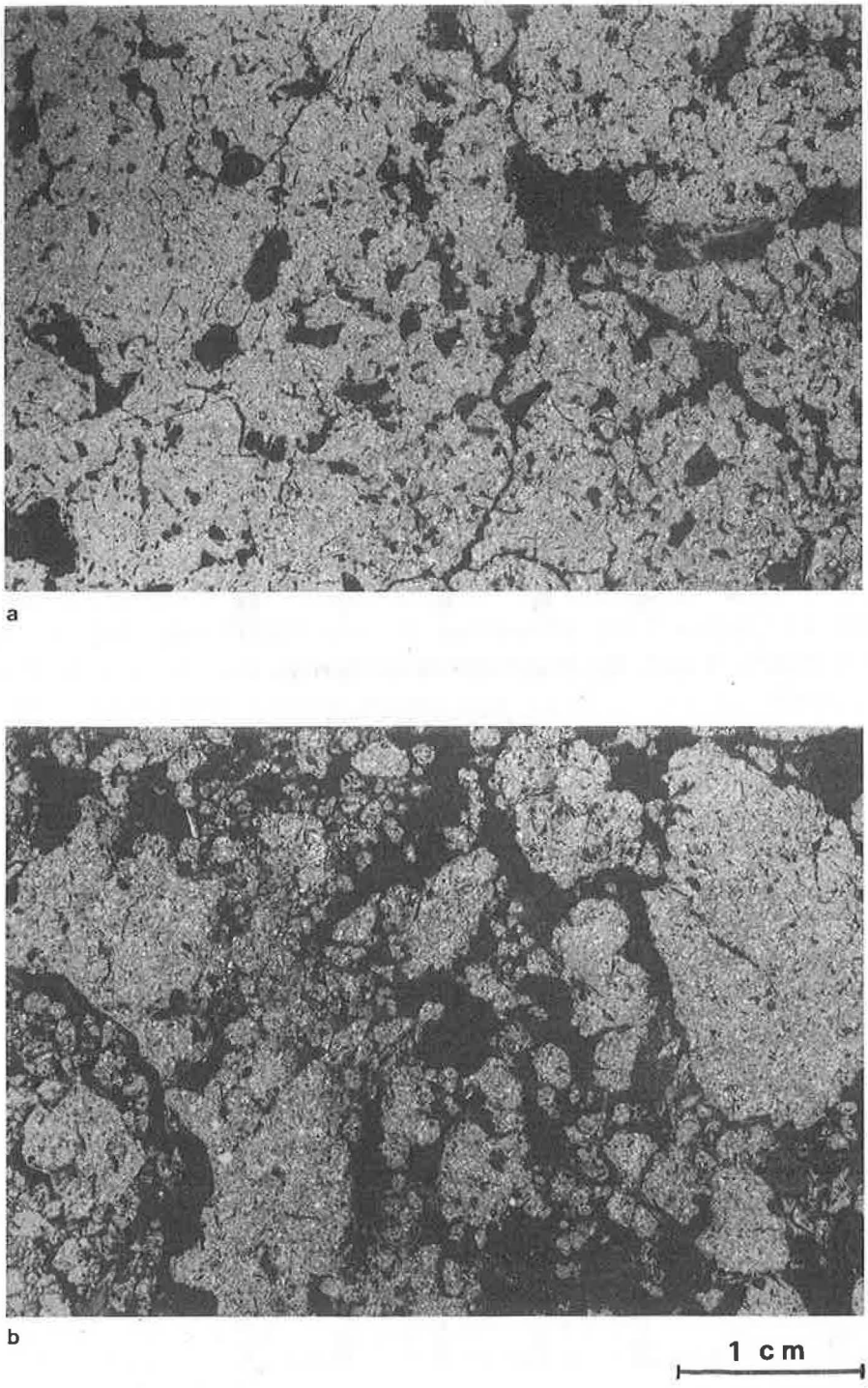


Fig. 6 - Macrofotografie di sezioni sottili, verticalmente orientate, preparate da campioni dello strato superficiale (0-6 cm) del terreno non lavorato (a) e lavorato (b). Le parti nere rappresentano i pori.

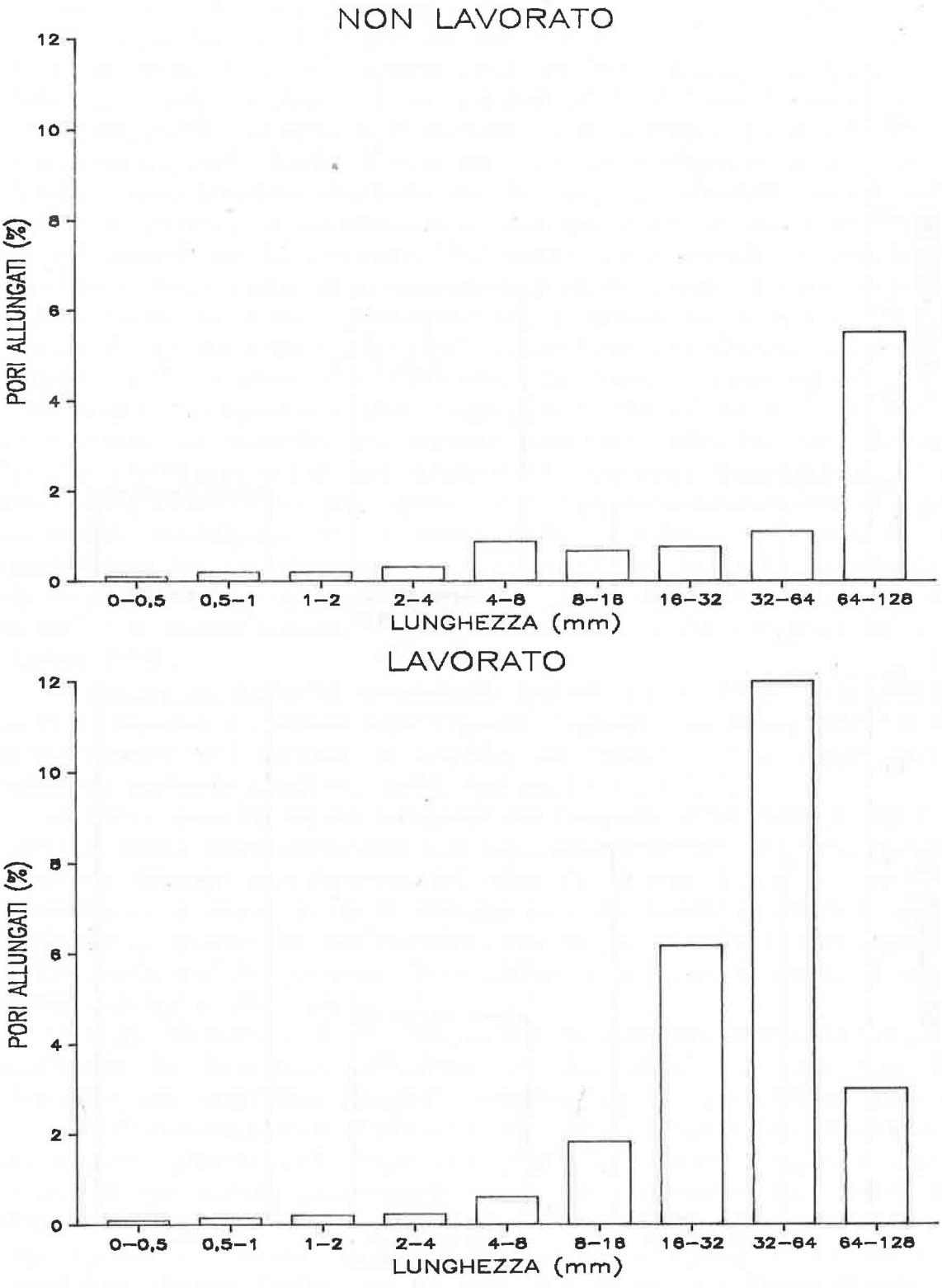


Fig. 7 - Distribuzione dei pori allungati secondo la loro lunghezza.

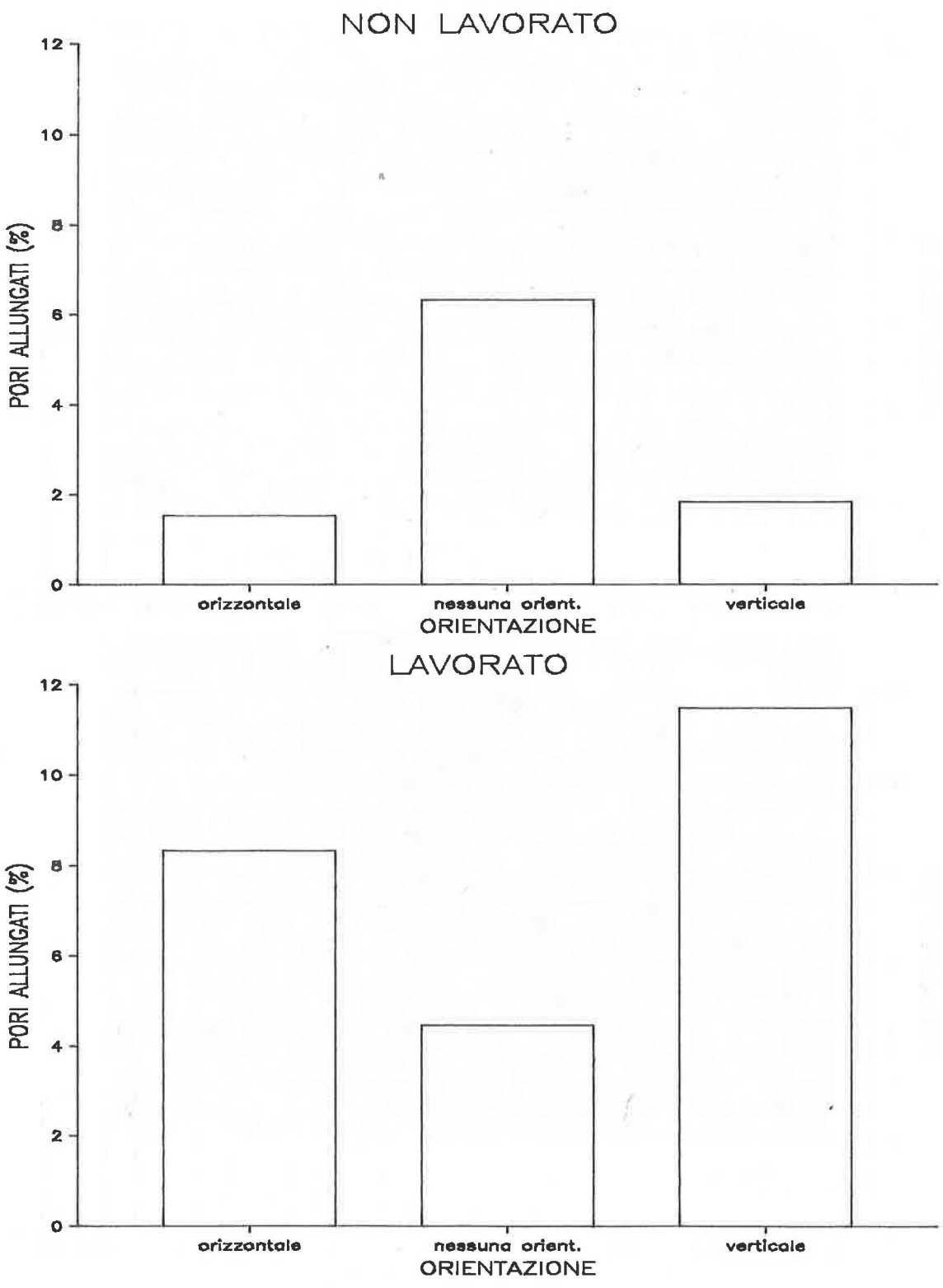


Fig. 8 - Distribuzione dei pori allungati secondo la loro orientazione.

formano una struttura lamellare.

Nella Fig. 9 è riportata l'irregolarità dei pori allungati sempre nello stesso terreno e sempre confrontando le due situazioni sperimentali. La lavorazione del terreno causa un forte aumento della porosità dovuta ai pori allungati e la maggior parte di questi pori ha un andamento molto irregolare e tortuoso nel terreno. Da sottolineare l'importanza della buona percentuale dei pori presenti nella classe 0,5-0,7, moderatamente regolari, nel terreno non lavorato. Questi pori hanno le pareti non perfettamente sovrapponibili le une alle altre, quindi permettono il passaggio dell'acqua anche quando il terreno è bagnato e rigonfiato. Al contrario i pori di forma regolare (classe 0,7-1) hanno le pareti sovrapponibili e quindi tendono a chiudersi quando il terreno rigonfia e quindi impediscono i movimenti dell'acqua. Quindi, nel terreno non lavorato, la maggior presenza di pori moderatamente regolari e più lunghi, rispetto al terreno lavorato, garantisce, ad esempio, un miglior sviluppo radicale. Le suddette analisi consentono quindi una valutazione accurata e quantitativa delle condizioni strutturali del terreno e i risultati esemplificativi qui riportati confermano che i danni alla struttura del terreno si evidenziano in una diminuzione della proporzione dei pori di trasmissione (50-500 μm) e dei pori che costituiscono la riserva idrica per le piante e i microorganismi ($<$ 50 μm) (Greenland, 1981; Pagliai et al., 1983b; 1984).

Le misure di porosità consentono inoltre di valutare danni dovuti alla formazione di croste superficiali (Pagliai e La Marca, 1979) e al compattamento del terreno in seguito, ad esempio, al passaggio delle macchine agricole (Pagliai, 1987; Pagliai et al, 1988).

Un altro esempio di applicazione dell'analisi d'immagine è rappresentato dalla quantificazione del crepacciamento del terreno. Questo fenomeno dipende strettamente dal tipo di terreno (tipo di argille: espandibili o meno) e dalle condizioni strutturali (stabilità degli aggregati), quindi la sua quantificazione da ulteriori informazioni della struttura del terreno (Petruzzelli et al., 1976; Guidi et al., 1978; Pagliai et al., 1980).

La Fig. 10 mostra il crepacciamento di campioni essiccati artificialmente in laboratorio (Pagliai et al., 1978), di due tipi di terreno; uno argilloso (Regosol, secondo la classificazione FAO) e l'altro franco-argilloso (Fluvisol). La Fig. 11 quantifica, ad esempio, la maggior presenza di crepe più larghe nel terreno argilloso, pur avendo i due terreni gli stessi valori di crepacciamento totale. La Fig. 12 quantifica, invece, la maggior presenza di aggregati, formati dal sistema di crepe, di più grandi dimensioni sempre nel terreno argilloso. Questo indica, ad esempio, che il terreno franco-argilloso ha una migliore attitudine alla rigenerazione strutturale avendo la capacità di formare, durante il ciclo di essiccamento, un maggior numero di piccoli aggregati.

Queste determinazioni si possono effettuare su fotografie e quindi è

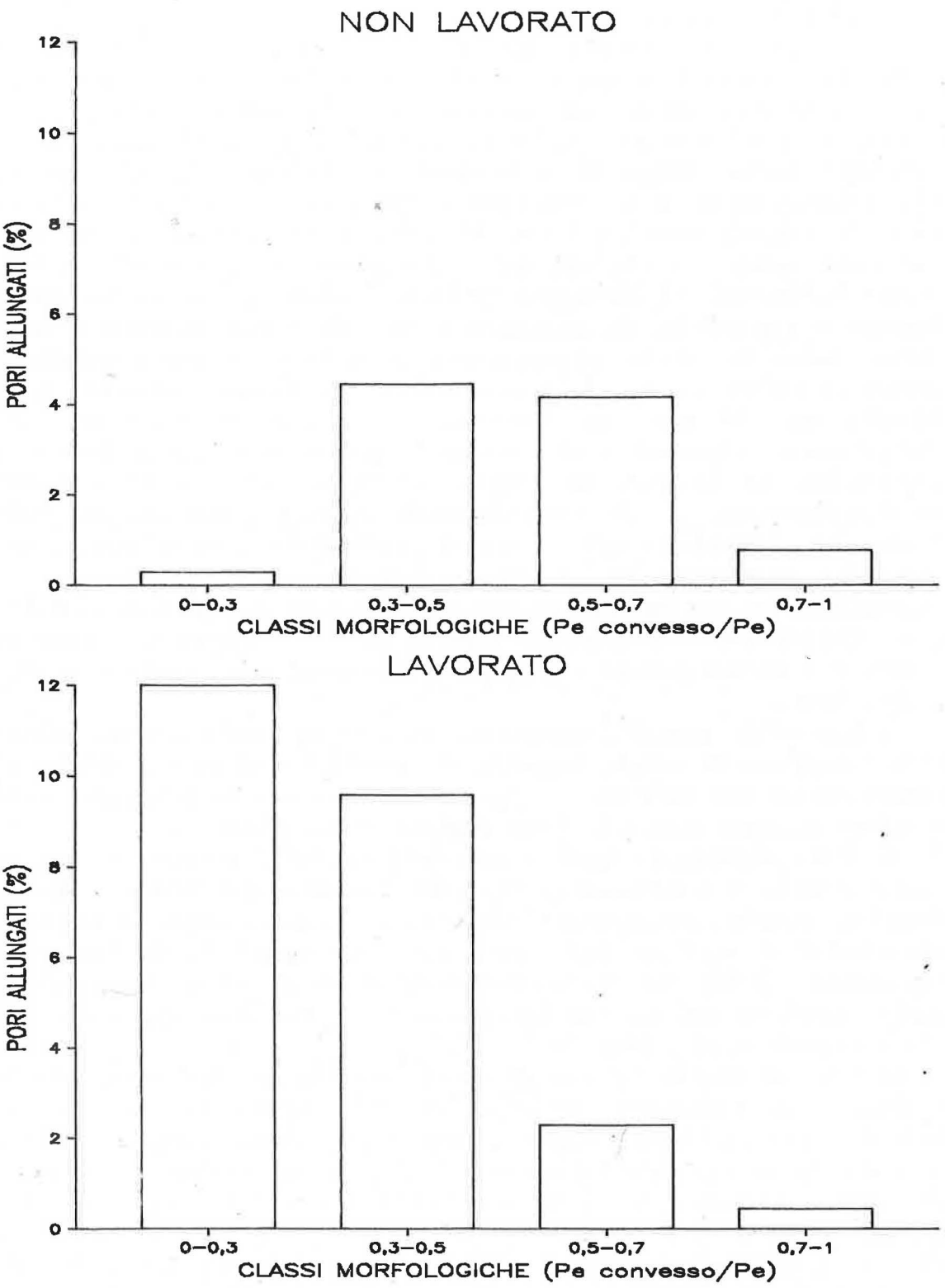


Fig. 9 - Distribuzione dei pori allungati secondo la loro irregolarità.

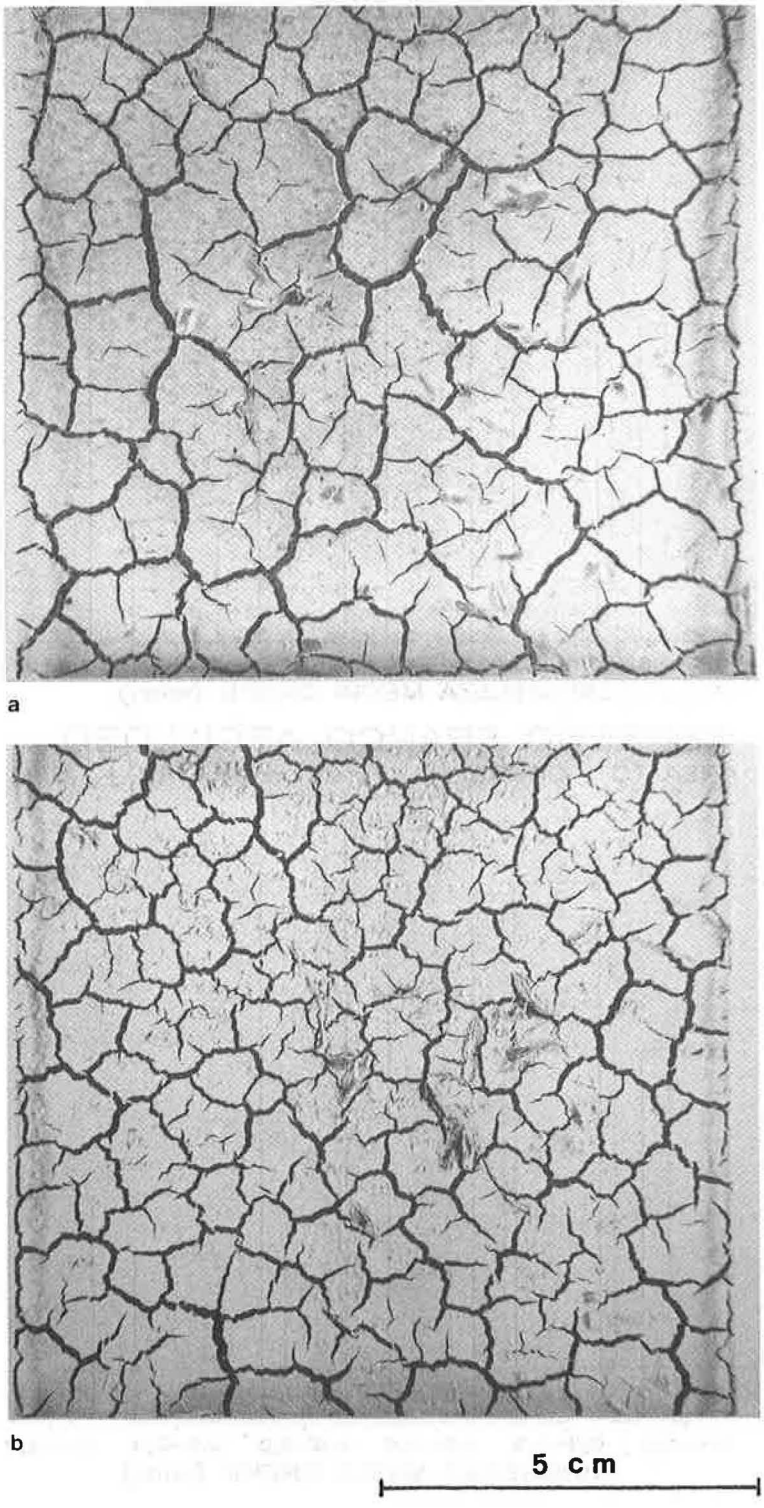


Fig. 10 - Crepacciamento dopo l'essiccamento in laboratorio di campioni dell'orizzonte Ap di un terreno argilloso (a) e franco argilloso (b).

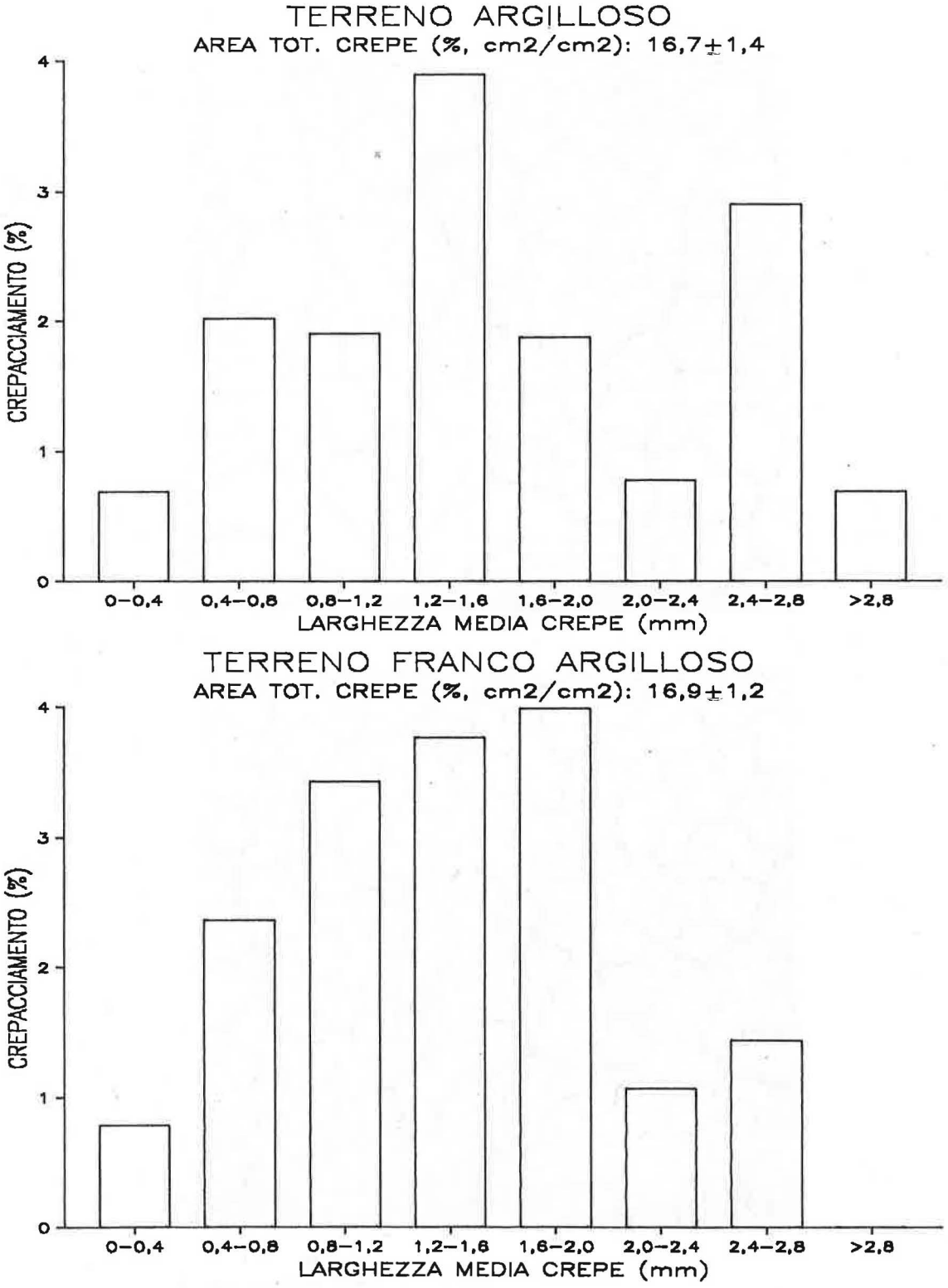


Fig. 11 - Distribuzione delle crepe secondo la loro larghezza.

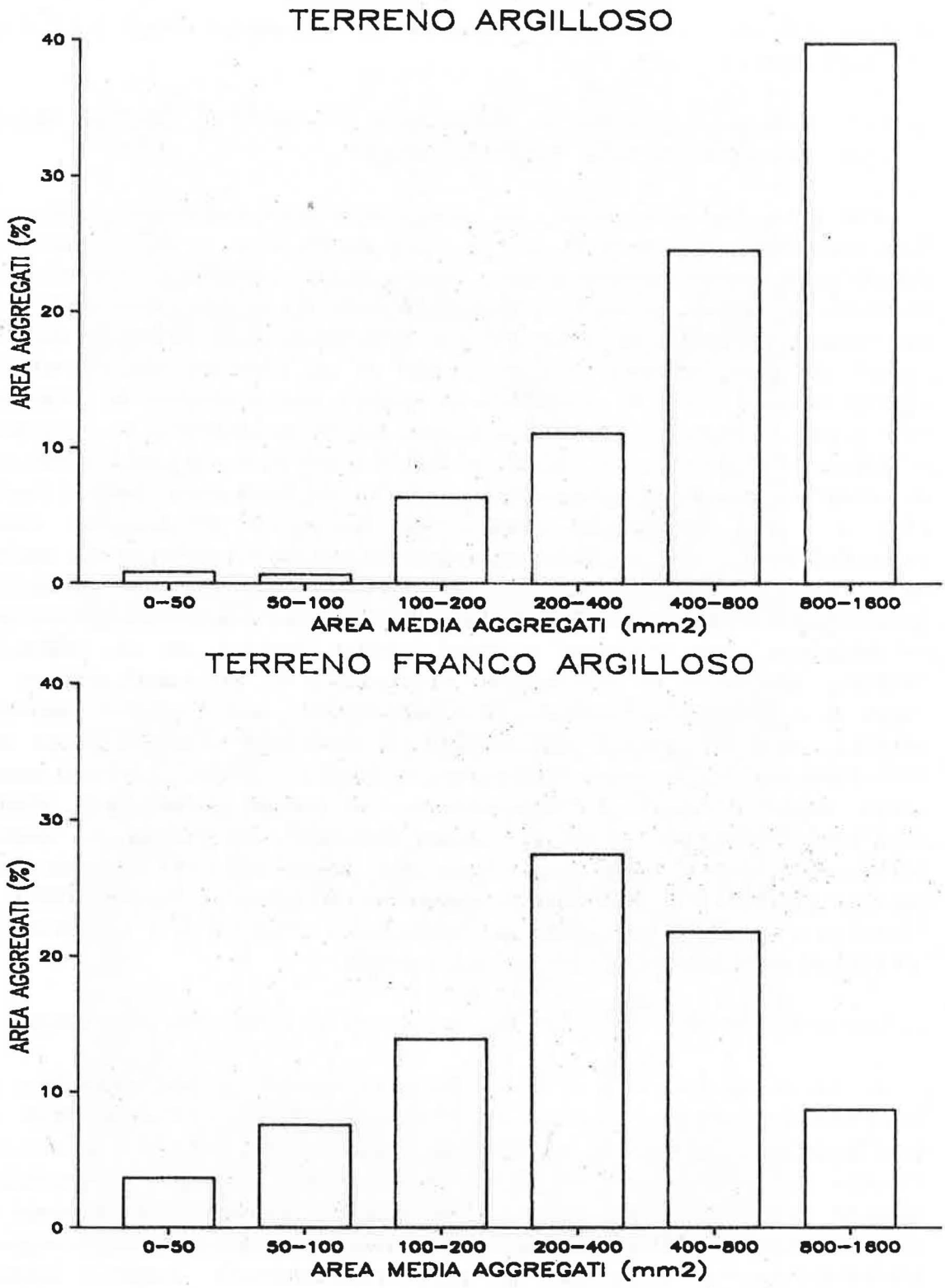


Fig. 12 - Distribuzione degli aggregati, separati dalle crepe, secondo la loro area.

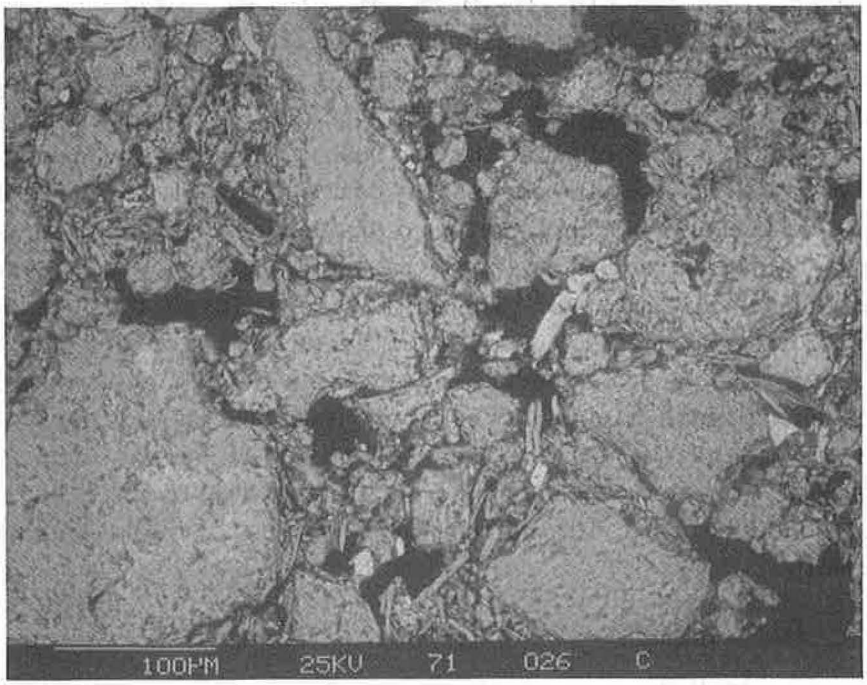
possibile anche valutare, ad esempio, le variazioni stagionali del crepacciamento in pieno campo.

6. LA COMBINAZIONE MICROSCOPIA ELETTRONICA - ANALISI DI IMMAGINE NELLO STUDIO DI CAMPIONI INDISTURBATI DI TERRENO.

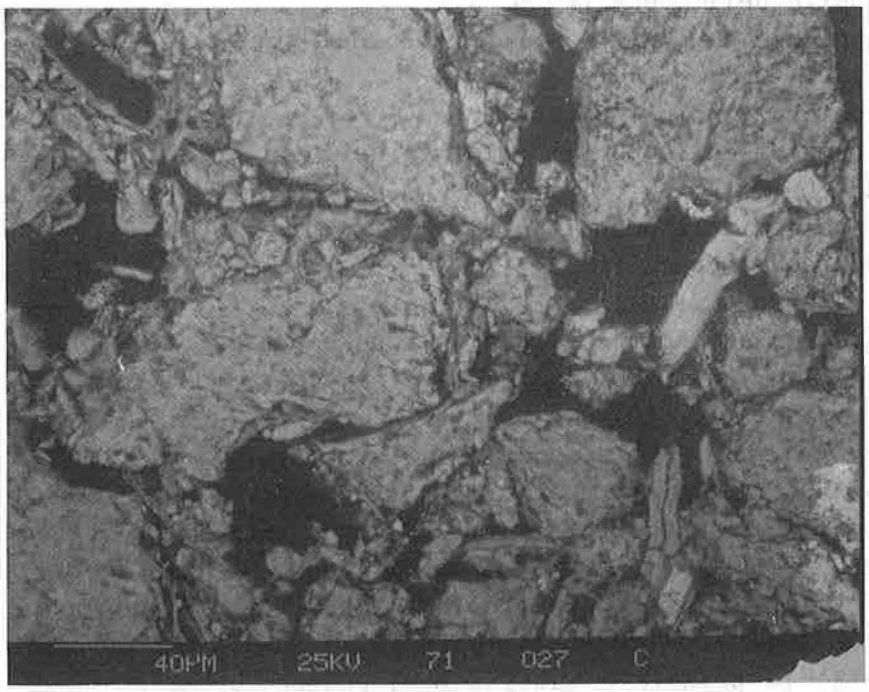
Come già detto la combinazione microscopio ottico/macroepidiascopo - Quantimet 720 permette di misurare i pori maggiori di 30 um di diametro equivalente mentre la combinazione microscopio elettronico - Quantimet consente la misura di tutti i micropori addirittura più piccoli di 0,1 µm. Quindi permette di quantificare interamente, ad esempio, quella classe di pori compresi fra 0,5 e 50 µm di diametro che Greenland (1977) chiama "pori di riserva" in quanto costituiscono la riserva idrica per le piante e i microorganismi. Con il microscopio elettronico a scansione (SEM) munito di un modulo detto "Backscattered electron detector" è possibile fotografare a forti ingrandimenti (addirittura fino a 4.000) le sezioni sottili di terreno e le immagini così ottenute, dove i pori appaiono ben discriminati dalla matrice del suolo (Fig. 13), vengono poi analizzate al Quantimet, dove è possibile quantificare i pori secondo la loro forma, dimensione, irregolarità, orientazione, ecc. (Bisdom e Thiel, 1981; Pagliai et al. 1983a). Inoltre, abbinando al microscopio elettronico il microanalizzatore a raggi X a dispersione di energia (SEM-EDXRA), sulle stesse sezioni sottili, dove si studia la porosità, è possibile ottenere mappe di distribuzione degli elementi (Ferrari e Pagliai, 1979). La localizzazione degli elementi è fondamentale, ad esempio, per gli studi dell'interfaccia suolo-radici. Usando tecniche più raffinate, quali colorazioni citochimiche, specifiche per carboidrati e proteine, su sezioni ultrasottili (5-10 µm di spessore) di terreno, Foster (1981) è riuscito a studiare la natura della sostanza organica e a localizzare determinati enzimi nella matrice del terreno.

7. USO DELL'ANALISI D'IMMAGINE PER CALCOLARE LA CONDUCIBILITA' IDRICA

La conducibilità idrica è un fattore essenziale per prevedere e programmare parametri quali tempi di irrigazione, lavorabilità e trafficabilità in terreni argillosi e rigonfiabili. Dato che le misure fisiche della conducibilità idrica sono lunghe e costose è preferibile stimare questo valore in campo. E' noto dalle osservazioni in campo e dalle deduzioni dagli studi fisici che i movimenti dell'acqua avvengono preferenzialmente attraverso i pori relativamente larghi, quindi l'esame della macrostruttura dovrebbe permettere la stima della conducibilità idrica, ma le esperienze in questo senso hanno dimostrato che non sempre si ha una correlazione tra la conducibilità idrica e la macrostruttura nei terreni argillosi rigonfiabili. Per migliorare questa correlazione Bouma et al. (1977) hanno messo a punto un metodo che prevede la preparazione di colonne di terreni argillosi indisturba-



a



b

Fig. 13 - Immagini di sezioni sottili di un terreno franco-sabbioso ottenute al Microscopio elettronico con il "Backscattered electron detector" a 200 (a) e 400 (b) ingrandimenti. Le parti nere rappresentano i pori.

ti, saturati per un certo periodo di tempo, quindi percolati con una soluzione acquosa contenente lo 0,1% di blu di metilene il quale durante la percolazione viene assorbito dalle particelle argillose sulle pareti dei pori; da queste colonne, vengono infine preparate sezioni sottili sia orizzontali, sia verticali. Tali sezioni sottili vengono poi fotografate e analizzate al Quantimet, come già descritto, al fine di caratterizzare la porosità. Oltre alla divisione dei pori secondo la loro forma e secondo le loro dimensioni, in questo tipo di analisi viene misurata anche l'area, la lunghezza e la larghezza dei pori con le pareti colorate dal blu di metilene, cioè di quei pori in cui si è avuto il movimento (flusso) dell'acqua. Particolare attenzione è richiesta nel misurare la larghezza dei pori allungati con pareti colorate, in quanto tale misura deve essere effettuata nel punto ove le due pareti sono più vicine (es. collo di bottiglia) perchè sono proprio questi punti più stretti che regolano il flusso dell'acqua. Con queste premesse la conducibilità idrica (K) può essere calcolata usando la seguente formula:

$$K = \frac{p \; g \; dn^3 \; l}{12 \; n \; A}$$

dove p = densità dell'acqua (Kg m^{-3})
dn= larghezza del punto più stretto dei pori con pareti colorate (m)
g = accelerazione di gravità (m s^{-2})
l = lunghezza delle pareti colorate dei pori sulla sezione sottile (m)
n = viscosità dell'acqua (Kg $s^{-1/2}$ $m^{-1/2}$)
A = area considerata (m^2)

I valori di dn sono ottenuti mediante un'elaborazione statistica dei dati di distribuzione della larghezza e continuità dei pori con pareti colorate (Bouma et al., 1979).

Su questo metodo diverse conclusioni sono state tratte da Jongerius (1983) e Bouma (1986) : 1) non c'è colorazione nella matrice del terreno e solo una parte dei macropori (pori non capillari) ha pareti colorate, cioè consente il flusso dell'acqua; 2) in molti casi le pareti dei pori mostrano una colorazione intermittente e questo dimostra che sono i "colli di bottiglia" che regolano il flusso dell'acqua; 3) in principio tutti i pori possono contribuire al flusso dell'acqua, ma in molti casi sono i pori allungati a regolare tale flusso; in altri casi invece anche i pori irregolari interconnessi e i canalicoli possono contribuire ai movimenti dell'acqua e questo dipende molto dal tipo di terreno.

8. CONCLUSIONI

La quantificazione della micro e macrostruttura del terreno è utile in molte aree della chimica agraria e dell'agronomia:

1) consente una miglior precisione nel definire i diversi tipi di struttura del terreno;
2) consente di verificare l'adattabilità dei suoli ad ambienti per lo sviluppo radicale delle colture;
3) fornisce basi realistiche per capire e valutare i movimenti dell'acqua, la capacità idrica di ritenuta e il drenaggio nel terreno;
4) permette di studiare le relazioni fra struttura del terreno e i movimenti degli organismi terricoli, nonchè le relazioni fra proprietà chimiche, biochimiche e fisiche del terreno;
5) consente di esaminare gli effetti di differenti pratiche colturali sulla struttura del terreno.

9. RINGRAZIAMENTI

Allo sviluppo dell'analisi d'immagine nell'Istituto hanno contribuito il Sig. G. Lucamante per la messa a punto e gestione del laboratorio di micromorfologia, e il Sig. M. La Marca per la messa a punto di tecniche di indurimento dei campioni nel loro stato naturale di umidità, la messa a punto di tecniche fotografiche e programmi per l'analisi d'immagine e la gestione del Quantimet 720.

10. BILIOGRAFIA

Bisdom, E.B.A. e Thiel, F. 1981. Backscattered electron scanning images of porosities in thin sections of soil, weathered rocks and oil-gas reservoir rocks using SEM-EDXRA. In: E.B.A. Bisdom (Editor), Submicroscopy of Soils and Weathered Rocks. Centre for Agricultural Publishing and Documentation (PUDOC), Wageningen, pp. 191-206.

Bouma, J. 1986. Using soil survey information to characterize the soil-water state. Journal of Soil Science, 37: 1-7.

Bouma, J., Jongerius, A., Boersma, O.H., Jager, A. e Schoonderbeek, D. 1977. The function of different types of macropores during saturated flow through four swelling soil horizons. Soil Science Society of America Journal, 41: 945-950.

Bouma, J., Jongerius, A. e Schoonderbeek, D. 1979. Calculation of saturated hydraulic conductivity of same pedal clay soils using micromorphometric data. Soil Science Society of America Journal, 43: 261-264.

Brewer, R. 1964. Fabric and Mineral Analysis of Soils. John Wiley, New York, 470 pp.

Bullock, P. e Murphy, C.P. 1976. The microscopic examination of the

structure of sub-surface horizons of soils. Outlook on Agriculture, 8: 348.

Bullock, P. e Murphy, C.P. 1980. Towards the quantification of soil structure. Journal of Microscopy, 120: 317-328.

Childs, E.C. 1940. The use of soil moisture characteristics in soil studies. Soil Science, 50: 239.

Eswaran, H. 1968. Point-count analysis as applied to soil micromorphology. Pedologie, 18: 238-252.

Ferrari, G.A. e Pagliai, M. 1979. Analisi in sezioni sottili al SEM-EDXRA di figure pedologiche di neoformazione di un suolo argilloso trattato con condizionatore ferrico. Bollettino della Società Italiana della Scienza del Suolo, 11-12: 51-59.

Foster, R.C. 1981. Localization of organic materials in situ in ultra-thin sections of natural soil fabrics using cytochemical techniques. In: E.B.A. Bisdom (Editor), Submicroscopy of Soils and Weathered Rocks. PUDOC, Wageningen, pp. 307-317.

Greenland, D.J. 1977. Soil damage by intensive arable cultivation: temporary or permanent? Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 281: 193-208.

Greenland, D.J. 1981. Soil management and soil degradation. Journal of Soil Science, 32: 301-322.

Guidi, G., Pagliai, M. e Petruzzelli, G. 1978. Quantitative size evaluation of craks and clods in artificially dried soil samples. Geoderma, 19: 105-113.

Ismail, S.N.A. 1975. Micromorphometric soil porosity characterization by means of electro-optical image analysis (Quantimet 720). Soil Survey Paper No. 9, Netherland Soil Survey Institute, Wageningen, pp. 140.

Jongerius, A. 1983. Micromorphological applications in agricultural research. In: P. Bullock and C. P. Murphy (Editors), Soil Micromorphology, Volume 1: Techniques and Applications. A B Academic Publishers Herts, pp. 111-138.

Jongerius, A. e Heintzberger, G. 1975. Methods in soil micromorphology. A technique for the preparation of large thin sections. Soil Survey Paper No. 10, Netherlands Soil Survey Institute, Wageningen, pp. 48.

Jongerius, A., Schoonderbeek, D., Jager, A. e Kowalinski, St. 1972. Electro-optical soil porosity investigation by means of Quantimet-B equipment. Geoderma, 7: 193.

Lawrance, G.P. 1977. Measurement of pore size in fine textured soil: a review of existing techniques. Journal of Soil Science, 28: 527-540.

Miedema, R., Pape, Th. e Van de Wall, G.J. 1974. A method to impregnate wet soil samples, producing high quality thin sections. Netherlands Journal of Agricultural Science, 22: 37-39.

Monnier, G., Stengel, P. e Fiès, J.C. 1973. Une méthode de mesure de la densitè apparente de petits agglomérats terreux. Application à l'analyse des systémes de porosité du sol. Annales Agronomies, 24:

533-544.

Murphy, C.P. 1986. Thin section preparation of soils and sediments. A B Academic Publishers, Herts, pp. 149.

Murphy, C.P. e Banfield, C.F. 1978. Pore space variability in a sub-surface horizon of two soils. Journal of Soil Science, 29: 156.

Murphy, C.P., Bullock, P. e Turner, R.H. 1977a. The measurement and characterization of voids in soil thin sections by image analysis: Part I. Principles and techniques. Journal of Soil Science, 28: 498-508.

Murphy, C.P., Bullock, P. e Biswell, K.J. 1977b. The measurement and characterization of voids in soil thin sections by image analysis: Part II. Applications. Journal of Soil Science, 28: 509-518.

Pagliai, M. 1983. Caratterizzazione della porosità del terreno mediante l'analizzatore ottico-elettronico di immagine Quantimet 720. Agrochimica, 27: 113-122.

Pagliai, M. 1987. Micromorphometric and micromorphological investigations of the effect of compaction by pressures and deformations resulting from tillage and wheel traffic. In: G. Monnier, M.J. Goss (Editors), Soil compaction and regeneration. Published for the Commission of the European Communities by A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 31-38.

Pagliai, M., Bisdom, E.B.A. e Ledin, S. 1983a. Changes in surface structure (crusting) after application of sewage sludges and pig slurry to cultivated agricultural soils in northern Italy. Geoderma, 30: 35-53.

Pagliai, M., Guidi, G. e La Marca, M. 1980. Macro and micromorphometric investigation on soil dextran interactions. Journal of Soil Science, 31: 493-504.

Pagliai, M., Guidi, G. e Petruzzelli, G. 1978. Effect of molecular weight on dextran-soil interactions. In: W.W. Emerson, R.D. Bond and A.R. Dexter (Editors), Modification of Soil Structure. Wiley, New York, pp. 175-180.

Pagliai, M. e La Marca, M. 1979. Micromorphological study of soil crusts. Agrochimica, 23: 16-25.

Pagliai, M., La Marca, M. e Lucamante, G. 1983b. Micromorphometric and micromorphological investigations of a clay loam soil in viticulture under zero and conventional tillage. Journal of Soil Science, 34: 391-403.

Pagliai, M., La Marca, M., Lucamante, G. e Genovese, L. 1984. Effects of zero and conventional tillage on the length and irregularity of elongated pores in a clay loam soil under viticulture. Soil and Tillage Research, 4: 433-444.

Pagliai, M., Pezzarossa, B., La Marca, M. e Lucamante, G. 1988. Variazioni della porosità del terreno in seguito al compattamento provocato dal passaggio di trattori. Rivista di Ingegneria Agraria (in corso di stampa).

Petruzzelli, G., Guidi, G. e Sequi, P. 1976. Electro-optical measurement of clay shrinkage. Clay Minerals, 11: 81.

Sequi, P. 1978. Soil structure - An outlook. Agrochimica, 22: 403-425.

Sequi, P., Cercignani, G., De Nobili, M. e Pagliai, M. 1985. A positive trend among two soil enzyme activities and a range of soil porosity under zero and conventional tillage. Soil Biology Biochemistry, 17: 255-256.

U.S.D.A. 1951. Soil Survey Manual. Agriculture Handbook No. 18. U.S. Department of Agriculture.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

CARATTERIZZAZIONI MICROSTRUTTURALI MEDIANTE TECNICHE POROSIMETRICHE E GAS-ADSORBIMENTI

Pietro Italiano
Carlo Erba Strumentazione
Rodano - Milano

RIASSUNTO
L'applicazione delle moderne tecniche di caratterizzazione delle microstrutture alla chimica e chimica-fisica del suolo e dei suoi componenti non e' una novita' per la ricerca. E' invece nuova ed e' qui descritta la possibilita' di utilizzare tali tecniche nella normale routine d'analisi, completando la serie classica dei parametri chimici con i parametri microstrutturali di superficie specifica, distribuzione di porosita', densita' reale ed apparente, distribuzione granulometrica.

SUMMARY
The application of modern techniques of microstructure characterization, to soil physical-chemistry, is well-known and it is used in research. Here is described the use of microstructure techniques to routine analysis of soil, completing the classical series of chemical parameters with specific surface, pore and particle size distribution, real and bulk density.

(fig.1)

Sono divenute finalmente tecniche e procedure standard (4) alcune delle molte tecniche usate storicamente per la determinazione di tali parametri (fig. 1). Implementate tecnologicamente (automazione, sicurezza, informatizzazione, etc.) esse permettono un "facile" accesso ad un ampio spettro di informazioni. Tutti i parametri sopraccitati sono deducibili da misure mediante le tecniche di adsorbimento-desorbimento fisico isotermico di gas e la porosimetria per intrusione-estrusione di mercurio sotto vuoto e ad alta pressione.
Entrambe queste tecniche hanno visto negli ultimi anni notevole sviluppo sia sul piano tecnologico che su quello della modellistica e dell'"interpretabilita'" pratica dei risultati.
Noi qui, nel metre rimandiamo sugli aspetti fondamentali ad importanti contributi anche recentissimi (6), cercheremo di inquadrare brevemente lo stato dell'arte sottolineandone le principali novita'.

La chiave di interpretazione dei parametri di caratterizzazione microstrutturale dei solidi e' certamente la valutazione della DISTRIBUZIONE DI POROSITA'. E' chiaro infatti che l'aumento di porosita' specifica e' correlato direttamente alla superficie specifica cosi' come la porosita' interparticellare e' direttamente correlata alla

dimensione delle particelle costituenti il sistema (granulometrie). Tali correlazioni sono ottenute mediante l'applicazione di modelli fisico-matematici.
Nello studio delle microstrutture di sistemi estremamente complessi, quali sono appunto i terreni, proprio la misura e la modellistica sulla porosita' assume importanza centrale considerando che tutte le principali "funzioni" che in essi si svolgono avvengono nella e sulla struttura porosa.

La classificazione dei pori e' stata definita fin dal 1972 dalla IUPAC (Tab. 1) tenendo conto delle tecniche di misura e

Tab.1

MICROPORI	<	2.0 nm
MESOPORI		2.0 - 50 nm
MACROPORI	>	50 nm

degli ambiti di applicabilita' dei modelli interpretativi ad esse associate.
In pratica, i "micropori" sono quelli che danno luogo ad isoterme di adsorbimento fisico dei gas del primo tipo (LANGMUIR) (Fig. 1).
I mesopori mostrano un'importante isteresi nel ciclo di adsorbimento-desorbimento fisico dei gas (CONDENSAZIONE CAPILLARE) e presentano un'isoterma del quarto tipo.
I pori piu' grandi, a parte qualche caso di solidi con particolare geometria della struttura, sono misurabili solo usando la porosimetria a mercurio.

(Fig.2)

Cio' dimostra la necessita' di un "approccio multitecniche" allo studio della distribuzione di porosita' (fig. 3) e costituisce una guida all'organizzazione del moderno laboratorio di caratterizzazione delle microstrutture (fig. 4).

La determinazione della microporosita' ha costituito e costituisce uno dei capitoli piu' importanti ed insieme complessi della caratterizzazione microstrutturali poiche' si applica a solidi di grande pregio (carboni attivi, zeoliti, argille, etc.) e di grande complessita'.

I micropori presentano dimensioni dell'ordine di grandezza molecolare e quindi la grande prossimita' delle pareti dei pori stessi determina un'accentuazione della forza di interazione tra adsorbato ed adsorbente. I precisi limiti della regione dei micropori e' addirittura, difficile da determinare, nonostante la definizione IUPAC, e viene generalmente utilizzata quella di regione in cui il "filling effect" o "primary effect" ha luogo, cioe' un adsorbimento di gas a bassissima pressione, che si distingue da quello a pressione piu' elevata: "secondary effect" o "capillary condensation". Una certa confusione e' stata pure indotta dai tentativi di classificare sottocategorie dei micropori (come "supermicropori" etc.) in termini di esatte dimensioni piuttosto che facendo riferimento al sistema gas-solido visto complessivamente anche nella sua natura chimica. Si puo' infatti osservare che anche il "filling mechanism" presenta spesso due zone distinte.

Una zona dove a bassissima densita' di gas ($P/Po \sim 10^{-7} - 10^{-5}$) si presenta l'ingresso nei pori piu' piccoli di molecole di adsorbato isolate; il secondo, a pressione un poco piu' elevata, in cui il meccanismo di adsorbimento risulta "cooperativo" cioe' si presentano influenze tra molecole di adsorbato oltre che tra adsorbato-adsorbente. Ricordiamo qui, per inciso, che la determinazione della superficie specifica mediante l'uso dell' equazione B.E.T., non puo' essere rigorosamente applicata ai solidi microporosi, per cui si usano i concetti di LANGMUIR AREA e MONOLAYER EQUIVALENT AREA.

Siccome nessuna teoria e' attualmente in grado di risolvere in modo del tutto soddisfacente il meccanismo di riempimento dei micropori per adsorbimento di gas, abbiamo deciso nel nostro laboratorio di normalizzare l'uso della equazione di DUBININ - RADUSHKEVICH

(vedi formula riportata su foglio n.5 separato)

$$W = Wo \exp - \frac{RT \ln Po/P}{Eo} \qquad (3)$$

ma insieme di determinare quando e' possibile sui solidi microporosi, anche l'adsorbimento a bassa densita' di gas ($10^{-7} < P/Po < 10^{-5}$) e di fornire un grafico fortemente

espanso in tale zona, dell'isoterma.

I mesopori sono tradizionalmente misurati applicando l'equazione di Kelvin (fig.5), basata sulle isoterme di adsorbimento-desorbimento dei gas.

fig. 5

(vedi su foglio separato)

$$RT \ln P/Po = - V \cos \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right)$$

$$r = - \frac{2 V \cos}{RT \ln P/Po}$$

P/Po = pressioni relative di equilibrio

r = raggio del menisco dell'adsorbato condensato nel poro

= tensione superficiale del condensato

= angolo di bagnabilita' condensato/superficie poro

R = costante dei gas

T = temperatura assoluta

V = volume molare dell'adsorbato condensato

Tale modello assume i pori cilindrici e mette in relazione il raggio dei pori con la pressione relativa dall'adsorbato in equilibrio con la fase condensata.
La distribuzione di porosita' e' calcolata usando le diverse pressioni di desorbimento e si limita alla regione in cui l'isoterma incontra quella di adsorbimento, quando cioe' la superficie del solido e' ricoperta da un monostrato d'adsorbato. L'isoterma e' normalmente condotta con N2 alla sua temperatura di saturazione

Che l'equazione di Kelvin non tenga conto dello spessore dello strato (o degli strati) adsorbito sulle pareti del poro e che quindi vada corretta per migliorare il modello e' evidente.
Sono fiorite numerose proposte di "correzione" che hanno un po' confuso la possibilita' di linguaggio comune tra gli utilizzatori della tecnica (fig. 6). Noi utilizziamo la correzione proposta da BARRER, JOYNER e HALENDA non solo perche' molto chiara ma perche' e' la piu' usata nel mondo.

fig. 6

"CORREZIONI" ALL'EQUAZIONE DI KELVIN
PER IL CALCOLO DEI MESOPORI

WHEELER
SHULL
BARRER - JOYNER - HALENDA
CRANSTON - INKLEY
DOLLIMORE - HEAL
e altri

Un'approccio completamente diverso e' invece quello proposto da LIPPENS e DE BOER che usa l'isoterma di adsorbimento: il cosi' detto "t - METHOD".

Tale metodo e' basato sull'assunzione che, su una superficie libera accessibile, l'adsorbimento avviene mediante un aumento dello spessore adsorbito a pressioni relative crescenti. Questa relazione tra lo spessore degli strati adsorbiti e delle pressioni relative puo' essere espressa mediante una curva universale. Adattando l'isoterma di adsorbimento attuale con questa curva di riferimento (invece dell'asse delle pressioni relative si usa l'asse degli spessori di adsorbato), si ottiene una relazione tra volume di adsorbato e spessore degli strati. La curva ottenuta sara' una retta fino a quando la superficie disponibile all'assorbimento e' costante, una repentina diminuzione del coefficiente angolare dimostra la diminuita "disponibilita'" all'assorbimento per saturazione dei pori che hanno il raggio corrispondente a quello spessore di adsorbato.

Variazioni piu' o meno sofisticate del metodo-t sono il metodo- s (SING) e il metodo-n (di PIERCE).

Questi metodi sono pure usati, anche se condizionati dalla effettiva mancanza di una isoterma di riferimento universale, perche si adattano ad interpretare sistemi di micro e meso porosita' ed a tentare di indicarne i diversi contributi: questo e' anzi uno dei temi di ricerca piu' aperti ed attuali.

Si puo' osservare che la caratterizzazione di micro e meso porosita' costituisce tema non semplicissimo ed il passaggio da uno all'altro dei modelli utilizzati implica anche un diverso approccio sperimentale.

I modelli usano infatti isoterme di adsorbimento e/o desorbimento, diversi gas e vapori, a temperature diverse in diverse regioni di pressione. Lo sforzo di quanti operano nella strumentazione analitica e' teso a fornire soluzioni automatiche e semplici ma capaci di grande flessibilita' per offrire le maggiori possibilita' di utilizzo.

Dal Porosimetro di DRAKE nel 1945, la porosimetria a mercurio ha avuto una diffusione notevole per il fatto di essere l'unico strumento capace di offrire informazioni sulla distribuzione di porosita' nella vastissima regione di macroporosita'.

Basata sull'equazione di Washburn (fig. 7) a sua volta derivata dall'equazione di Kelvin.

fig.7

EQUAZIONE DI WASHBURN

$$r = \frac{2 \cos}{P}$$

r = raggio dei pori

P = pressione

= tensione superficiale del mercurio

= angolo di bagnabilita'

applicata all'intrusione di un liquido non bagnante (mercurio) nei pori.
L'intrusione e' ottenuta a pressioni che sono inversamente proporzionali alla dimensione della sezione del poro.

Questa tecnica ha raggiunto ormai una sua maturita' e permette sofisticati modi di utilizzo per ricavare informazioni non solo sulla distribuzione di porosita' ma anche sulla forma dei pori e sulla struttura interconnessa degli stessi (isteresi) nonche' di densita', superfici e dimensione delle particelle nel caso di particolati.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

1) GREENLAND, D.J. e QUIRK J.P.
Surface Areas Of Soil Colloids, 1962

2) L.A.G. AYLMORE e J.P. QUIRK
The micropore size distribution of clay mineral systems.
Journal of Soil Science - 1967

3) G.GUIDI, G.POGGIO e G. PETRUZZELLI
The Porosity Of Soil Aggregates From Bulk Soil And From Soil Adhering To Roots
Plant and Soil - 1985

4) IUPAC - PHYSICAL CHEMICAL DIVISION
Reporting Physisorption Data for Gas/Solid Systems, with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity (prepared for publication by K.S.W. SING)

5) J.M. HAYNES - P. ROSSI DORIA (Editors)
Principles and Applications of Pore Structural Characterization.
Proceedings of RILEM/CNR
International Symposium - MILANO, 1983
ARROWSMITH, 1985

6) K.K. UNGER - J. ROUQUEROL - K.S.W. SING (Editors)
Characterization of Porous Solids.
Proceedings of the IUPA Symposium (COPS 1), Bad Soden a.Ts., F.R.G., April 26-29, 1987
ELSEVIER - 1988

7) S.J. GREGG - K.S.W. SING
Adsorption, Surface Area and Porosity
Academic Press, London 1982

8) Garrison Sposito
The Surface Chemistry of Soils
Oxford University Press - 1984

Fig. 1 Chimica delle superfici dei suoli

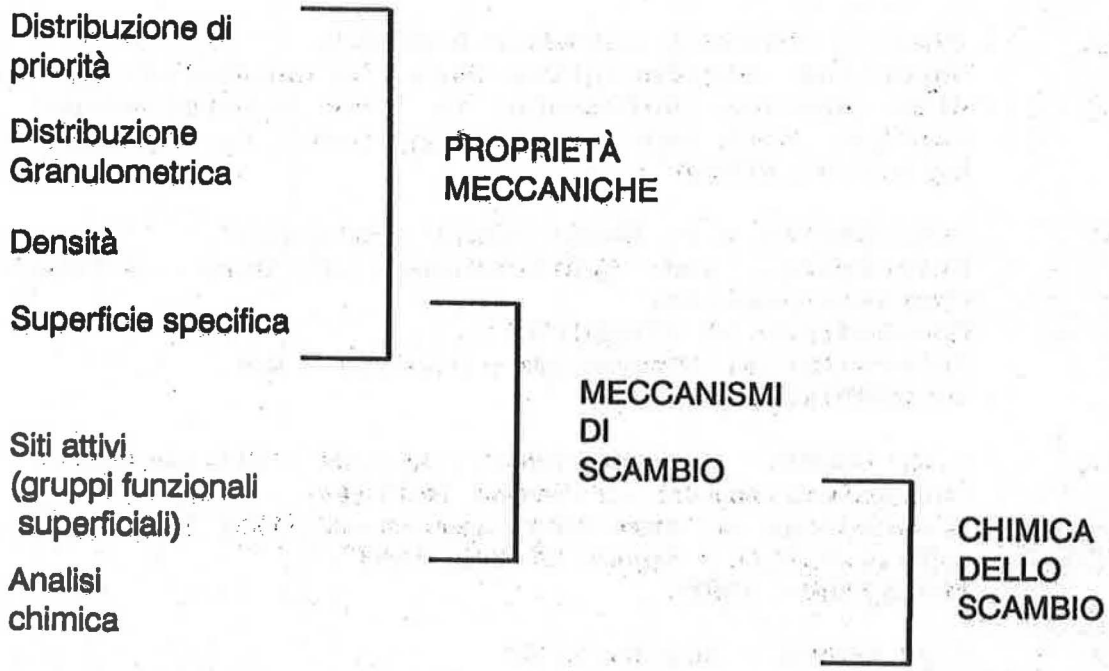


Fig. 2 Tipi di isoterme di gas adsorbimento

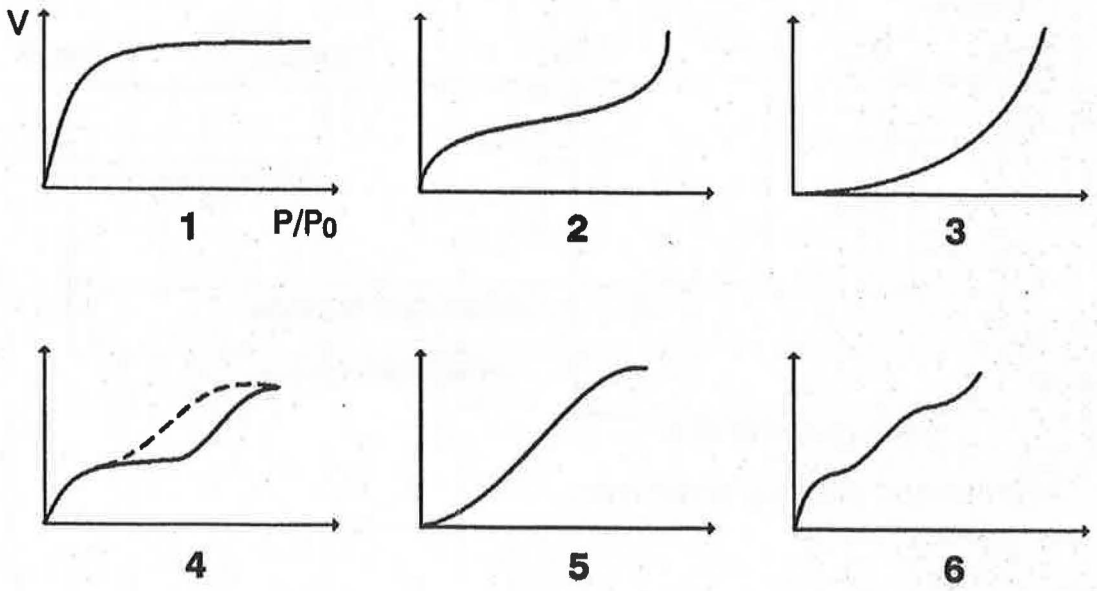


Fig. 3 Regioni di porosità e tecniche di misura

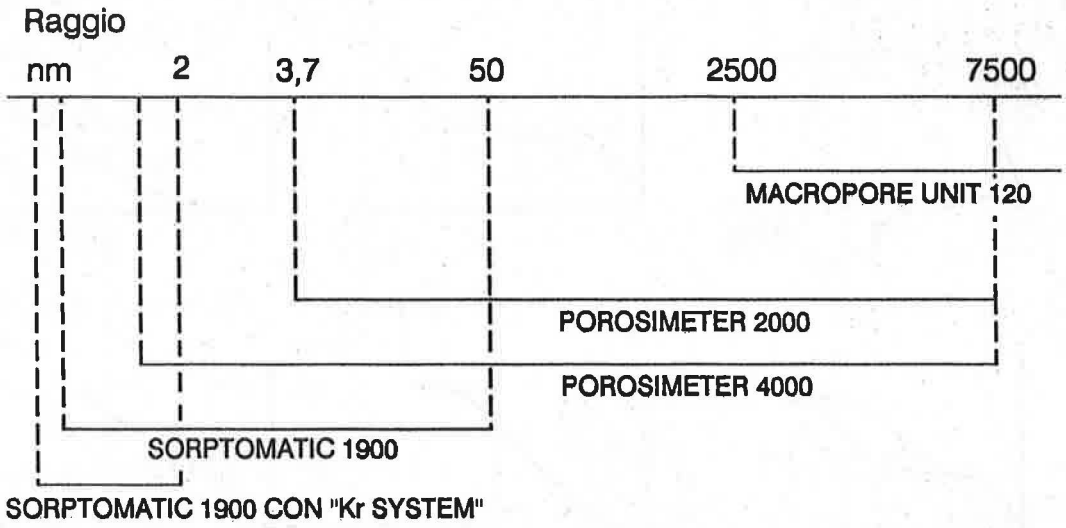
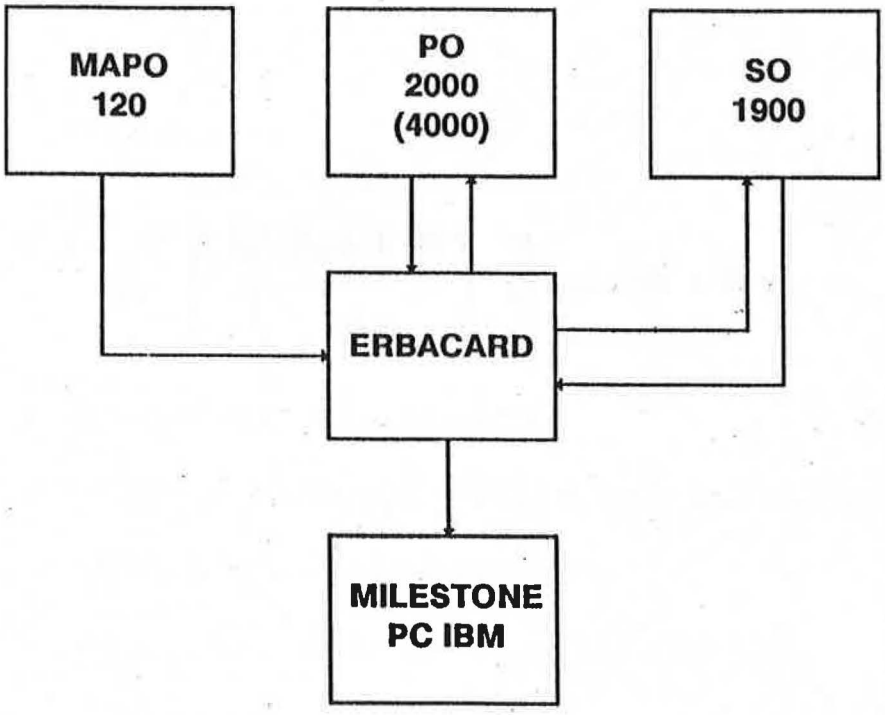


Fig. 4



$$W = W_0 \exp\left[-\left(\frac{RT \ln P_0/P}{\beta E_0}\right)^2\right] \quad (3)$$

Fig. 5

$$RT \ln P/P_0 = - V \gamma \cos \vartheta \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right)$$

$$r = - \frac{2 V \gamma \cos \vartheta}{RT \ln P/P_0}$$

P/P_0 = pressioni relative di equilibrio

r = raggio del menisco dell'adsorbato condensato nel poro

γ = tensione superficiale del condensato

ϑ = angolo di bagnabilita' condensato/superficie poro

R = costante dei gas

T = temperatura assoluta

V = volume molare dell'adsorbato condensato

fig.7

EQUAZIONE DI WASHBURN

$$r = \frac{2 \sigma \cos \vartheta}{P}$$

r = raggio dei pori

P = pressione

σ = tensione superficiale del mercurio

ϑ = angolo di bagnabilita'

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

IMPIEGO DI TECNICHE RADIOISOTOPICHE

Silva Sandro
Istituto di Chimica, Facoltà di Agraria, Università Cattolica
Via Emilia Parmense, 84 - Piacenza -

RIASSUNTO

Le possibilità di produrre radioisotopi artificiali hanno permesso di sviluppare nuove tecniche di indagine, originali per concenzione e per le possibilità di applicazione, che si sono dimostrate particolarmente interessanti per lo studio di problemi di carattere agrario. Questa nota passa in rassegna le applicazioni originali dei radioisotopi nelle scienze agrarie con particolare riferimento alla misura della disponibilità dei nutritivi nel suolo, ai processi di immobilizzazione-mineralizzazione del carbonio, e al turnover di alcune frazioni umiche, nonché alla efficacia relativa di differenti fertilizzanti.

SUMMARY

The possibility of producing artificial radioisotopes have allowed the development of new and original research techniques which proved very interesting for the applications in the agricultural field. This paper reviews the original applications of radioisotopes in the agricultural sciences, with a special reference to the measurement of the availability of nutrients in the soil, of immobilization-mineralization precesses of carbon, of the turnover of some humic fractions, and of the relative efficiency of different fertilizers.

1. INTRODUZIONE

Il progresso nella conoscenza della natura delle sostanze e delle trasformazioni che esse subiscono nei processi naturali é strettamente legato ai mezzi di indagine che via via vengono forniti.

Negli ultimi anni, all'analisi chimica classica, si sono affiancati mezzi di indagine chimico-fisica, capaci di cogliere aspetti non rilevabili coi semplici mezzi chimici. Queste metodologie hanno grandemente contribuito al progresso delle nostre conoscenze.

La migliore conoscenza della struttura atomica e la conseguente possibilità di ottenere isotopi, hanno permesso di trovare e sviluppare nuove tecniche di indagine, che si sono dimostrate particolarmente interessanti per lo studio di problemi di carattere agrario.

Mediante gli isotopi é possibile "marcare" una molecola, che pertanto, introdotta in qualsiasi sistema chimico o biochimico, può essere seguita con sicurezza nel corso delle sue trasformazioni.

Lo studio dei fertilizzanti, degli antiparassitari, del biochimismo vegetale, si é più volte avvantaggiato dall'uso degli isotopi.

Traccianti radioattivi hanno contribuito in larga misura alla valutazione dell'assorbimento radicale e fogliare di minerali e di altri materiali delle piante. L'assunzione radicale di elementi come fosforo, potassio, ferro, zolfo, calcio e magnesio dal terreno é un fenomeno estremamente complesso includendo processi di trasporto attivo e di diffusione passiva. Materiali marcati sono stati particolarmente utili nello studio della competizione tra ioni differenti in processi di trasporto attivo come pure nelle ricerche riguardanti la velocità di penetrazione e il percorso seguito da materiali dopo che essi sono penetrati nella pianta. Usando acqua tritiata é possibile studiare sia il movimento di prodotti disciolti sia il movimento della acqua stessa;in certi casi i movimenti non sono paralleli l'uno all'altro.

Un risultato inaspettato negli studi di assorbimento fu la scoperta che numerosi minerali e composti organici possono essere assorbiti dalle foglie con un'efficacia molto superiore a quella delle radici. In conseguenza di ciò l'applicazione fogliare di certi nutrienti é diventata una pratica agricola usuale.

Di tutte le possibili applicazioni dei traccianti radioattivi nel settore delle scienze del suolo una delle più ricche di risultati é stata senza dubbio quella concernente i rapporti pianta-terreno. Tra i numerosi studi compiuti quello più comune riguarda la fertilità del suolo.

Fin da quando l'uomo iniziò a dedicarsi all'agricoltura gli fu ben noto che i terreni differiscono l'uno dall'altro nella loro fertilità. L'esame dei fattori che controllano il fenomeno della fertilità del suolo o l'attitudine di un suolo ad ottenere una buona produzione vegetale, é pertanto problema che é stato per molto tempo di grande interesse. E' solo in tempi recenti, comunque, che é risultato più evidente che la fertilità del terreno é dipendente dalle sue proprietà chimiche, fisiche e microbiologiche.

La scoperta fatta nel diciannovesimo secolo che le piante ricevono la maggior parte dei loro elementi dal suolo, rivelò che uno dei componenti della fertilità é il contenuto degli elementi nutritivi presenti nel suolo. Al riguardo, tuttavia, il tenore totale dei nutritivi nel suolo non é di primaria importanza mentre lo é la frazione solubile e facilmente disponibile per le colture.

La determinazione di tale quota può essere eseguita con varie tecniche. E' evidente come la conoscenza dello stato di fertilità del terreno acquisti oggi maggior importanza per un più razionale impiego dei concimi finalizzato sia alla conservazione delle risorse naturali che al contenimento dell'impatto ambientale.

Sulla base dei numerosi risultati acquisiti nel corso di una plu-

riennale sperimentazione, si é ormai consolidata l'opinione che la semplice reintegrazione degli elementi nutritivi asportati con il raccolto non abbia alcuna giustificazione. E' infatti praticamente impossibile, specialmente nel mosaico estremamente composito e vario della tipologia di suoli esistenti nel nostro Paese, fare delle generalizzazioni e stabilire una correlazione univoca tra asportazioni e fabbisogni nutritivi delle colture, in quanto molto diversificata risulta la dinamica dei vari elementi nutritivi nei suoli italiani anche per la variabilità delle condizioni climatiche.

La concentrazione di uno ione in soluzione é determinata dagli equilibri dinamici tra la fase solida di natura adsorbente e la soluzione, potendo lo ione passare in soluzione o essere successivamente adsorbito sulla superficie della fase solida attraverso la fase liquida.

Quando una pianta cresce in un mezzo essa assorbe lo ione dalla soluzione circolante, l'equilibrio viene alterato e la concentrazione dello ione in soluzione diminuisce. Se l'assorbimento della pianta continua senza che la soluzione del suolo venga rifornita allora la velocità di assorbimento dello ione sarà ridotta.

Comunque, almeno per un certo periodo, vi sarà la tendenza dello ione in soluzione a rifornirsi dalla fase solida, la concentrazione dello ione essendo controllata dall'assorbimento della pianta e dalla velocità di dissoluzione o desadsorbimento dello ione dalla fase solida.

Nel terreno la mobilizzazione degli ioni nutritivi dai solidi del suolo é in generale relativamente lenta; essa é il prodotto dell'alterazione dei minerali del suolo e dell'attività microbiologica (Fig. 1).

Il secondo processo é molto più rapido ed é principalmente connesso al desadsorbimento degli elementi nutritivi adsorbiti sui colloidi del suolo, quando la concentrazione nella soluzione circolante diminuisce in seguito all'assorbimento radicale o al dilavamento. Per il fosforo ad es., si é osservato che la sua velocità di desadsorbimento dal terreno é considerevolmente più grande di quella dell'assorbimento da parte delle piante.

Può anche verificarsi il processo inverso di adsorbimento in seguito all'aggiunta di elementi fertilizzanti.

E' relativamente facile elaborare modelli di movimento degli ioni dalla fase solida del terreno alla pianta sulla base di una serie di reazioni ciascuna delle quali dotata di una propria costante di velocità, ma risulta molto più complesso valutare i differenti processi così come si svolgono nelle condizioni di pieno campo. Senza la disponibilità di traccianti carrier-free il progresso nella conoscenza degli studi sul suolo non sarebbe stato possibile.

Un tracciante ideale dovrebbe comportarsi esattamente come il materiale da tracciare e non dovrebbe avere alcun effetto sul comportamento di quel materiale nel sistema in esame. A causa delle differenze dei pesi atomici, gli isotopi hanno velocità di reazione leggermente

diverse (Melander, 1960; Edwards; 1975). Queste differenze possono essere trascurate nella maggior parte delle applicazioni con traccianti, inoltre, la tecnica di rivelazione di numerosi radioisotopi é così sensibile che la quantità di materiale marcato aggiunto nelle prove é praticamente trascurabile in confronto alle quantità di quello stesso materiale già presente: in tal modo il sistema viene molto poco disturbato dall'aggiunta del tracciante.

Misure quantitative della cinetica di un processo o di distribuzioni all'equilibrio richiedono un esame dei concetti di attività specifica e di diluizione isotopica.

L'attività specifica di un isotopo in un composto é usualmente espressa come la quantità di radioattività per grammo dell'elemento stabile corrispondente.

La diluizione isotopica é la riduzione dell'attività specifica che avviene quando il radioisotopo scambia con altri isotopi omologhi nel sistema in esame. Se il tracciante si pone in equilibrio con un ben definito compartimento, la quantità di materiale nel compartimento stesso può essere misurata determinando l'attività specifica prima e dopo l'equilibrazione. In questo caso, data l'attività specifica iniziale del tracciante aggiunto $S_1 = X^*/X$ e l'attività specifica finale ad equilibrio raggiunto $S_2 = X^*/(X+A)$, dove X é la quantità dell'elemento aggiunto ed A é la quantità dell'elemento equilibrante nel compartimento.

Poiché la quantità dell'isotopo tracciante X* non cambia, risulta:

$$S_1 X = S_2 (X + A) \quad e \quad A = S_1 X / S_2 - X$$

Il sistema suolo-pianta consiste di numerosi compartimenti e un tracciante scambia con ciascuno di essi secondo velocità caratteristiche. Determinando la velocità di variazione dell'attività specifica nei differenti compartimenti, é possibile determinare i meccanismi e le cinetiche delle reazioni chimiche nel terreno e nell'assorbimento vegetale.

Nel settore della fertilità del suolo e di nutrizione delle piante numerose sono le tecniche radioisotopiche che possono essere applicate, tra cui ricordiamo l'autoradiografia, l'assorbimento di neutroni, l'analisi per attivazione.

La tecnica dell'autoradiografia é basata sull'annerimento della lastra fotografica ad opera della radiazione. L'autoradiografia dà una mappa della distribuzione della radioattività in un oggetto. Essa é stata usata per studiare la mobilità degli elementi nutritivi nel suolo (Bhat e Nye, 1973), l'accumulo o la diminuzione dei nutrienti alla superficie della radice (Walker e Barber, 1961) e la distribuzione dei vari elementi nella pianta (Tiller, 1979).

L'assorbimento e la diffusione dei neutroni nel terreno sono stati ampiamente utilizzati per misurare il contenuto di umidità del suolo (Nielsen et al., 1978). Variazioni nel contenuto di umidità del suolo possono fornire indicazioni sulla distribuzione e lo sviluppo dello apparato radicale, che a sua volta é strettamente correlato all'assor

bimento degli elementi nutritivi da parte delle piante. Mentre però numerosi ricercatori hanno usato questa tecnica per misurare il contenuto di acqua del suolo e ciò in relazione allo sviluppo vegetale ottimale, la stessa tecnica non é stata accettata per studiare lo sviluppo e la distribuzione dell'apparato radicale (Taylor e Klepper, 1973).

Una tecnica di radiografia neutronica é stata però messa a punto (Willatt et al., 1978) per studi di crescita radicale. Poiché nel terreno le radici rappresentano concentrazioni locali di umidità, esse attenuano i neutroni termici più del terreno circostante. I neutroni passando attraverso il terreno attivano un foglio metallico, producendo un'immagine radioattiva del sistema radicale che può essere trasferita su lastra fotografica.

L'analisi per attivazione é una tecnica adatta a determinare elementi presenti nelle piante e nei terreni in concentrazioni estremamente basse. Gli atomi stabili del campione sono convertiti ad atomi radioattivi mediante irradiazione con un flusso di neutroni.

Con l'uso di rivelatori a raggi gamma ad alto potere risolutivo é possibile determinare numerosi elementi simultaneamente. Applicazioni di analisi per attivazione, in agricoltura e nelle scienze del suolo, sono state recensite da Campbell e Bewick (1978). La tecnica offre un metodo pratico per determinare le concentrazioni nella soluzione circolante di elementi come Co, Cu, Mn, Mo, Se e Zn, che difficilmente é possibile eseguire con altre tecniche (Bowen, 1967).

Tuttavia il settore principale di ricerca dove le tecniche radioisotopiche hanno svolto un ruolo unico comprendono gli effetti della sostanza organica sulla disponibilità degli elementi nutritivi, la sintesi e la decomposizione della sostanza organica nei suoli, la chimica delle sostanze umiche ecc., solo per citare i temi più importanti.

Per studiare l'azione dei microrganismi sulla decomposizione e l'umificazione di tessuti vegetali e microbici, é essenziale la preparazione di materiale marcato con C-14. La procedura normale per produrre piante uniformemente marcate con C-14 é quella di farle crescere in un sistema chiuso la cui atmosfera viene arricchita con CO_2 - C-14. Il sistema contiene solitamente lo 0,1% in volume di anidride carbonica, ottenuta facendo reagire la quantità richiesta di carbonato sodico marcato con acido diluito in modo da ottenere un'attività di circa 100 uCi per g di carbonio stabile.

La possibilità che la radiazione possa danneggiare le piante impone un limite all'attività del C-14 che può essere utilizzata nel sistema, tale da ottenere materiale vegetale marcato con un'attività compresa tra 25 e 100 uCi per g di carbonio. E' però essenziale che il materiale risulti uniformemente marcato e quindi i vari componenti come lignina, cellulosa,come pure le frazioni solubili in acqua,abbiano la stessa attività specifica. Il C-14 viene normalmente incorporato nella sostanza organica del suolo e nelle sostanze umiche for

nendo ad esso materiale vegetale marcato come substrato per i micror ganismi presenti nel suolo.

E' pure possibile preparare sostanze umiche tritiate lasciando de comporre il materiale vegetale nel terreno al quale é stata aggiunta acqua marcata con tritio.

In alternativa può essere impiegato il metodo di Wilzbach (1957) esponendo il materiale al gas tritio in un'ampolla sigillata per un periodo di 1 o 2 settimane. Durante questo tempo si verifica lo scam bio isotopico e alcuni atomi di idrogeno delle sostanze umiche saran no sostituiti con tritio.

In altri studi effettuati allo scopo di valutare se il flusso del carbonio può esser utilizzato per caratterizzare il complesso suolo-pianta é stato mostrato che le radici delle piante sono di grande importanza come sorgente continua sia di humus che di energia micro bica, più di quanto generalmente si riteneva e che, al raccolto, la massa di radici presente non é in grado di fornire un quadro cono- scitivo completo del ruolo da esse svolto nel turnover e nella forma zione della sostanza organica.

Si é visto che una larga parte del C-14 organico presente nel ter reno risultava dall'autolisi del tessuto radicale e che i 4/5 della produzione totale di CO_2 - C-14 del terreno proveniva dalla decompo- sizione microbica dell'apparato radicale. Facendo crescere piante in atmosfera di CO_2 - C-14, sotto condizioni sterili e non sterili, si é constatato che circa il 15% del C-14 presente negli acidi umici era indotto dal sistema radicale senza la mediazione della microflo ra del suolo.

Altre esperienze hanno permesso di concludere che la presenza del- la sostanza organica é uno dei più importanti fattori responsabili nel mantenere elevate concentrazioni di manganese chelato nella soluzio ne circolante. Analogamente studi con Fe-59 e Mn-54 (Costa, 1968) han no mostrato che la sostanza organica promuove la mobilità di ferro e manganese in terreni calcarei.

Prodotti marcati con C-14 hanno reso più semplice la determinazio ne dei fattori concernenti il turnover della sostanza organica nel suolo. L'uso di materiale marcato C-14 é un modo essenziale per se guire la decomposizione di sostanza organica aggiunta. In vari stu di (Bingeman et al., 1956; Goswami e Datta, 1961; Sauerbeck, 1966; Sorensen, 1963), sostanza organica marcata era incorporata nel suolo e la CO_2 - C-14 svolta in seguito alla decomposizione veniva misurata. Confrontando l'attività specifica della CO_2 - C-14 con quella della sostanza organica aggiunta é possibile calcolare quale parte del carbonio mineralizzato é di natura esogena e quale deriva dalla decomposizione della sostanza organica nativa.

Una stima generale dell'attività microbica può essere effettuata in modo relativamente semplice misurando la CO_2 svolta e attraverso di essa valutare la produttività potenziale di un dato suolo (Mayau don, 1971).

Jenkinson (1966) ha dimostrato che la fumigazione con cloroformio

di terreni in cui viene lasciato decomporre materiale vegetale marcato C-14, determina un incremento sensibile nello sviluppo della CO_2 - C-14 susseguente alla incubazione. Questo metodo può essere preso a misura della biomassa (Jenkinson e Powlson, 1976) ed é stato adottato da numerosi ricercatori (Ladd et al., 1977; Sorensen, 1977), misurando la formazione netta di CO_2 o dell'azoto minerale derivante dalla decomposizione delle cellule dopo la fumigazione. La CO_2 - C-14 o l'N-15 non sono essenziali al principio del metodo, ma il loro impiego permette di avere risultati più specifici. Il metodo prevede l'esposizione dei terreni da saggiare al cloroformio esente da alcool per 24 ore, seguita dalla rimozione sottovuoto del cloroformio. I terreni sono poi inoculati con una sospensione acquosa di terreno fresco e incubati per 10 giorni, raccogliendo la CO_2 che si sviluppa. Il carbonio della biomassa può essere calcolato assumendo che il 50% del carbonio della biomassa distrutta é mineralizzata a CO_2 nei 10 giorni di incubazione successivi alla fumigazione. Quando si determina l'azoto minerale, la biomassa può essere calcolata assumendo per essa un rapporto C/N di 5/1 (Ladd et al., 1977).

Vasta é ormai la bibliografia concernente l'uso di radioisotopi negli studi di decomposizione della sostanza organica (Datta e Goswami, 1962; Jenkinson, 1965; Sauerbeck, 1968; Schields, 1973; Smith, 1966). L'uso di lignine, alcooli coniferilici e polimeri tipo acidi umici marcati C-14 ha fornito interessanti informazioni circa la loro resistenza nel suolo (Martin e Haider, 1977). In un mese il 66% di composti metossilati C-14 aveva svolto CO_2 - C-14 contro meno del 50% del C-14 dell'anello aromatico e dei carboni della catena laterale in posizione 2. E' stato anche dimostrato che il carbonio di acidi umici modello era molto resistente, essendosi sviluppata dopo 4 settimane di incubazione, sottoforma di CO_2- C -14, solamente una quantita' massima corrispondente al 14% del totale.

Numerosi esperimenti hanno dimostrato che quando residui vegetali sono aggiunti al suolo, la mineralizzazione dei composti facilmente decomponibili é completata in un tempo relativamente breve (Clark e Paul, 1970; Jenkinson, 1971; Sauerbeck, 1966 e 1968; Schields, 1973); dopo questa breve e intensa attività microbica la velocità di decomposizione rallenta considerevolmente e frazioni vegetali come quelle costituenti le pareti cellulari diventano relativamente stabili.

Il decadimento di prodotti naturali segue un cammino molto più complesso di quello che si osserva per i substrati semplici.

Infatti il carbonio di un substrato complesso resta in forma inalterata per un più lungo periodo di tempo (fig. 2).

In generale, studi di decomposizione su residui vegetali marcati C-14 hanno mostrato che tali residui sono rapidamente aggrediti al primo mese ma dopo pochi mesi la velocità di decomposizione si abbassa ad un valore molto piccolo, tanto che una quantità considerevole di carbonio della pianta rimane entro il terreno. Il rallentamento del processo di decomposizione non é esclusivamente dovuto alle differenze tra le velocità a cui i vari componenti della pianta si

decompongono - la lignina é attaccata molto lentamente - ma può, in parte, dipendere dal fatto che il carbonio dei costituenti più facilmente decomponibili (zuccheri, callulosa, ecc.) é risintetizzato in materiale microbico più resistente alla degradazione del materiale vegetale originario.

Questi risultati sono stati confermati anche in prove di incubazione di laboratorio, effettuate a temperatura e umidità rigorosamente costanti.

La quantità di carbonio che rimane nel suolo varia dal 20 al 74% di quella applicata, in dipendenza delle condizioni del suolo, del clima e delle parti vegetali interessate.

In esperimenti condotti da Jenkinson (1965) il 33% circa del carbonio applicato rimaneva nel terreno dopo il 1° anno, e un terzo di questo era incorporato nel tessuto microbico. Dopo 4 anni, circa il 20% del carbonio marcato residua nel terreno e soltanto un quinto di questo era presente nelle cellule microbiche.

I residui originali si decompongono rapidamente con un tempo di dimezzamento stimato di 14-30 giorni; dopo il primo anno, il carbonio residuo ha un tempo di dimezzamento di circa 4 anni.

In tali condizioni il tempo di residenza medio della sostanza organica é normalmente maggiore di 25 anni.

Studi relativi al bilancio del carbonio eseguiti in prove di campo di lungo periodo e in prove di turnover isotopico hanno indicato perdite annuali di sostanza organica tra l'1 e il 5%, corrispondenti approssimativamente a costituenti stabili aventi mezze-vite comprese tra 5 e 25 anni (Bartholomew e Kirkham, 1960; Clark e Paul 1970; Jenkinson, 1966 e 1969; Kinonowa, 1961; Scheffer e Ubrich 1960; Shields, 1973).

La velocità di turnover o il tempo di residenza medio (TRM) della frazione stabile della sostanza organica del suolo é stato determinato, utilizzando composti C-14 naturalmente presenti, attraverso la datazione del radiocarbonio. Tale metodo può essere combinato con tecniche traccianti per ottenere un quadro più completo del tempo di residenza medio di differenti costituenti organici del suolo (Paul e McGill, 1977).

L'obiettivo degli studi su suoli mediante la datazione del radiocarbonio naturale é quello di valutare il turnover della sostanza organica a lungo termine e, indirettamente, di procurarsi uno strumento per valutare la capacità dei terreni a rifornire le colture dell'azoto in essi naturalmente presente.

La datazione con radiocarbonio ha portato ulteriore evidenza che alcune frazioni persistenti della sostanza organica restano nel suolo per un considerevole periodo di tempo, dell'ordine di centinaia di anni. Benché la datazione con radiocarbonio sia stata applicata per oltre vent'anni agli studi di terreni sepolti in connessione a ricerche sulla preistoria (Ruhe, Rubin e Scholtes, 1975), l'applicazione a terreni contemporanei di superficie é relativemente recente, (Campbell, Paul, Rennie e McKellum, 1967; Jenkinson, 1969; Martell e Paul,

1974; Paul, 1969; Scharpenseel, Ronzani e Pietig, 1968; Yaalo, 1971) rendendo ora fattibile valutare il turnover o il tempo di residenza medio di queste frazioni a vita molto lunga.

Le stime di datazione con radiocarbonio dipendono essenzialmente dal fatto che i neutroni ad alta energia presenti nei raggi cosmici reagiscono con l'azoto per dare C-14. L'ossidazione del carbonio produce CO_2 - C-14 che si pone in equilibrio con gli isotopi stabili C-12 e C-13 e viene infine incorporata nelle piante attraverso la fotosintesi e quindi nella sostanza organica del suolo.

Due assunzioni sono richieste (Libby, 1965 e 1967): quando il materiale vegetale o animale muore gli atomi di carbonio delle spoglie non scambiano più con il carbonio presente nella CO_2 dell'atmosfera; l'attività specifica del C-14 nella biosfera é rimasta ad un valore costante fino al tempo delle prime esplosioni nucleari. Comunque il C-14 decade con un tempo di dimezzamento di circa 5700 anni ed é stato stabilito che in condizioni stazionarie l'attività specifica é di circa 0,25 Bq per g di carbonio.

A causa dei livelli molto bassi di C-14 naturalmente presente, speciali tecniche preparative sono richieste per la determinazione dell'età in modo da evitare qualunque tipo di contaminazione. Mentre sono state riportate variazioni considerevoli nell'età media della sostanza organica del suolo da 250 a oltre 3000 anni, i dati attestano l'elevata resistenza dell'humus all'attacco microbico.

Tempi di residenza medi di 1000-1500 anni sono tipici di frazioni umiche non idrolizzabili mentre per frazioni umiche idrolizzabili in HCl 6N, contenenti amminoacidi, carboidrati, ecc., i valori sono compresi tra 10 e 25 anni (Sauerbeck, 1968). In generale si é osservato che l'humus dei Mollisuoli é più stabile di quello degli Ultisuoli e che entro il pool organico del suolo, alcuni componenti sono più stabili di altri. La stabilità delle frazioni umiche segue l'ordine decrescente: acidi umici > umina > acidi fulvici.

Misure della disponibilità dei nutritivi nel suolo

Per la determinazione dello stato di fertilità dei suoli la tecnica di diluizione isotopica é diventata lo standard di riferimento rispetto al quale vengono confrontate le procedure di estrazione chimica (Vose, 1980).

In relazione al sistema usato per l'equilibrazione del tracciante isotopico, queste misure di disponibilità sono state designate come E, L ed A (Fried, 1964) ed i corrispondenti valori possono essere

calcolati utilizzando l'equazione E, L o A = $S_1 X/S_2 - X$.

Quando si considera una sospensione di terreno, la presenza di una fase liquida e di una fase solida fa sì che siano interessati processi di diluizione e di scambio. L'aggiunta di un isotopo radioattivo alla soluzione risulterà nella seguente reazione:

$$E_{scamb.} + E^*_{soluz.} \rightleftarrows E^*_{scamb.} + E_{soluz.}$$

dove E é uno ione nutritivo ed E* il suo isotopo radioattivo.

All'equilibrio il rapporto tra gli atomi marcati e quelli non marcati sarà costante in tutti i compartimenti dell'intero sistema e perciò: $E^*_{scamb.}/E_{scamb.} = E^*_{soluz.}/E_{soluz.}$

Questo principio fu sviluppato da McAuliffe (1948) per la determinazione del fosforo disponibile nei terreni. Usando l'equazione precedente é possibile determinare il fosforo scambiabile noti che siano gli altri termini.

La stima degli elementi nutritivi scambiabili mediante questa procedura di diluizione isotopica non é limitata al solo fosfato. Essa é ugualmente applicabile ad altri nutritivi e tentativi sono stati fatti per determinare il potassio disponibile con l'uso di K-42 sebbene la breve vita dell'isotopo ne limiti il metodo. In conseguenza di ciò l'isotopo Rb-86 ha riscosso di recente un certo interesse come vicariante del potassio per studi sui fertilizzanti (Grim, 1953; Epstein, 1972).

Il valore L (Larsen, 1952) viene determinato facendo crescere una pianta, che generalmente é loietto, in un terreno che é stato precedentemente equilibrato con una soluzione di fosfato carrier-free. Nella equazione generale S_1 e X sono gli stessi del valore E ma S_2 é l'attività specifica del tracciante nella pianta.

Il valore A misura la quantità di nutriente disponibile in termini di una sorgente di riferimento, di solito un materiale fertilizzante, che é assunta come standard. Fried e Dean (1952) elaborarono il concetto che se una pianta é posta di fronte a due sorgenti di un elemento nutritivo, una delle quali é il terreno e l'altra una quantità nota di un fertilizzante standard marcato, la quantità di nutriente disponibile può essere determinata a condizione che possa essere determinata la quota del nutriente nella pianta derivata dal fertilizzante. Concettualmente la sorgente di riferimento non dovrebbe interagire con il terreno e dovrebbe mantenere lo stesso valore di disponibilità per lunghi periodi di tempo e in differenti tipi di suolo. Probabilmente questa condizione ideale non é mai rispettata, tuttavia l'uso di fertilizzanti granulari e la loro distribuzione in banda riduce il grado di interazione. E' stato così possibile realizzare numerosi e utili confronti della disponibilità nutritiva di terreni e di altre sorgenti.

Il valore A é spesso usato per misurare la quantità di un nutriente disponibile in terreni differenti o in diversi prodotti fertilizzanti. Esso può anche essere impiegato per misurare indirettamente la disponibilità di nutritivi da sorgenti che non possono essere con

convenientemente marcate come ad es. la roccia fosfatica.

Benché il valore di A sia stato concepito come un mezzo per misurare la disponibilità di un nutriente nel suolo, esso può anche essere impiegato per determinare l'efficacia relativa di diversi fertilizzanti quando applicati allo stesso terreno, considerata costante la disponibilità nutritiva del suolo. In effetti, ogni variazione nel rapporto: nutriente del suolo/nutriente del fertilizzante, risulta in un valore variato di A, e ad un più basso assorbimento dal fertilizzante fa riscontro un più alto valore di A e viceversa.

Per esperimenti di campo é più conveniente modificare l'equazione generale nel seguente modo:

$$A = \frac{\text{\% di nutriente nella pianta derivata dal terreno}}{\text{\% di nutriente nella pianta derivata dal fertilizzante}} \times \text{dose di applicazione del fertilizzante}$$

Al fine di evitare problemi nel confrontare valori di A calcolati sulla base di fertilizzanti differenti é necessario prendere un solo fertilizzante come standard. Ciò consente di calcolare una dose effettiva di applicazione (DEA) nel modo seguente (Caldwell e Blanchar, 1865):

$$DEA = \frac{\text{\% di nutriente derivata dal fertilizzante}}{\text{\% di nutriente derivata dal suolo}} \times \text{Valore di A ottenuto dal fertilizzante standard}$$

Quando un numero di fertilizzanti é posto a confronto essi possono venire classificati in ordine all'efficienza relativa, prendendo quello con la più alta disponibilità uguale al 100%.

Numerosi esperimenti (Terman e Khasawneh, 1968; Tiller e Wasserman, 1972) hanno mostrato che i valori A possono aumentare con l'aumentare della dose di fertilizzante marcato. Gli aumenti occasionalmente osservati non hanno trovato una soddisfacente spiegazione; probabilmente, la fertilizzazione talvolta aumenta l'attività radicale e pertanto aumenta l'assorbimento degli elementi nutritivi dal suolo più che quello dal fertilizzante marcato.

In alternativa alla tecnica di marcare il fertilizzante alcuni ricercatori (Gunary, 1968; Fardeau e Jaffa, 1971; Tiller, Honeysett e de Vries, 1972) ne hanno sviluppata una che ricorre alla marcatura del terreno: ciò ha il vantaggio di ridurre i rischi di ordine radiologico connessi alla preparazione di fertilizzanti fosfatici marcati con P-32 emittente radiazioni β ad alta energia. Tale tecnica é stata da noi recentemente utilizzata per valutare l'azione di alcune matrici organiche nel promuovere l'utilizzazione del fosforo aggiunto con i concimi organo-minerali (Silva, 1987).

Tra le ormai innumerevoli applicazioni dei radioisotopi in campo agrario é il caso di ricordare che il fertilizzante marcato può essere utilizzato anche per stimare l'effetto residuo di trattamenti fertilizzanti precedenti. Più grande é l'effetto residuo e maggiore sarà la quantità di nutriente residuo disponibile per la coltura, di conseguenza minore sarà l'assorbimento dal fertilizzante marcato applicato.

In conclusione questa rassegna, seppure largamente incompleta delle possibilità applicative offerte dall'impiego dei radioisotopi nella chimica del suolo, ha voluto illustrare alcuni aspetti salienti della potenza di questo mezzo di indagine di cui la scienza dispone, per penetrare sempre più e meglio i meravigliosi problemi della natura.

Curriculum del prof. Sandro Silva

Ordinario di Chimica Agraria dal 1979 l'attività scientifica del prof. Silva riguarda principalmente i seguenti settori: chimica dei colloidi del suolo; - fertilizzanti di nuova formulazione e nuove tecnologie per razionalizzare l'utilizzo degli elementi fertilizzanti; - interazione tra macro- e microelementi in rapporto alla nutrizione minerale dei vegetali superiori; - possibile utilizzo agricolo di fanghi industriali; - radioecologia agraria.

Il prof. Silva é responsabile della Sezione di Chimica del Suolo dell'Istituto di Chimica e Direttore del Laboratorio centralizzato Radioisotopi nella Facoltà di Agraria di Piacenza.

BIBLIOGRAFIA

- Bartholomew W.V., Kirkham D., Trans. 7th Int. Congr. Soil Sci. Madison, Wisc. 3, 471 (1960).
- Bhat, K.K.S., Nye P.H., Plant Soil 38, 161-174 (1973).
- Bingeman C.W. et al., USAEC Rept. TID 7512, 381 (1956)
- Bowen H.J.N., in "Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences" 287-299, IAEA, Vienna (1967).
- Campbell C.A., Paul E.A., Rennie D.A., McKallum K.J., Soil Sci. 104, 81 (1967).
- Campbell J.A., Bewick M.W.M., Neutron Activation Analysis, Special Publication No 7, Commowealth Bureau of Soils, Commowealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England (1978).
- Clark F.E., Paul E.A., Advances in Agronomy, 27, 375 (1970).
- Costa F. et al. in "Isotopes and Radiation in Soil Organic Matter Studies", 433, IAEA, Vienna (1968).
- Datta N.P., Goswami N.N. in: Proc. Symp. Bombay 1962, 223, IAEA, Vienna (1962).
- Edwards A.P. in "Isotope ratios as pollutant source and behaviour indicators 455-468 IAEA, Vienna (1975).
- Epstein E., Mineral Nutrition of Plants: Principles and Prospectives, John Wiley and Sons, New York (1972).
- Fardeau J.C., Jappe J., Proc. Symp. Vienna 1971, IAEA, Vienna (1972).
- Fried M., Dean L.A., Soil Sci., 73, 263-271 (1952).
- Fried M., Trans 8th Int. Congr. Soil Sci. Bucjarest, 4, 29-39 (1964).
- Goswami N.N., Datta N.P., J. Ind. Soc. Sci., 9, 269 (1961).
- Grim R.E., Caly Mineralogy, McGraw-Hill, New York (1953).
- Gunary D., J. agric. Sci. Camb. 70, 33 (1968).
- Jenkinson D.S., J. Soil Sci. 16, 104 (1965).
- Jenkinson D.S., FAO/IAEA Technical Meeting 1963, 187, Bergman Press, Oxford (1966).
- Jenkinson D.S., Rep. Rothamsted Exp. Sta. 73 (1969).
- Jenkinson D.S., Soil Sci. 111, 64 (1971).
- Jenkinson D.S., Powlson D.S., Soil Biol. Biochem. 8, 209 (1976).
- Kononowa M.M., Soil Organic Matter: Method of Tizurin I.V. Pergamon Press, Oxford (1961).
- Ladd J.N., Amato M., Parsons J.W., in " Soil Organic Matter Studies" Proc. Symp. Braunschweig 1976. I 301-310, IAEA, Vienna (1977).
- Larsen S., Plant and Soil, 4, 1-10 (1952).
- Libby W.F., Radiocarbon Dating. Univ. Chicago Press. Chicago (1965).
- Libby W.F. in: "Radioactive Dating and Methods of Low-Level Counting, 3, IAEA, Vienna (1967).
- Martell Y.A., Paul E.A., Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 38, 501 (1974).
- Martin J.O., Haider K., in "Soil Organic Matter Studies", Proc. Symp. Braunschweig 1976 II 23-32, IAEA, Vienna (1977).
- Mayaudon J., Soil Biochemistry 2, 202 Marcel Dekker, New York (1971).
- McAuliffe C.D., Hall N.S., Dean L.A., Hendtricks S.B., Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 12, 119-123 (1948).

- Melander L.,"Isotopic effects on reaction rates" Ronald Press, New York (1960).
- Nielsen D.R., Walker H.O., Corey J.C., Trans. 11th Int. Congr. Soil Sci Edmonton 3, 32-44 (1978).
- Paul E.A., Pedology and Quaternary Research, Proc. Symp. Edmonton, 63 (1969).
- Paul E.A., McGill W.B. in "Soil Organic Matter Studies", Proc. Symp. Braunschweig 1976 I 149-157, IAEA, Vienna (1977).
- Ruhe, R.V., Rubin M., Scholtes W.H., Amer. J. Sci., 255, 671 (1957).
- Sauerbeck D., FAO/IAEA Rechnical Meeting 1963, 209, Pergamon, Oxford (1966).
- Sauerbeck D., in: Isotopes and Radiation in Soil Organic Matter Studies, 319, IAEA, Vienna (1968).
- Scharpenseel H.N., Ronzani C., Pietig F., in "Isotopes and Radiation in Soil Organic Matter Studies, 67, IAEA, Vienna (1968).
- Scheffer F., Ubrich B., Lerlisbuch der Agrikultur - Chemie und Boden kunde. III. Humus und Humus-düngung. I. Morphologie, Biologie, Che mie und Dynamik des Humus. F. Enke, Stuttgart (1960).
- Schields J.A., Can. J. Soil Sci., 53, 297 (1973).
- Silva S., Gatti M., Fontana P., in "Attualità del ruolo delle sostan ze umiche per la produzione agricola nel rispetto dell'ambiente", Parma 10 dicembre 1987 (1988).
- Smith J.H., I. FAO/IAEA Technical Meeting, 1963, 223, Pergamon, Oxford (1966).
- Sorensen L.H., Soil Sci., 95, 45, (1963).
- Sorensen L.H., in "Soil Organic Matter Studies" Proc. Symp. Braun-schweig 1976 II 3-14, IAEA, Vienna (1977).
- Taylor H.M., Klepper B., Agron. J. 65, 965-968 (1973).
- Terman G.L., Khasawnch F.E., Soil Sci., 105, 346-354 (1968).
- Tiller K.G., Honeysett J.L., de Vires M.C.P., Austr. J. Soil Res. 10, 151 (1972).
- Tiller K.G., Wasserman P., in "Isotopes and Radiation in Soil-Plant Relationship Including forestry", 517-529, IAEA, Vienna (1972).
- Tiller K.G., in: "Isotopes and radiation in research on soil-plant realtionship, 359-372, IAEA, Vienna (1979).
- Vose P.B., "Introduction to Nuclear Techniques in Agronomy and Plant Biology", Pergamon Press, Oxford (1980).
- Walker J.M., Barber S.A., Science 133, 881-882 (1961).
- Willatt S.T., Struss R.G., Taylor H.M., Agron. J., 70, 581-586 (1978).
- Wilzbach K.E., J. Amer. Chem. Soc. 79, 1013 (1957).
- Yaalon D.H. Paleopedology, Origin, Nature and Dating of Paleosols. Israel Univ. Press (1971).

Fig.1- Movimenti di uno ione nutriente I, dalla fase solida del suolo alla pianta

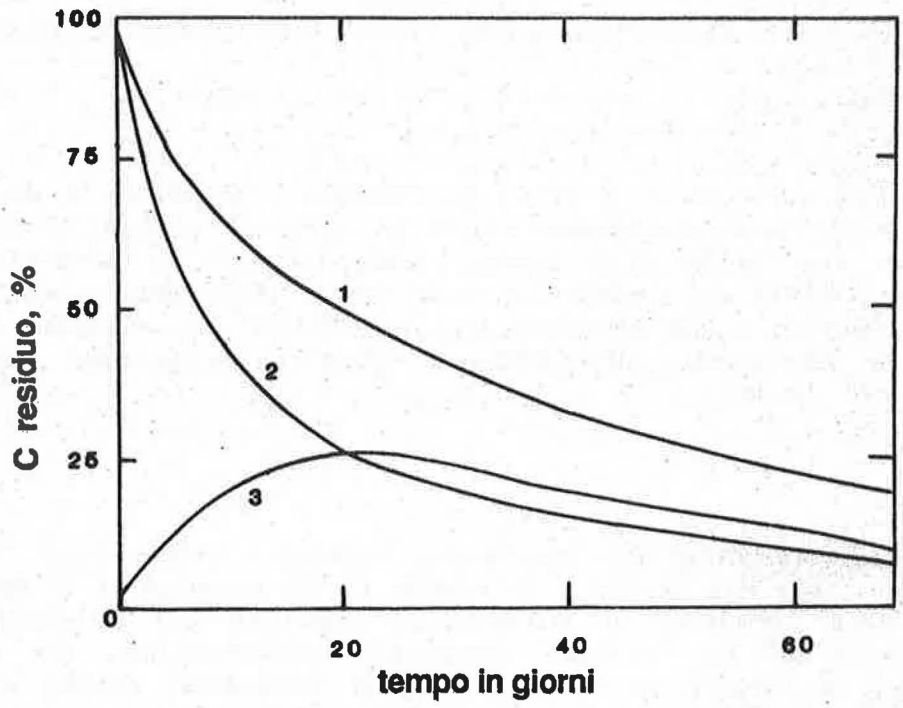


Fig.2 - Decomposizione di un substrato complesso di origine vegetale nel tempo:

1 - C residuo totale;
2 - C della pianta di lenta decomposizione;
3 - C della biomassa.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

DETERMINAZIONE E PROBLEMATICHE DELL'USO DI ^{15}N

S.Cervelli
Istituto per la Chimica del Terreno, C.N.R., Via Corridoni 78, 56100 Pisa

RIASSUNTO. Sono prese in esame le metodiche analitiche e la strumentazione utilizzata per la determinazione degli arricchimenti percentuali di ^{15}N, in relazione allo studio del sistema pianta-terreno. In particolare, viene sottolineata l'utilità dei modelli matematici per lo studio delle trasformazioni dei composti azotati, e dell'informatica per lo sviluppo delle tecniche strumentali, anche in riferimento all'innovazione tecnologica apportata dall'industria italiana del settore.

SUMMARY. Analytical and instrumental techniques employed in ^{15}N studies have been taken into account, in relation to the investigation of the soil-plant system. The usefulness of mathematical modelling and informatics in the investigation of the nitrogen compounds transformations are underlined, expecially in ralation to the technological innovations carried out by the high-vacuum Italian industry .

1. INTRODUZIONE

La possibilità di usare l'isotopo stabile ^{15}N come tracciante si basa, essenzialmente, sul fatto che esso si trova in concentrazione pressoché costante sulla Terra. Il rapporto nel quale esso sta con l'isotopo ^{14}N è 1/272, che corrisponde ad una concentrazione pari a circa lo 0,366 % dell'azoto totale.

Esso viene usato da molti anni nella sperimentazione agraria, ed i dati ottenuti hanno spesso portato risultati significativi per l'individuazione delle trasformazioni delle sostanze azotate. Esempi d'impiego sono nella fissazione simbiotica e non simbiotica dell'azoto elementare, nella denitrificazione, nella mineralizzazione dell'azoto organico e nella immobilizzazione di quello inorganico, nella determinazione dell'azoto presente nella biomassa, solo per citarne alcuni. Esso è stato anche usato per la determinazione della resa dei fertilizzanti azotati e lo studio della distribuzione degli stessi nei vari comparti dell'ambiente. Recentemente è stato anche utilizzato per seguire le trasformazioni dei pesticidi contenenti azoto.

L'aggiunta al terreno di una sostanza azotata avente un rapporto tra ^{15}N e ^{14}N diverso da quello naturale avrà come conseguenza che la quantità di ^{15}N aumenterà in ogni parte del sistema, e la quantità di questo arricchimento dipenderà da quanto di esso sarà stato incorporato nei vari comparti dell'ambiente. La variazione del rapporto isotopico dell'azoto nei campioni prelevati dal sistema permetterà allora lo studio delle trasformazioni del materiale aggiunto, ed il valore dello scostamento dal livello di base permetterà il calcolo della quantità di tracciante che ha interagito col sistema e che ne è divenuto una parte.

Un altro aspetto che indica l'utilità dell'uso di ^{15}N negli studi delle trasformazioni e del trasporto dei composti azotati è quello relativo alla possibilità di determinare piccole variazioni percentuali di azoto, anche in campioni che ne possiedono in grande quantità. Esempi di questa possibilità sono riportati da Hauck (1) e da Bremner (2).

Nel primo esempio (1) si assume di voler determinare la quantità di azoto fissato da popolazioni microbiche non simbiotiche in un terreno avente una dotazione di azoto di 1000 Kg ha^{-1}, e di porlo per questo ad incubare in un'atmosfera contenente ^{15}N. Per prima cosa si può osservare che la presenza nel terreno di una quantità di ^{15}N in una percentuale superiore a quella naturale indicherà che si è avuta fissazione. Se si suppone poi che la quantità fissata corrisponda allo 0,02 % di quello presente nel terreno, si deduce che in questo, da una dotazione di 1000 Kg ha^{-1}, si è passati ad una dotazione di 1000,2 Kg ha^{-1}. Questi 0,2 Kg ha^{-1} di differenza, tra l'inizio e la fine dell'esperimento, non sono rilevabili con gli usuali metodi di analisi poiché, assumendo errori analitici dell'ordine del 3 %, la quantita minima rilevabile, in più o in meno, sarà in questo caso di 30 Kg ha^{-1}. L'uso di ^{15}N permette invece la determinazione di questa quantità. Infatti, assumendo che l'azoto gassoso usato nell'esperimento contenga il 60 % di ^{15}N, l'abbondanza dello stesso nell'azoto del terreno passerà dallo 0,366 % allo 0,378 %, e la differenza dello 0,012% è facilmente rilevabile mediante spettrometria di massa.

Nel secondo esempio (2) si suppone di aggiungere 100 Kg ha^{-1} di azoto ad un terreno che ne contenga già 2000 Kg ha^{-1}. Si suppone inoltre che, alla fine dell'esperimento, la coltura fatta crescere su quel terreno abbia assorbito 50 Kg ha^{-1} di azoto. Se si esclude che sia avvenuta qualsiasi perdita, nel terreno si ritroveranno 2050 Kg ha^{-1} di azoto, 50 Kg ha^{-1} in più di quanto presente prima dell'aggiunta. Assumendo ancora una volta errori analitici del 3 %, si vede che questa quantità è inferiore alla minima differenza determinabile che è di 60 Kg ha^{-1}. Se però l'esperimento fosse stato eseguito usando fertilizzante contenente ^{15}N anche nella percentuale di solo l' 1 %, l'analisi allo spetttrometro di massa avrebbe rilevato un'abbonbanza dello 0,381 %, contro lo 0,366 %, con una differenza dello 0,015 %, superiore pertanto a quella minima apprezzabile, che è dell'ordine dello 0,005 % per molti spettrometri di massa.

2. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

La preparazione del campione da sottoporre all'analisi viene compiuta o mediante il metodo di Rittemberg, o quello di Dumas. Comunque, prima che essi possano essere impiegati, è necessario che l'azoto del campione sia stato trasformato in ammoniaca la quale successivamente, con uno dei due metodi menzionati, verrà ossidata ad N_2. L'azoto elementare è il composto azotato preferito per essere analizzato mediante spettrometria di massa o di emissione,

sia perché non produce effetti corrosivi per la sua inerzia chimica, sia per l'assenza di qualsiasi altro elemento nella molecola. Inoltre, è più facile convertire un numero elevato di prodotti azotati in N_2 che in altre molecole contenenti azoto combinato, come NO, NO_2, o NH_3.

La formazione dell'ammoniaca avviene o mediante riduzione con lega di Devarda, se i composti contenenti azoto sono presenti a più elevato numero di ossidazione, come NO_2^- o NO_3^-, o mediante digestione del composto azotato con H_2SO_4, in presenza di K_2SO_4 per mantenere elevata la temperatura di digestione, e di un catalizzatore a base di Se e $CuSO_4$. Queta digestione comunque può non raggiungere il risultato voluto, come è il caso per composti come l'acido nicotinico e derivati. Ed è per questo che sono state introdotte delle modificazioni per recuperare prodotti come NO_2^- e NO_3^-. Una di queste prevede l'ossidazione con $KMnO_4$ e successiva riduzione dei composti ossidati con Fe elementare. Inoltre alcuni suoli fissano lo ione ammonio nei cristalli delle argille, e pertanto devono essere trattati preventivamente con HF. La ammoniaca così formata viene successivamente distillata con MgO o NaOH in corrente di vapore e quindi raccolta in una soluzione di H_3BO_3, dalla quale sarà poi possibile ossidarla a N_2.

2.1. METODO DI RITTEMBERG. Mediante queso metodo l'ammoniaca viene ossidata tramite reazione con KBrO in soluzione alcalina ed in totale assenza di aria. L'apparato sperimentale con il qule questa ossidazione viene compiuta può essere di due tipi. Nel primo si utilizza una provetta a due code. In un comparto viene posto il campione di NH_4^+, nell'altro la soluzione alcalina di KBrO. Dopo aver fatto il vuoto, mediante rotazione della stessa nel piano verticale la soluzione contenente lo ione ammonio viene fatta entrare lentamente in contatto con l'ipobromito per formare N_2. Nel secondo si usa un apparato messo a punto da Ross e Martin (3). In questo l'ipobromito, loro suggeriscono di usare LiBrO tenuto sotto atmosfera di He, viene fatto percolare lentamente in una provetta, nella quale è stato fatto il vuoto, contenente la soluzione di NH_4^+ e raffreddata con azoto liquido. L'azoto liberato in questo modo o viene introdotto direttamente nello spettrometro di massa, o viene conservato per la successiva analisi.

2.2. METODO DI DUMAS. Questo metodo è stato largamente impiegato perché permette di evitare la conversione dell'azoto del campione ad ammoniaca. Comunque, non è sempre possibile ottenere una conversione totale e pertanto viene usualmente impiegato dopo la formazione di NH_4^+, ed essenzialmente per le analisi mediante spettrometria di emissione. Il metodo che viene utilizzato in questa applicazione consiste nell'ossidazione operata a circa 450°C del campione in presenza di CuO e CaO in un capillare di vetro, dopo che in questo è stato fatto il vuoto. Il capillare viene successivamente saldato alla fiamma.

3. STRUMENTI DI ANALISI

La determinazione della percentuale di ^{15}N presente nei campioni viene eseguita mediante due tipi di strumenti. Essi si basano su fenomeni e proprietà collegate alla differenza delle masse dei due isotopi stabili ^{14}N e ^{15}N, e sono gli spettrometi di emissione e gli spettrometri di massa.

La spettrometria di emissione è una tecnica di analisi ottica che sfrutta la differenza nello spettro di emissione delle tre specie $^{15}N\ ^{15}N$, $^{14}N\ ^{15}N$ e $^{14}N\ ^{14}N$ quando l'azoto elementare, posto a basse pressioni in un capillare di vetro, viene eccitato mediante radiofrequenze. La grandezza del campione di azoto

gassoso necessario all'analisi si aggira attorno a 1-10 µg, anche se è possibile scendere a 0,2 µg miscelando l'azoto con gas nobili, in modo tale da innalzare la pressione totale all'interno del capillare di misura. Il campione può essere ripetutamente utilizzato poiché la misura è di tipo conservativo (Figura 1).

I componenti essenziali di questo strumento sono: un generatore di radio frequenze pilotato da un alimentatore e avente un'antenna di forma tale da permettere l'inserimento del capillare da analizzare; un monocromatore capace di separare le tre bande di emissione caratteristiche delle tre specie molecolari, che cadono a 297,7, 298,3 e 298,8 mµ; un apparato rivelatore e un registratore. L'altezza delle bande di emissione darà il contributo percentuale delle tre specie alla formazione dell'azoto elementare totale da cui, facendo uso di una curva di taratura ottenuta analizzado i valori di emissione di miscele ad abbondanza percentuale nota di ^{15}N, si possono calcolare la concentrazione e l'abbondanza percentuale di ^{15}N del campione.

Se il tubo nel quale avviene la scarica è stato ben preparato, esso usualmente ha la forma di un capillare saldato alle due estremità, il plasma generato dall'eccitazione ha una colorazione rosata. Nel caso che la pressione all'interno del capillare sia troppo elevata, generalmente sopra i 6 torr, la colorazione assunta dal tubo si avvicina al bianco, mentre nel caso che sia troppo bassa si avvicina al ciclamino.

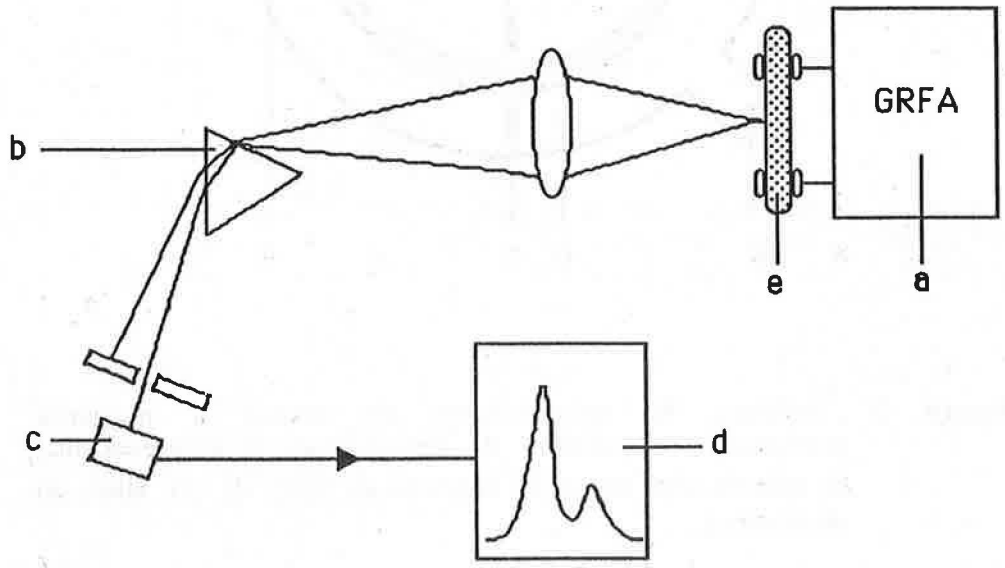


Figura 1. Rappresentazione schematica di uno spettrometro di emissione. a) generatore di radio frequenze con alimentatore, b) monocromatore, c) rivelatore, d) registratore, e) tubo di scarica.

La spettrometria di massa fa uso dell'accelerazione delle stesse tre specie molecolari $^{15}N\ ^{15}N$, $^{14}N\ ^{15}N$ e $^{14}N\ ^{14}N$ in un campo elettrico, dopo che queste

sono state caricate positivamente mediante bombardamento elettronico. In seguito, le tre masse cariche vengono focalizzate e selezionate, o mediante interazione con un campo magnetico costante o mediante filtrazione operata da un quadrupolo. Successivamente esse vengono rivelate a valle del percorso compiuto.

Esistono vari tipi di spettrometri di massa. Essi si possono differenziare l'uno dall'altro sia per il tipo di collettore, sia per il numero delle masse che ivi vengono focalizzate, sia per il sistema d'introduzione del campione, sia per la tecnica di focalizzazione. Gli strumenti maggiormente utilizzati nel campo della rivelazione degli isotopi stabili sono comunque, nella maggior parte dei casi, forniti di un magnete permanente (Figura 2).

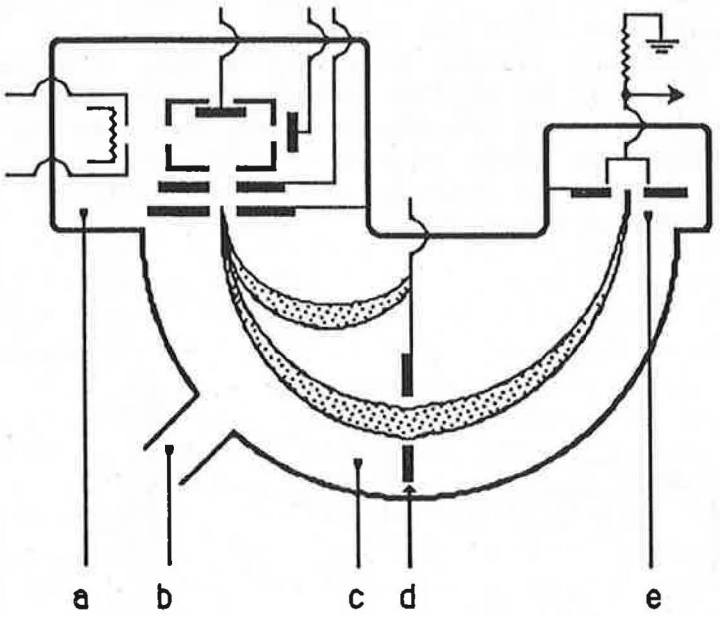


Figura 2. Schema di spettrometro di massa a magnete permanente. a) camera di ionizzazione e accelerazione, b) camera alto vuoto, c) magnete di 180°, d) α slitta, e) rivelatore.

Una volta che le molecole cariche di azoto sono passate attraverso questo elevato campo magnetico vengono deflesse e, in funzione del campo elettrico che genera l'accelerazione, focalizzate sul collettore. La relazione tra potenziale di accelerazione V, campo magnetico B, raggio di curvatura r e rapporto carica/massa della specie sotto indagine e/m è la seguente:

$$\frac{e}{m} = \frac{2\ V}{B^2\ r^2}$$

Attualmente vengono usati anche strumenti che al campo magnetico permanente sostituiscono un campo quadrupolare generato applicando a quattro sbarrette metalliche, parallele e equidistanti tra loro, una corrente continua e una radiofrequenza tale da essere in opposizione di fase nelle quattro sbarrette, prese due a due. L'interazione di questi due campi genera un filtro le cui caratteristiche sono determinate dalle condizioni di interazione.

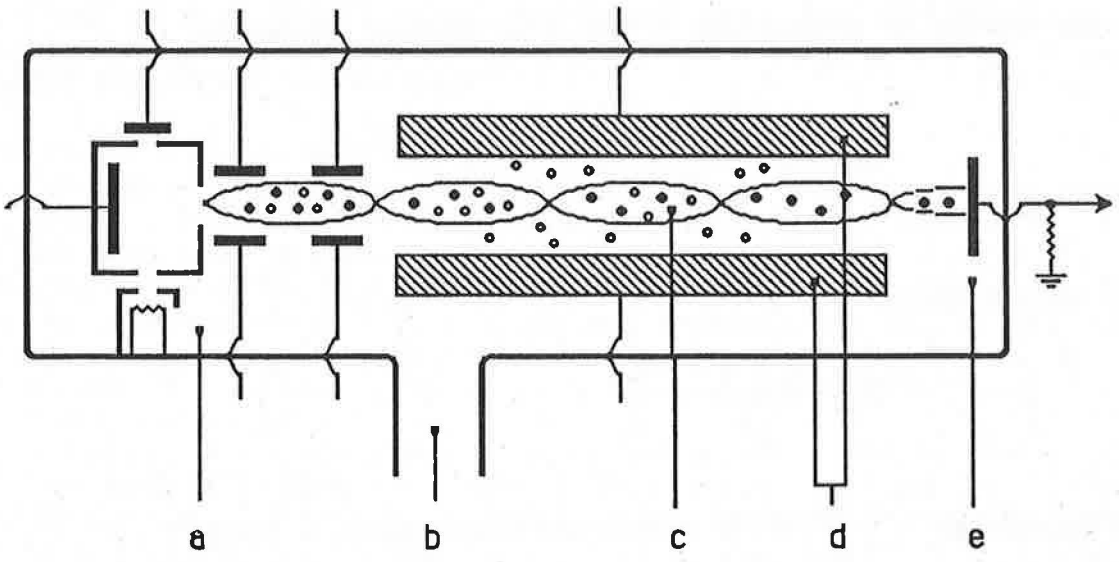


Figura 3. Schema di uno spettrometro di massa a quadrupolo. a) camera di ionizzazione e accelerazione, b) zona alto vuoto, c) raggio ionico, d) Due delle quattro sbarrette del quadrupolo, e) rivelatore.

In generale, la capacità di misurare la percentuale di arricchimento in un isotopo è migliore negli strumenti a magnete permanente anche di un fattore di 2-3 ordini di grandezza. Comunque, il limite inferiore nelle misure dell'arricchimento isotopico è dato spesso più dalla tecnica di preparazione del campione che dallo strumento.

4. CALCOLI

La percentule di ^{15}N presente in un campione di azoto elementare è data dalla seguente espressione:

$$\% N^{15} = \frac{N_2^{30} + \frac{1}{2} N_2^{29}}{N_2^{30} + N_2^{29} + N_2^{28}} * 100$$

L'abbondanza percentuale di ^{15}N si calcola partendo da considerazioni di equilibrio tra gli isotopi stabili dell'azoto. La reazione di equilibrio tra le due

specie isotopiche che concorrono alla formazione dell' azoto elementare è la seguente:

$$2\ N_2^{29} \quad \Longleftrightarrow \quad N_2^{28} + N_2^{30}$$

la cui costante di dissociazione è data dalla seguente espressione:

$$K = \frac{(N_2^{28}) * (N_2^{30})}{(N_2^{29})^2}$$

Da qesta si ricava:

$$K = \frac{1 * 1}{2^2} = \frac{1}{4}$$

da cui, ponendo $R = {}^{28}N/{}^{29}N$ e svolgendo alcuni calcoli, si ottiene :

$$\% N^{15} = \frac{100}{2R + 1}$$

che viene usata nel caso in cui $\% {}^{15}N \leq 5$. Se invesce si ha $\% {}^{15}N > 5$ allora, ponendo R' = 29/30 si utilizza la formula:

$$\% N^{15} = \frac{200}{R' + 2}$$

Il calcolo della quantità di azoto presente nel campione e proveniente dalla sostanza arricchita aggiunta viene eseguito mediante la formula:

$$N_i = N_{Tot} \frac{N_i^{15} - N_n^{15}}{N_0^{15} - N_n^{15}}$$

nella quale Ni è la concentrazione del composto azotato proveniente dal prodotto arricchito in ${}^{15}N$ che è stato aggiunto al sistema, N_{tot} quella totale determinata con il metodo analitico scelto, $N^{15}{}_i$ la percentuale di ${}^{15}N$ del composto N_i, $N^{15}{}_0$ quella del composto di partenza e $N^{15}{}_n$ quella dello stesso

sistema senza aggiunta di tracciante. Questa formula deriva da quella utilizzata per la determizione dell'abbondanza isotopica di una miscela composta da due soluzioni della stessa sostanza a diversi arricchimenti percentuali. Essa é:

$$A_0 * T + A_1 * P = A_2 * (T + P)$$

dove A_0, A_1 e A_2 sono sono gli arricchimenti percentuali di ^{15}N nelle due soluzioni di partenza e nella miscela finale, e T e P sono gli equivalenti di azoto presenti nelle stesse due soluzioni.

5. ALCUNE PROBLEMATICHE RELATIVE ALL'USO DI ^{15}N

Non bisogna dimenticare che l'utilità dell'impiego di ^{15}N si basa su alcune assunzioni, e che pertanto i risultati che si ottengono sono condizionati dalla validità delle stesse nei casi concreti presi in esame. Hauck e Bremner (4) ne prospettano ben dodici secondo il tipo d'indagine intrapresa, e precisamente:

1 - la concentrazione di ^{15}N al tempo zero è identica alla sua concentrazione prima di essere introdotto nel sistema sperimentale.
2 - Tutto il tracciante aggiunto al sistema sperimentale deve essere recuperato al tempo zero.
3 - Guadagni di azoto mediante fissazione atmosferica, o assorbimento di altri gas azotati, e perdite di azoto mediante processi enzimatici e non che portano alla liberazione di azoto gassoso, sono trascurabili durante il tempo di sperimentazione.
4 - La quantità di ^{15}N immobilizzato e successivamente remineralizzato è trascurabile, ossia:
    a - l'azoto assimilato dai microrganismi eterotrofi del terreno non diviene successivamente disponibile per la pianta;
    b - l'azoto assorbito dalla pianta non rientra a far parte dell'azoto del terreno;
    c - i tessuti morti delle radici e gli essudati radicali non contribuiscono alla quantità dell'azoto del terreno in maniera sensibile. Negli esperimenti a lungo termine il loro contributo deve venir esaminato criticamente.
5 - Tutto l'azoto inorganico aggiunto o presente è disponibile alle piante superiori e ai microrganismi nella stessa misura.
6 - I microrganismi e le colture utilizzano solo azoto inorganico.
7 - L'azoto fissato nei cristalli delle argille non è più disponibile per le piante o i microrganismi.
8 - La distribuzione dell'N^{15} nelle varie parti della pianta è omogenea. Questa assunzione non è generalmente valida, ed infatti l'^{15}N è stato usato per determinare nel tempo proprio la distribuzione dell'azoto tra le parti della pianta.
9 - Il cosiddetto "priming effect" osservato durante la decomposizione della sostanza organica del terreno non deriva dalla sottostima del significato dell'interscambio chimico e biologico nel suolo.
10 - Nello studio delle trasformazioni dell'azoto nel terreno si conoscono i fattori principali che governano le velocità di reazione intermedie, e alcune volte opposte, ed inoltre si hanno sufficienti informazioni per

avere una corretta interpretazione dei dati che rappresentano gli effetti totali netti.

11 - Le trasformazioni che avvengono nel sistema nel quale si aggiunge azoto sono qualitativamente e quantitativamente identiche a quelle che avvengono nel controllo. Sebbene questa assunzione non sia valida, essa viene comunemente fatta durante l'interpretazione dei dati ottenuti negli esperimenti senza traccianti, esperimenti nei quali la risposta all'azoto applicato viene determinata dall'aumento della resa rispetto al controllo. L'uso dei traccianti evita la necessità di questa assunzione.

12 - Negli esperimenti in campo con ^{15}N deve essere valutabile il contributo degli effetti di bordo.

Queste sono tutte assunzioni molto importanti ma, come ha tenuto a sottolineare Edwards (5), la sola assunzione fondamentale che è necessario fare è che il composto che contiene una maggiore quantità di ^{15}N si comporti esattamente come un composto che ne contiene una quantità minore, fino al livello dell'abbondanza naturale. Come conseguenza di questa assunzione occorre aggiungere che ^{14}N e ^{15}N saranno "visti" in relazione alle loro concentrazioni relative nei composti nei quali sono presenti.

L'unico vero problema che si pone nella sperimentazione che utilizza ^{15}N è quello della discriminazione isotopica operata dalla materia vivente, ma generalmente questo fenomeno può essere trascurato. Comunque, là dove questo non è possibile, occorrerà tenerne conto.

Un esempio delle difficoltà che si incontrano nello studio delle trasformazioni dell'azoto utilizzando ^{15}N, specialmente in campo, è il così detto "priming effect". Riferito all'azoto esso sta ad indicare quella serie di incongruenze analitiche che si riscontrano nella sperimentazione, quando studi eseguiti con fertilizzanti azotati non arricchiti in ^{15}N vengono comparati con studi eseguiti con lo stesso materiale fertilizzante, ma contenente quantità di ^{15}N superiori a quelle naturali.

Westerman e Kurtz (6) hanno mostrato molto chiaramente che, quando le rese del fertilizzante azotato nelle colture sono compiute mediante il metodo delle differenze o quello dei traccianti, si ottengono risultati diversi (Tabella 1). Ciò sembra far cadere uno dei motivi che giustificano l'impiego dei traccianti, quello di evitare l'uso di prove di controllo. Per superare lo sconcerto creato dai risultati di questi e simili studi, anche e soprattutto in relazione al costo del materiale e della strumentazione analitica necessaria per compierli, sono state richiamate molte cause, dalla interazione con le popolazioni eterotrofe del terreno (6) alla salubrità delle radici delle piante (7), dalle cause della formazione dello ione ammonio (8) all'effetto della concentrazione salina (9), al turnover della sostanza organica (10), .

Il modo migliore di affrontare questo problema è forse quello di affrontarlo dal punto di vista modellistico, facendo tesoro dei dati della sperimentazione e dei suggerimenti provenienti da tutti, o quasi tutti, i lavori citati. E il primo punto da osservare è quello dell'ordine di reazione delle trasformazioni a cui vanno incontro le sostanze nel terreno.

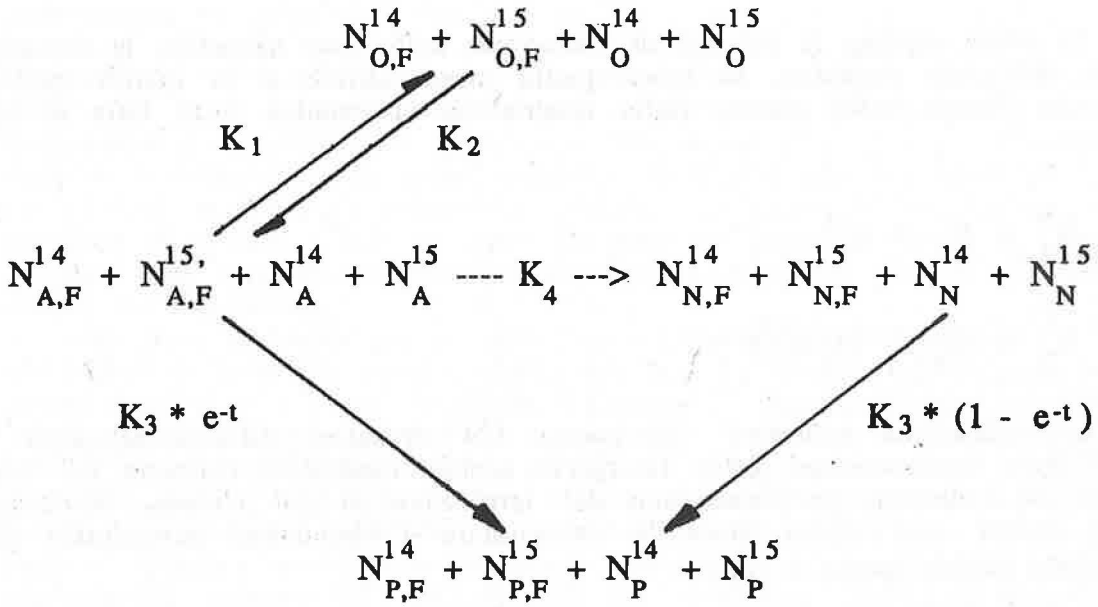
Un'assunzione generalmente fatta è che l'ordine di reazione delle trasformazioni sia il primo, poichè la quantità di substrato che subisce tale trasformazione non è sufficientemente elevata da poter considerare questa trasformazione come una reazione di ordine zero, una reazione cioé che non risente della concentrazione del substrato, del suo variare nel corso del tempo. Questa approssimazione nasconde il fatto che le trasformazioni operate dai

sistemi biologici sono descritte da cinetiche del tipo di quelle ricavate da Michaelis e Menten, e che queste possono essere assimilate a reazioni di ordine zero solo se la quantità di substrato presente è tale da essere almeno 5-6 volte superiori alla costante di Michaelis-Menten. Occorre allora vedere se, nelle usuali condizioni della sperimentazione, con le quantità messe generalmente in gioco, la semplificazione è valida. Anni di studi hanno costantemente indicato che nei processi di mineralizzazione e immobilizzazione l'ordine della reazione è ottimamente assimilabile al primo.

Tenendo conto di queste considerazioni sorprende che, nel tentativo di spiegare in senso modellistico il "priming effect", Jenkinson e collaboratori abbiano usato reazioni di ordine zero (11). Il tutto però si spiega se si osserva che la loro descrizione modellistica del fenomeno perde di valore se le trasformazioni di immobilizzazione e mineralizzazione vengono considerate del primo ordine. Essi infatti rilevano che i processi di volatilizzazione e lisciviazione non intervengono nella spiegazione del "priming effect" poiché la scomparsa dal sistema della sostanza azotata dipende dalla loro concentrazione .

Ciò che occorre verificare, almeno dal punto di vista modellistico, è se, assumendo reazioni del primo ordine per tutte le trasformazioni ritenute rilevanti, e tralasciando quelle ritenute ininfluenti ai fini della descrizione del sistema, le formule impiegate nei calcoli sono corrette. Occorre cioé sviluppare un sistema di rappresentazione il più esteso possibile e controllare che le grandezze da esso ricavate sono identiche a quelle generalmente ottenute mediante le metodiche di calcolo usualmente utilizzate.

A questo fine assumiamo che il sistema cinetico suolo-pianta al quale viene aggiunto del fertilizzante azotato sotto forma di $(NH_4)_2SO_4$ sia quello descritto qui di seguito:



dove gli indici superiori di N indicano la massa dell'atomo di azoto presente nel composto, e quelli inferiori indicano: il primo se esso è legato alla sostanza

organica (O), o allo ione ammonio (A), o a quello nitrico (N), o al materiale vegetale (P); il secondo se esso proviene dal fertilizzante (F) oppure no. Si supponga inoltre che la capacità della pianta di assorbire lo ione NH_4^+ o NO_3^- dipenda dal tempo, o ciò che qui è considerato equivalente, dallo sviluppo della pianta.

Ognuna delle quattro specie molecolari avente lo stesso indice inferiore (A, o N, o O, o P) reagisce con reazioni del primo ordine secondo le costanti di reazione K_1, K_2, K_3 e K_4. Si hanno allora le seguenti quattro equazioni differenziali:

$$\frac{d N_A}{d t} = -(K_1 + K_3^o + K_4) * N_A + K_2 * N_O$$

$$\frac{d N_O}{d t} = K_1 * N_A - K_2 * N_O$$

$$\frac{dN_N}{d t} = K_4 * N_A - K_3^1 * N_N$$

$$\frac{d N_P}{d t} = K_3^o * N_A + K_3^1 * N_N$$

dove la prima esprime la velocità di formazione dello ione ammonio, la seconda quella dell'azoto organico, la terza quella azoto nitrico e la quarta quello dell'azoto fissato nella pianta. Nella descrizione matematica testé fatta si ha anche:

$$K_3^o = K_3 * e^{-t}$$

$$K_3^1 = K_3 * (1 - e^{-t})$$

La risoluzione numerica di queste 4x4 equazioni differenziali darà i valori delle concentrazioni delle 16 specie azotate contenenti ciascuno dei due isotopi ed indicante se provengono dal fertilzzante o dal terreno. Mediante questi valori sarà allora possibile determinare l'abbondanza percentuale di ^{15}N delle singole specie, e cioé:

$$\%\, N_i^{15} = \frac{N_{i,F}^{15} + N_i^{15}}{N_{i,F}^{14} + N_{i,F}^{15} + N_i^{14} + N_i^{15}}$$

dove N_i rappresenta l'iesimo composto azotato; in questo caso esso può essere o lo ione ammonio, o quello nitrico, o l'azoto organico del terreno, o infine quello della pianta. La quantità di azoto proveniente dal fertilizzante aggiunto si calcola invece da relazioni come questa:

$$N_{i,F} = N_{i,F}^{14} + N_{i,F}^{15}$$

Il calcolo mostra che i valori ottenuti in questo modo e quelli ottenuti assumendo valide le formule viste nel paragrafo 4 coincidono perfettamente. Questo ci assicura che quelle formule, almeno nel caso che la descrizione cinetica sia corretta, possono essere usate con sicurezza. E poiché, a parte ogni distinguo su cosa si debba intendere per azoto proveniente dal fertilizzante, la discussione deve essere sulla validità delle formule impiegate, se queste sono corrette anche i calcoli che ne derivano saranno corretti.

6. ALCUNE CONSIDERAZIONI PRATICHE

Uno dei problemi che si pongono a coloro che compiono indagini sulle trasformazioni dei composti azotati, e certamente non il minore, è quello del costo della strumentazione. Questo è il motivo essenziale per cui in molti laboratori l'analisi degli isotopi stabili dell'azoto viene compiuta mediante spettrometria di emissione. Non esistono altre spiegazioni all'impiego di questa tecnica. Essa è, infatti, meno sensibile della spettrometria di massa di almeno un ordine di grandezza, il che vuol dire che le sono impediti, ad esempio, tutti gli studi sugli arricchimenti naturali. Il vantaggio fondamentale della spettrometria di emissione, oltre al costo contenuto, consiste nella minor quantità di campione che viene utilizzata, dell'ordine dei microgrammi. Questo non è però sempre un vantaggio, poiché, ad esempio, la variabilità dei campioni di terreno è tale da poter far preferire quantità elevate di campione, piuttosto che quantità ridotte, proprio perché campioni più grandi possono essere più significativi.

Un altro problema che si pone nella spettrometria di emissione è quello dell'analisi di campioni gassosi. All'Istituto per la Chimica del Terreno è stato messo a punto un sistema che permette l'analisi di campioni gassosi. In Fig. 4 è riportato lo schema dell'apparato sperimentale impiegato, messo a punto in collaborazione con la Ditta DISA di Milano alla quale spetta il merito della concretizzazione del progetto. Esso consiste essenzialmente in un'apparato che permette la carica a pressione costante dei capillari di vetro da sottoporre ad analisi. Questo assicura le migliori condizioni di lettura dei campioni, permettendo pertanto il superamento dei problemi connessi alla diversa precisione delle letture in funzione della quantità di azoto presente nel capillare.

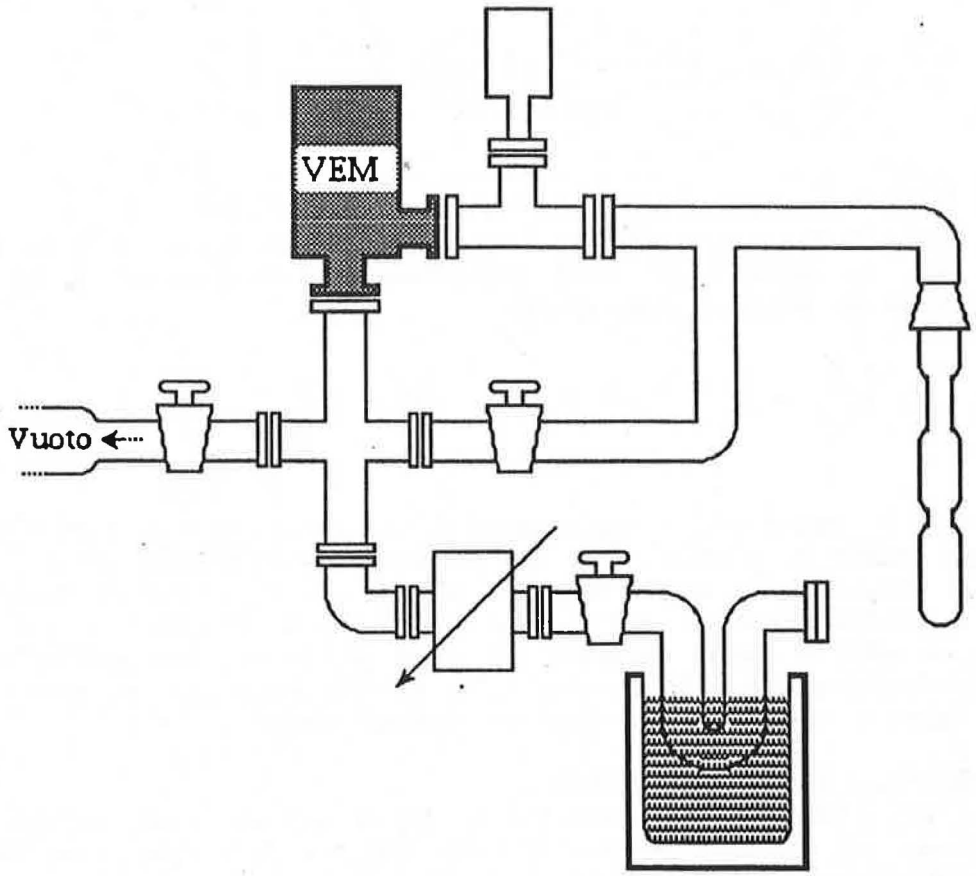


FIGURA 4

Il nucleo principale del sistema è una valvola elettromagnetica che si apre e si chiude quando i valori della pressione nel capillare, o almeno nelle sue più dirette vicinanze, sono stati fissati in precedenza. La pressione alla quale il sistema si chiude, e quindi impedisce ogni ulteriore ingresso del campione nel capillare di misura, viene fissato al valore migliore possibile per la lettura. Attualmente esso viene fissato a 5 Torr. Mediante questo apparato è possibile compiere facilmente misure di denitrificazione, processo che nei passati dieci anni ha richiamato l'attenzione di numerosi ricercatori in tutto il mondo. Purtroppo, il prezzo dello spettrometro di emissione più utilizzato, quello costruito dalla giapponese Jasco, è aumentato di molto in questi anni in confronto a quello degli spettrometri di massa, tanto da far ripensare alla sua convenienza.

Quest'ultima considerazione mi permette di introdurre un nuovo argomento, quello della capacità italiana di produrre buoni strumenti analitici a costo contenuto. Ormai da alcuni anni la Ditta RIAL di Parma è impegnata nella produzione di strumentazione e di componenti per il montaggio di apparecchiature e linee ad alto vuoto. Questa capacità ha permesso di mettere a punto uno spettrometro di massa che lavora nel campo delle masse fino a 140 u.m.a., e utilizza un quadrupolo le cui condizioni operative sono governate da

un microprocessore. Il microprocessore, la duttilità e la personalizzazione del software sono il punto di pregio del sistema, poiché permette la scelta delle migliori condizioni operative, senza andare incontro a quel tanto di approssimazione sempre implicito nel governo manuale di qualsiasi operazione complessa .

Attualmente sono in corso una serie di sperimentazioni presso l'Istituto per la Chimica del Terreno e, se i risultati preliminari di queste saranno confermati, si apriranno buoni spiragli non solo per un uso sempre più esteso della spettrometria di massa nelle indagini sull'azoto, ma anche, e questo è più importante, saranno aperte nuove strade nello studio dei problemi ambientali. Infatti questo strumento, elevando lo spettro delle masse determinabili a valori più elevati di quelli usualmente indagati mediante i normali spettrometri a magnete permanente, permetterà un uso più esteso della tecnica. Inoltre, ciò sarebbe un grande vantaggio per la sperimentazione italiana, sia dal punto di vista della interazione produttore-consumatore, sia da quello dell'assistenza tecnica, punto dolentissimo non mai sottolineato abbastanza, della strumentazione estera, specialmente quella inglese. Altro vantaggio non trascurabile sarebbe quello del costo, in genere estremamente elevato anche per i problemi legati all'interscambio delle monete, che nel caso dello spettrometro di produzione italiana ci assicurano estremamente contenuto.

7. CONCLUSIONI

La sperimentazione agraria italiana ha sempre guardato con troppa cautela all'utilizzo di strumentazioni complesse. Le ha sovente ritenute troppo complicate, tali da richiedere elevate specializzazioni, non possedute dalla maggioranza delle persone. Questa sembra l'occasione propizia per eliminare inutili cautele che non sono necessarie. Attualmente le tecniche di preparazione dei campioni, le strumentazioni a disposizione, sono alla portata di molti laboratori di ricerca. E' giunto il tempo che più ricercatori si avvicinino a queste tecniche che, finalmente, potranno essere patrimonio comune. Questo stimolerà anche l'industria italiana del settore per la produzione di strumenti oggidì prodotti solo all'estero, dimodoché oltre ad un beneficio per l'industria, lo sarà anche per i nostri laboratori. I prezzi saranno più contenuti, l'assistenza tecnica più presente, effettiva ed efficace. In un processo a cascata anche la strumentazione potrà evolvere, essa sarà sempre pù sofisticata e, al contempo, più semplice. L'introduzione dell'informatica in tutte le branche della scienza ha portato a questo contraddittorio risultato: il complesso è più facile del semplice. Facciamo allora in modo di guardare senza paura al complesso, questo porterà a rendere tutto più facile.

RINGRAZIAMENTI. L'autore ringrazia il Sig. F. Cervelli per la realizzazione della parte grafica.

BIBLIOGRAFIA

1 - Hauck, R. D. (1982) Nitrogen. Isotope-Ratio Analysis. In Methods of Soil Analysis. (A. L. Page e altri, Ed.i), II Edizione, Parte 2, Agronomy 9, 735-779, Am. Soc. Agr., Madison, Wis.

2 - Bremner, J. M. (1965) Isotope-Ratio Analysis of Nitrogen in Nitrogen-15 Tracer Investigation. In Methods of Soil Analysis. (C. A. Black e altri, Ed.i), Parte 2, Agronomy 9, 1256-1286, Am. Soc. Agr., Madison, Wis.

3 - Ross, P. J. e A. E. Martin(1970) A rapid procedure for preparing gas samples for nitrogen-15 determination. Analyst (London) 95, 817-822.

4 - Hauck, R. D. e J. M. Bremner (1976) Use of tracer for soil and fertilizer nitrogen research. Ad. Agron. 28, 219-266.

5 - Edwards, A. P. (1978) Real vs. Imaginary Sources of Error in Agronomic Research Involving ^{15}N . Soil. Sci. Soc. Am. J. 42, 174-175.

6 - Westerman, R. L. e Kurtz, L. T. (1974) Isotopic and Nonisotopic Estimation of Fertilizers Nitrogen Uptake by Sudangrass in Field Experiments. Soil. Sci. Soc. Am. Proc. 38, 107 - 109.

7 - Rennie, D. A. e M. Fried (1971) An interpretative analysis of the significance in soil fertility and fertilizer evaluation of ^{15}N labelled fertilizer experiments conducted under field conditions. Proc. Int. Symp. "Soil Fertility Evaluation" (New Dely), 1, 639-656 I.A.E.A., Vienna.

8 - Laura, R. D. (1975) On the "priming effect" of ammonium fertilizers. Soil. Sci. Soc. Am. Proc. 23, 385.

9 - Broadbent, F. E. e T. Nakashima (1971) Effect of added salts on nitrogen mineralization in three Californian soils. Soil. Sci. Soc. Am. Proc. 35, 457-460.

10 - Jannson, S. L. e J. Persson (1982) Mineralization and Immobilization of Soil Nitrogen. In Nitrogen in Agricultural Soils. (F. J. Stevenson, ed.),pp. 229-252. Am. Soc. Agron., Monograph N° 22, Madison Wis.

11 - Jenkinson, D. S., R. H. Fox e J. H. Rayner (1985) Interaction between fertilizer nitrogen and soil nitrogen -- the so-called "priming" effect. J. Soil. Sci. 36, 425-444.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

ALTERNATIVA ANALITICA PER LA DETERMINAZIONE DEL FOSFORO ASSIMILABILE NEI TERRENI

Riccardo Deon - Enichem Agricoltura (Ravenna)
Diego Canepa - Agrimont P.to Marghera (Venezia)

RIASSUNTO:
L'uso della tecnica analitica basata sull'emissione mediante plasma (ICP) ha assunto notevole rilevanza nella misura di elementi chimici in soluzione.
Il lavoro presentato si propone di illustrare, in comparazione con la tecnica fotometrica, l'applicabilità dell'ICP all'analisi del fosforo assimilabile nei terreni.

SUMMARY:
A series of reports have shown that inductively coupled plasma atomic emission spectrometry is a suitable technique for the measure of several chemical elements in solution.
This work evaluates the application of ICP for determining the available P in soils compared with the photometric methods based on formation of coloured complex.

1. INTRODUZIONE

L'uso dell'analisi del terreno, finalizzato al miglioramento delle pratiche agronomiche, rappresenta uno degli aspetti più significativi nel

complesso quadro della gestione delle risorse rinnovabili.

Pur non disponendo di dati certi si può ipotizzare che annualmente vengano effettuate in Italia ca. 30000 analisi di terreno (1).
Tale cifra, che corrisponde a meno di un'analisi per 300 ettari di terreno agricolo, è assai ridotta se confrontata con quanto viene fatto in Olanda (una ogni 15 ettari) in Germania Occ. (una ogni 10 ettari) e in Francia dove viene effettuata una analisi ogni 30 ettari (2). Questa situazione è imputabile principalmente alla mancata opera di sensibilizzazione dell'Autorità pubblica nei confronti degli operatori agricoli.

L'elevata frammentazione dei terreni rende problematica, inoltre, un'indagine sistematica e a vasto raggio sullo stato nutrizionale dei terreni agrari.

L'analisi del terreno, secondo un'opinione abbastanza diffusa, è strumento conoscitivo fondamentale per indirizzare il complesso delle pratiche colturali.

In particolare questa analisi permette di (1):

- individuare le carenze di elementi nutritivi;
- individuare l'eventuale alta dotazione di uno o più nutrienti orientando così la concimazione;
- orientare le lavorazioni, l'irrigazione e la scelta dei portainnesti;
- completare la diagnosi delle affezioni delle colture conoscendo carenze, squilibri od eccessi di elementi nutritivi nel terreno.

In aggiunta a quanto sopra l'analisi del terreno e il successivo consiglio di concimazione, pur con i limiti propri dei metodi generalizzati di interpretazione dei dati analitici rappresentano un passaggio obbligato per una concimazione scelta su basi razionali che tenga anche conto degli effetti sull'ambiente.

2. IL FOSFORO NEL TERRENO

Nel quadro generale delle caratteristiche del terreno, il contenuto di fosforo è un parametro fondamentale.

La storia delle analisi del fosforo in terreni agrari risale al tardo '800 e si è sviluppata parallelamente all'aumentare delle conoscenze sulla dinamica di questo elemento nel ciclo vegetativo.

Dalla misura del fosforo totale riportato nei primi lavori si è passati alla separazione e quantificazione della forma detta "assimilabile" utilizzando un estraente chimico nel tentativo di riprodurre il comportamento delle colture.
I lavori più recenti studiano sistemi per arrivare alla caratterizzazione dei diversi composti del fosforo presenti nel terreno e alla loro relazione con la nutrizione delle colture (3).

L'uso della metodologia di Chang e Jackson (4), o di tecniche equivalenti (4,5), ha permesso di quantificare le diverse frazioni di fosforo del terreno:

P organico	ca.	50%	del	P	totale
P - Fe	"	25%	"	"	"
P - Ca	"	19%	"	"	"
P - Al	"	5%	"	"	"
P scambiabile	"	1%	"	"	"

Prove agronomiche condotte con l'impiego della metodica citata hanno evidenziato da parte dei vari tipi di coltura un assorbimento preferenziale e differenziato delle diverse forme di fosforo (3).

Questo tipo di metodologia richiede tuttavia un notevole impegno e quindi per le indagini di tipo

routinario la quantificazione della forma "assimilabile" è l'indice fondamentale per la valutazione della dotazione nutrizionale in fosforo del terreno.

Questa analisi è ovviamente condizionata dal tipo di solvente usato e l'uso di solventi diversi fornisce differenti valori di fosforo assimilabile.

E' quindi evidente come l'unificazione delle metodologie analitiche e dei metodi di interpretazione dei dati sia fondamentale per dare univocità al concetto di "assimilabile".

Il lavoro di standardizzazione dei metodi di analisi è da tempo in atto e ad esso si dedicano organismi nazionali e internazionali quali FAO, ISO, SISS, UNICHIM (6,7,8).

L'opera di unificazione dei sistemi interpretativi è assai più complessa dovendo armonizzare conoscenze storiche e opinioni a volte in apparente contraddizione e richiederà pertanto tempi di applicazione oggi difficilmente valutabili.

2.1 Tecniche di estrazione del Fosforo "assimilabile"

In letteratura sono riportati numerosi metodi di estrazione del fosforo dal terreno.

Il presente lavoro intende però affrontare esclusivamente le problematiche legate alla misura del fosforo estratto.

Si possono tuttavia focalizzare i principali meccanismi di estrazione utilizzati dai diversi metodi (9, 10):

- azione acida, per mezzo della quale si forniscono ioni H^+ in grado di sciogliere i fosfati di calcio e alcuni fosfati di

alluminio e ferro con conseguente rilascio dello ione fosfato;
- sostituzione dell'anione fosfato adsorbito sul complesso di scambio con altri anioni (acetato, citrato, lattato, solfato e bicarbonato) con conseguente rilascio dello ione fosfato;
- complessazione dei cationi legati al fosfato per mezzo di ioni F^- in grado di precipitare i floruri di calcio e alluminio con conseguente rilascio dello ione fosfato;
- idrolisi dei cationi legati al fosfato per mezzo di ioni OH^- in grado di precipitare gli idrossidi di ferro e alluminio con conseguente rilascio dello ione fosfato.

2.2 Tecniche di dosaggio del Fosforo "assimilabile"

Ai numerosi metodi di estrazione di P dal terreno, non corrisponde pari varietà di tecniche analitiche di misura quantitativa.

La bassa concentrazione di elemento in soluzione di fatto esclude l'uso di tecniche gravimetriche o volumetriche, più adeguate al dosaggio di macroquantità. Nell'ambito delle tecniche di laboratorio in grado di misurare basse concentrazioni di analita, la spettrofotometria di assorbimento molecolare svolge un ruolo fondamentale.

In tempi più recenti sono comparse sul mercato tecniche analitiche quali la cromatografia ionica e l'emissione mediante plasma che sembrano essere in grado di sostituire efficacemente la tradizionale misura fotometrica.

Questa nota confronta il metodo di emissione mediante plasma con il metodo colorimetrico per la misura del fosforo assimilabile negli estratti di terreno.

3. DETERMINAZIONE DEL FOSFORO ASSIMILABILE : METODO FOTOMETRICO

3.1 Formazione dei complessi fosfomolibdici

La determinazione quantitativa del fosforo viene effettuata misurando l'intensità del colore di un eteropoliacido fosfomolibdico la cui scoperta, avvenuta nel 1887, si deve a Osmond. Tale eteropoliacido reagisce con vari riducenti per dare il complesso "blu fosfomolibdico", la cui intensità di colorazione è proporzionale alla quantità di fosforo in soluzione.

La formazione di un eteropoliacido blu procede fondamentalmente in due stadi:

- complessazione degli ortofosfati con acido molibdico

$$PO_4^{-3} + 12MoO_4^{-2} + 24\ H^+ \rightleftharpoons P(Mo_3O_{10})_4^{-3} + 12\ H_2O$$

- riduzione del complesso per dare "blu fosfomolibdico"

$$P(Mo_3O_{10})_4^{-3} + \text{riducente} \rightleftharpoons PO_4(4MoO_3, MoO_2)H_3$$

Sulla formazione e disposizione spaziale degli eteropoliacidi (nell'ambito dei quali l'eteropoliacido P-Mo rappresenta, unitamente a quelli As-Mo e Si-Mo, uno dei più studiati) esistono numerose teorie anche se recenti studi effettuati mediante diffrazione di raggi X indicano come possibile la disposizione spaziale riportata in fig. 1. L'eteroanione contenente il fosforo si trova al centro di un tetraedro ai cui vertici sono collocati atomi di ossigeni messi in comune con isoanioni contenenti esclusivamente molibdeno e ossigeno. (12)

Una delle caratteristiche più interessanti ai fini analitici, è la proprietà degli eteropolianioni, con atomo centrale di fosforo o arsenico o silicio, di venire ridotti per somma di elettroni per dare i cosiddetti "eteropolicomposti blu":

$$P_2Mo_{18}O_{62}^{-6} \xrightleftharpoons{+2e^-+2H^+} H_2P_2Mo_{18}O_{62}^{-6} \xrightleftharpoons{+2e^-+2H^+} H_4P_2Mo_{18}O_{62}^{-6} \xrightleftharpoons{2e^-+2H^+} H_6P_2Mo_{18}O_{62}^{-6}$$

che presentano una serie caratteristica di spettri di assorbimento nel visibile (12).

3.2 Campo di stabilità dei complessi fosfomolibdici

E' noto che la formazione e la stabilità dell'eteropoliacido fosfomolibdico dipendono principalmente dal pH della soluzione e dal potenziale ossido-riduttivo delle specie chimiche presenti.

In fig. 2 si riporta il campo di stabilità del complesso blu-fosfomolibdico in funzione delle concentrazioni di acido solforico e di anidride molibdica studiato da Duval nel 1960 (13).

Il campo di stabilità del complesso blu-fosfomolibdico corrisponde all'area compresa tra le curve I e II.

In condizioni di bassa concentrazione di acido solforico e al di sopra della curva I si ha la formazione del blu molibdico che interferisce nella misura colorimetrica.

Un'elevata concentrazione di acido determina invece un decadimento anche totale del complesso blu fosfomolibdico e quindi della colorazione.

I lavori di Duval dimostrano inoltre come la formazione del complesso colorato sia indipendente dal tipo di ricucente usato (figg. 3 e 4).

Studi sperimentali sull'incidenza dei diversi tipi di acido sulla formazione del complesso colorato, hanno permesso di individuare la relazione matematica tra le normalità dei diversi acidi utilizzati per la reazione (14).

Uno studio di Cotton, pubblicato nel 1945, approfondisce la relazione tra la normalità dell'acido e la concentrazione del fosforo in soluzione (fig. 5) in funzione della riproducibilità della lettura (11)
Dalla figura è evidente come l'ampiezza della zona di stabilità del colore si riduce in funzione dell'aumentare della concentrazione di fosforo.

La reazione fosforo-acido molibdico oltre che dalle condizioni valutate precedentemente è interferita anche dalla presenza di arsenico e silicio, elementi che formano complessi analoghi a quelli del fosforo.

Studi su queste interferenze hanno dimostrato che, nelle condizioni sperimentali afferenti alla curva I riportata in fig. 2, vengono tollerati rapporti del tipo $As/P \leq 0.02$ e $Si/P \leq 20$. Nelle condizioni espresse graficamente dalla curva II i citati rapporti possono arrivare rispettivamente a 0.1 e 200.

3.3 Misura quantitativa

La legge di Lambert e Beer, come è ben noto, stabilisce la relazione tra assorbimento di luce e concentrazione di analita nella forma

$$E = kcd$$

dove : "E" rappresenta la quantità di luce assorbita

"c" la concentrazione di elemento

"d" lo spessore della soluzione sottoposta a irraggiamento

"k" un coefficiente di assorbimento, specifico della specie analizzata.

Il campo di applicazione delle legge di Lambert-Beer per misure quantitative è generalmente compreso tra 10^{-2} M e 10^{-7} M (15).

Un notevole progresso nell'applicazione routinaria della colorimetria è derivato dall'applicazione dei colorimetri a flusso continuo.

Questi strumenti sono dotati di una pompa peristaltica che preleva quantità note di campione e reagenti.

Il tempo di contatto campione-reagenti è proporzionato alle portate scelte.

Durante il contatto campione-reagente ha luogo la reazione colorimetrica e l'intensità del colore ottenuto viene letta da un colorimetro dotato di cella a flusso.

L'elevata affidabilità raggiunta da questi strumenti ha permesso di superare gli inconvenienti legati alla ripetitività delle operazioni analitiche. D'altra parte con questo tipo di strumento è possibile effettuare un elevato numero di analisi specialmente dove si opera su matrici note a contenuto relativamente costante di elementi da determinare.

4 DETERMINAZIONE DEL FOSFORO ASSIMILABILE: METODO DI EMISSIONE MEDIANTE PLASMA

4.1 Elementi teorici di base

Il plasma rappresenta un particolare stato fisico della materia in cui le specie chimiche costituenti si trovano allo stato ionizzato.

Nel caso dell'ICP ad argon (Inductively Coupled Plasma) l'energia che deriva da un generatore di radio frequenza produce un campo magnetico alternato generante un flusso di corrente che crea e sostiene il plasma all'interno di una torcia di quarzo (fig. 6).

Il flusso di elettroni, per effetto Joule, determina un innalzamento della temperatura che provoca la ionizzazione della massa gassosa con formazione di un plasma toroidale contenuto all'interno della torcia.

Un atomo immesso nel plasma, la cui temperatura è dell'ordine di 8000°K, subisce processi di eccitazione e ionizzazione.

Le principali reazioni di eccitazione atomica possono essere schematizzate come segue (16):

- collisione con elettroni

$$M + e^- \longrightarrow M^* + e^-$$

- collisioni con atomi di argon

$$M + Ar \longrightarrow M^* + Ar$$

- assorbimento di luce

$$M + h^u \longrightarrow M^*$$

mentre quelle di ionizzazione seguono analogo schema:

- collisione con elettroni

$$M + e^- \longrightarrow M^+ + 2e^-$$

- collisioni con atomi di argon

$$M + Ar \longrightarrow M^+ + Ar + e^-$$

- ionizzazione di Penning

$$M + Ar_m \longrightarrow M^+ + Ar + e^-$$

- autoionizzazione

$$M \longrightarrow M^+ + e^-$$

dove M^* rappresenta l'atomo eccitato e M^+ l'atomo ionizzato.

Secondo K.P.Li e all., il modello di interpretazione dei fenomeni chimico fisici che hanno luogo all'interno di un plasma considera le singole gocce di areosol in esso introdotte come un universo finito che subisce processi di desolvatazione, vaporizzazione, atomizzazione, eccitazione, ionizzazione e ricombinazione secondo quanto riportato in fig. 7 (16,17).

Le reazioni di eccitazione dell'atomo determinano, per un dato elemento (fig. 8), una emissione di luce caratteristica e specifica la cui intensità è fondamentalmente proporzionale alla concentrazione di elemento all'interno del plasma.

La luce specifica e non emessa dal plasma e dagli atomi in esso introdotti viene sottoposta ad un procedimento di separazione per isolare la radiazione di interesse analitico.
Successivamente questa si trasforma in segnale elettrico per mezzo di un fototubo (fig. 9).

Questo fenomeno viene utilizzato per scopi analitici essendo la concentrazione di elemento all'interno del plasma proporzionale alla concentrazione dell'elemento in soluzione.

La soluzione viene introdotta nel plasma per mezzo di una pompa peristaltica in una camera sottostante la torcia dove viene portata allo stato di areosol per mezzo di un nebulizzatore cross-flow o tipo Babington (fig. 10). L'aereosol passa quindi, trasportato dal flusso di argon, all'interno del plasma per mezzo di una cannula di allumina.

4.2 Estrazione del fosforo

L'applicazione dell'ICP alla quantificazione del fosforo assimilabile ha richiesto alcune modifiche alla metodologia ufficiale Olsen.

L'elevata concentrazione di sodio bicarbonato provoca infatti l'occlusione del nebulizzatore cross-flow e la conseguente caduta del plasma.

L'occlusione del nebulizzatore rappresenta il vero punto debole di ogni plasma; a riprova di ciò tutti i costruttori hanno ormai modificato i sistemi di nebulizzazione adottando sistemi diversi dove, per gravità, si fa scivolare il fluido davanti al flusso di argon di nebulizzazione.

Tuttavia, in queste condizioni, il tempo di piena efficienza dello strumento è di circa 3 ore.

Per aumentare il tempo utile di lavoro si sono effettuate prove per ridurre la concentrazione di sodio bicarbonato a livelli strumentalmente tollerabili.

Inizialmente la soluzione è stata diluita 10 volte ma, per numerosi campioni, la concentrazione

finale di fosforo risultava inferiore al limite di rivelabilità dello strumento.

Si è aumentato pertanto il peso del campione in modo da avere, a parità di volume di solvente, quantità maggiori di fosforo in soluzione. In queste condizioni la successiva diluizione, necessaria per portare la concentrazione del sodio bicarbonato a livelli tali da non avere occlusioni del nebulizzatore, non influisce sulla rivelabilità del fosforo contenuto nelle soluzioni in esame.

Masse maggiori di campione, a parità di volumi di solvente, hanno richiesto tempi di estrazione più lunghi rispetto quanto previsto dal metodo Olsen.

Numerose prove di laboratorio hanno individuato nei parametri riportati in tab. 1 le condizioni analitiche necessarie per ottenere risultati comparabili con quelli ottenuti applicando il metodo ufficiale.

4.3 Misura quantitativa

Il campione da analizzare viene immesso, per mezzo di una pompa peristaltica nella camera sottostante la torcia dove viene nebulizzato per mezzo di un altro flusso di argon e introdotto nel plasma attraverso una cannula di allumina (fig. 11).

La luce emessa dagli atomi di fosforo eccitati viene misurata alla lunghezza d'onda specifica di 213.62 nm.

La taratura dello strumento viene effetuata con una soluzione standard contenente 5 mg/l di P.
Per verificare la taratura negli intervalli tipici per gli estratti di terreni, si usano due soluzioni standard contenenti 0.25 e 0.50 mg/l di P (corrispondenti a 12.5 e 25.0 ppm di P nel terreno). L'intera procedura analitica viene

sistematicamente controllata eseguendo l'analisi di un terreno a contenuto noto di fosforo.

5 VALUTAZIONI E CONFRONTI

Con metodiche di valutazione, adottate anche dall'UNICHIM, sono state effettuate prove di confronto tra il metodo Olsen fotometrico e il metodo di emissione a plasma per la determinazione del P assimilabile nei terreni. I risultati ottenuti sono riportati in tab. 2.

Dall'esame dei dati è possibile evidenziare quanto segue:

- le medie dei risultati analitici ottenuti con i due metodi, valutate con il test di Student, appaiono statisticamente concordanti;

- i valori di deviazione standard e i coefficienti di variazione percentuale risultano, nella quasi totalità, più elevati per il metodo di emissione a plasma.

Ciò può imputarsi principalmente a:

- concentrazioni di fosforo troppo basse e prossime al limite di rivelabilità. Questo determina una cattiva risoluzione del segnale e quindi la disponibilità di risultati espressi senza decimali; ciò può incidere sulla deviazione standard;

- variazioni del diametro delle gocce nell'aerosol. Questo determina cambiamenti nel processo di desolvatazione e vaporizzazione e quindi variazioni del punto di emissione della radiazione luminosa all'interno della torcia; ciò comporta a sua volta una cattiva

risoluzione del segnale ed un peggioramento della riproducibilità della misura.

Per verificare l'affidabilità del metodo studiato sono state analizzati, con le due metodiche, 20 terreni aventi caratteristiche sufficientemente diverse.
I risultati ottenuti sono riportati in tabella 3.

Pur con le limitazioni soprascritte il metodo studiato, se confrontato con la metodologia manuale, presenta indubbi vantaggi di semplicità e rapidità di esecuzione. Se il confronto viene fatto con il metodo colorimetrico a flusso continuo, paragonabile come potenzialità operativa al metodo al plasma, risalta l'assenza di tubi di portata alterabili e di reagenti colorimetrici di frequente preparazione.

Al completamento del quadro fatto per il metodo di emissione al plasma va detto che il costo dell'apparecchiatura necessaria è attualmente ancora molto alto e che ciò potrebbe influire negativamente sulla diffusione del metodo se non si tenesse conto dell'alto numero di analisi effettuabili nell'unità di tempo.

6 CONCLUSIONI

Sull'analisi del fosforo assimilabile dei terreni il confronto tra il metodo colorimetrico e il metodo di emissione mediante plasma ha evidenziato come questa metodologia possa essere una possibile alternativa alla misura fotometrica.

Da un punto di vista applicativo la nuove tecnica analitica, pur presentando nei risultati una maggiore variabilità, evidenzia taluni aspetti positivi.

Il principale vantaggio è quello di poter effettuare la maggior parte delle determinazioni routinarie su un terreno agrario con un solo strumento. Questo con evidenti benefici per la razionalizzazione della dotazione strumentale di un laboratorio per analisi agronomiche.

Ciò, unito all'elevata velocità di esecuzione (pochi secondi per una misura) permetterà di aumentare la potenzialità dei laboratori mantenendo ai livelli attuali, il costo dell'analisi di un terreno.

La robotizzazione delle operazioni fondamentali della procedura analitica, collegata all'uso di strumenti quali lo spettrometro a plasma, permetterà di conseguire elevati livelli di automazione dell'analisi routinaria consentendo un sensibile miglioramento del servizio in termini di costo dell'analisi e tempo di risposta.

BIBLIOGRAFIA

(1) Perelli M., Guida alla concimazione, L'Informatore Agrario XLIII (2,4,6), 1987 - XLII (34), 1985

(2) OCDE, L'Agriculture face aux politiques d'utilisation du sol, 1976

(3) Hanotiaux, G.A., Agressivitè Specifique des Plantes des Grandes Coltures vis-a-vis des Formes de Phosphore du sol, da Atti del Convegno GEMAS "Les Premieres Journees de l'Analyse de Terre", 1987

(4) Chang, S.C., Jackson, M.L. Fractionation of Soil Phosphorous, Soil Sci. 84: 133÷144, 1957

(5) Petersen, G.W., Corey, R.B., a Modified Chang and Jackson Procedure for Routine Fractionation of Inorganic Soil Phosphates, Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 30: 563÷565, 1966

(6) FAO, Soil Bullettin 38/1, 1980

(7) SISS, Metodi normalizzati di analisi del suolo, 1985

(8) UNICHIM, Metodi manuali per l'analisi dei terreni agrari, 1986

(9) A.A.V.V., The Role of Phosphorous in Agriculture, 1980

(10) A.A.V.V., Methods of Soil Analysis, 1965

(11) Jackson, M.L., Soil Chemical Analysis, 1958

(12) Cotton, F.A., Wilkinson, G., Chimica inorganica, 1973

(13) Duval, L., Sur le proprietes de la reaction ceruleo-molibdique de l'acide arsenique, Chimie

BIBLIOGRAFIA

(1) Perelli M., Guida alla concimazione, L'Informatore Agrario XLIII (2,4,6), 1987 - XLII (34), 1985

(2) OCDE, L'Agriculture face aux politiques d'utilisation du sol, 1976

(3) Hanotiaux, G.A., Agressivitè Specifique des Plantes des Grandes Coltures vis-a-vis des Formes de Phosphore du sol, da Atti del Convegno GEMAS "Les Premieres Journees de l'Analyse de Terre", 1987

(4) Chang, S.C., Jackson, M.L. Fractionation of Soil Phosphorous, Soil Sci. 84: 133÷144, 1957

(5) Petersen, G.W., Corey, R.B., a Modified Chang and Jackson Procedure for Routine Fractionation of Inorganic Soil Phosphates, Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 30: 563÷565, 1966

(6) FAO, Soil Bullettin 38/1, 1980

(7) SISS, Metodi normalizzati di analisi del suolo, 1985

(8) UNICHIM, Metodi manuali per l'analisi dei terreni agrari, 1986

(9) A.A.V.V., The Role of Phosphorous in Agriculture, 1980

(10) A.A.V.V., Methods of Soil Analysis, 1965

(11) Jackson, M.L., Soil Chemical Analysis, 1958

(12) Cotton, F.A., Wilkinson, G., Chimica inorganica, 1973

(13) Duval, L., Sur le proprietes de la reaction ceruleo-molibdique de l'acide arsenique, Chimie

Analytique, 51: 415÷424, 1969

(14) Ciesielki, H., Le dosage des ions phosphates en solution, da Atti del Convegno GEMAS "Les Premieres Journees de Analyse de Terre", 1987

(15) Pecsok, R.L., Shields, L.D., Modern Methods of Chemical Analysis, 1968

(16) K.P.Li, M. Dowling, T. Fogg, T. Yu, K.S. Yeah, J.D. Winefordner. A Dynamic Model for the Elucidation of a Mechanism of Analyte Transformation in an Inductively Coupled Plasma. Anal. Chem., 60: 1590÷1599, 1988

(17) K.P.Li, T. Yu, J.D. Hwang, K.S. Yeah, J.D. Winefordner Estimation of rate Constants Using Statistical Moments of Spatially Resolved Signal profile for the Elucidation of Analyte Transformation Mechanism in an Inductively Coupled Plasma. Anal. Chem., 60: 1599÷1605, 1988

TABELLA 1

PARAMETRI ANALITICI DEI METODI PROVATI

PESATA	METODO FOTOMETRICO	METODO DI EMISSIONE
Pesata (gr)	2.5	10
Volume solvente (ml)	50	50
Tempo di estrazione	30'	120'
Diluizione	5	10

TABELLA 2

DETERMINAZIONE DEL FOSFORO ASSIMILABILE. CONFRONTO TRA METODO FOTOMETRICO E METODO DI EMISSIONE A PLASMA.

CAMPIONE		METODO FOTOMETRICO		METODO DI EMISSIONE
1	M	3.08		3.00
	SD	0.084		0.707
	cv%	2.73		23.57
	t		0.251	
2	M	14.40		14.60
	SD	0.561		0.545
	cv%	3.89		3.73
	t		0.570	
3	M	15.36		16.20
	SD	0.313		1.095
	cv%	2.04		6.76
	t		2.046	
4	M	20.06		20.20
	SD	0.470		0.79
	cv%	2.34		3.91
	t		0.320	
5	M	32.60		33.60
	SD	1.027		1.516
	cv%	3.15		4.51
	t		1.221	

N.B.- Le medie per tutti i campioni sono ricavate da 5 ripetizioni. Valori in ppm
- $t_{95} = 2.306$

TABELLA 3

DETERMINAZIONE DEL FOSFORO ASSIMILABILE.
CONFRONTO TRA METODO FOTOMETRICO E METODO DI EMISSIONE A PLASMA.
CARATTERISTICHE DEI TERRENI USATI

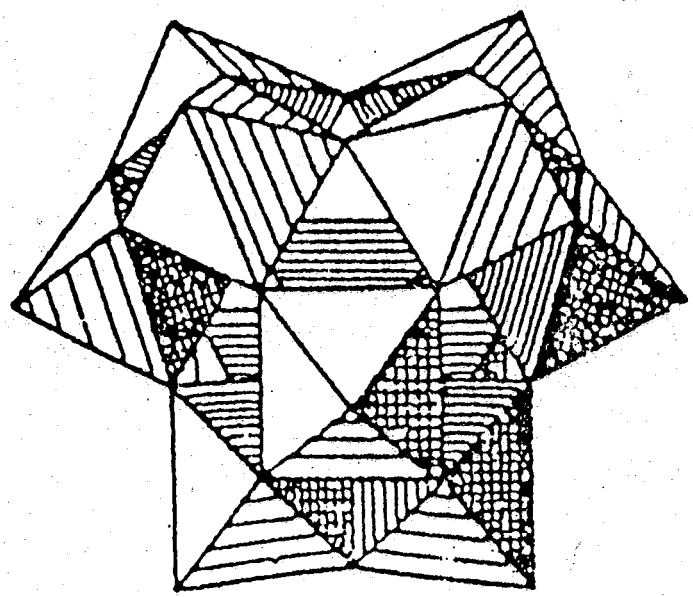
CAMP.	S %	L %	A %	pH	CALC. tot. %	CALC. att. %	S.O. %	P fotom. ppm	P plasma ppm
1	21	22	57	7.9	11.3	7.6	3.0	10.1	10
2	63	20	17	8.0	15.3	5.1	1.5	8.0	7
3	72	8	20	7.2	1.4	0.6	1.0	30.3	30
4	38	20	42	8.0	31.9	12.7	7.5	82.4	81
5	58	15	27	7.9	12.9	6.6	2.5	22.7	21
6	33	20	47	8.0	11.9	8.1	3.1	11.5	12
7	32	23	45	8.1	16.0	10.8	2.5	23.9	24
8	80	10	10	7.9	14.5	2.3	0.9	34.6	35
9	16	26	58	7.9	15.7	10.7	2.4	10.2	12
10	26	26	48	7.75	28.7	13.5	1.7	13.0	14
11	30	34	36	7.75	25.0	10.6	2.1	20.5	20
12	44	28	28	7.85	24.4	8.9	1.8	13.0	13
13	60	22	18	7.75	11.7	1.0	1.5	19.0	18
14	52	28	20	7.70	8.3	1.0	1.8	50.5	52
15	40	32	28	7.90	6.3	1.4	1.9	18.5	19
16	40	30	30	7.75	5.9	1.5	2.3	20.2	21
17	29	21	50	8.10	14.1	10.8	2.0	8.1	10
18	51	17	32	7.80	2.0	0.5	2.0	13.2	12
19	55	15	30	8.0	2.1	0.5	1.6	24.0	25
20	57	19	24	7.9	29.0	9.0	1.4	4.5	5

S = sabbia
L = limo
A = argilla

FIG. 1

STRUTTURA DELLA SERIE A DI 12 - MOLIBDO ETEROPOLIANIONI, DI FORMULA GENERALE

$(X^{N+} Mo_{12}O_{40})^{(8-N)-}$

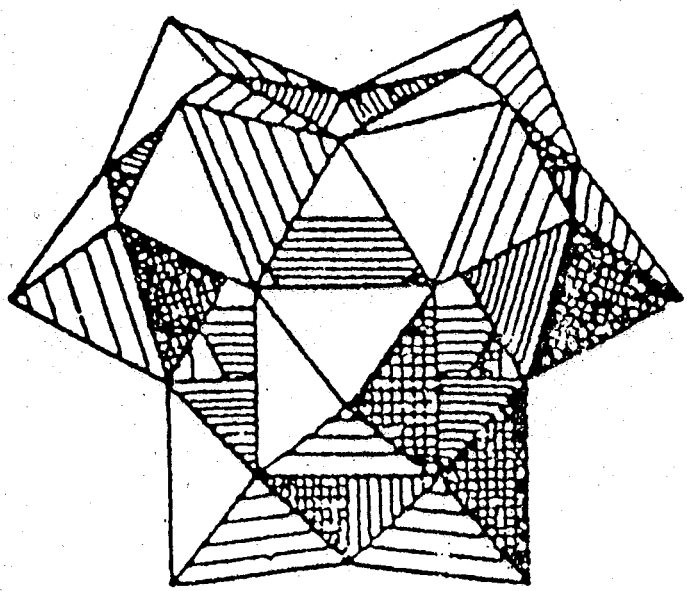


(F.A. COTTON - G. WILKINSON
CHIMICA INORGANICA)

FIG. 1

STRUTTURA DELLA SERIE A DI 12 - MOLIBDO ETEROPOLIANIONI, DI FORMULA GENERALE

$(X^{N+} M_{o12}O_{40})^{(8-N)-}$



(F.A. COTTON - G. WILKINSON
CHIMICA INORGANICA)

FIG. 2

CAMPO DI STABILITA' DEL COMPLESSO FOSFOMOLIBDICO (DUVAL 1969)

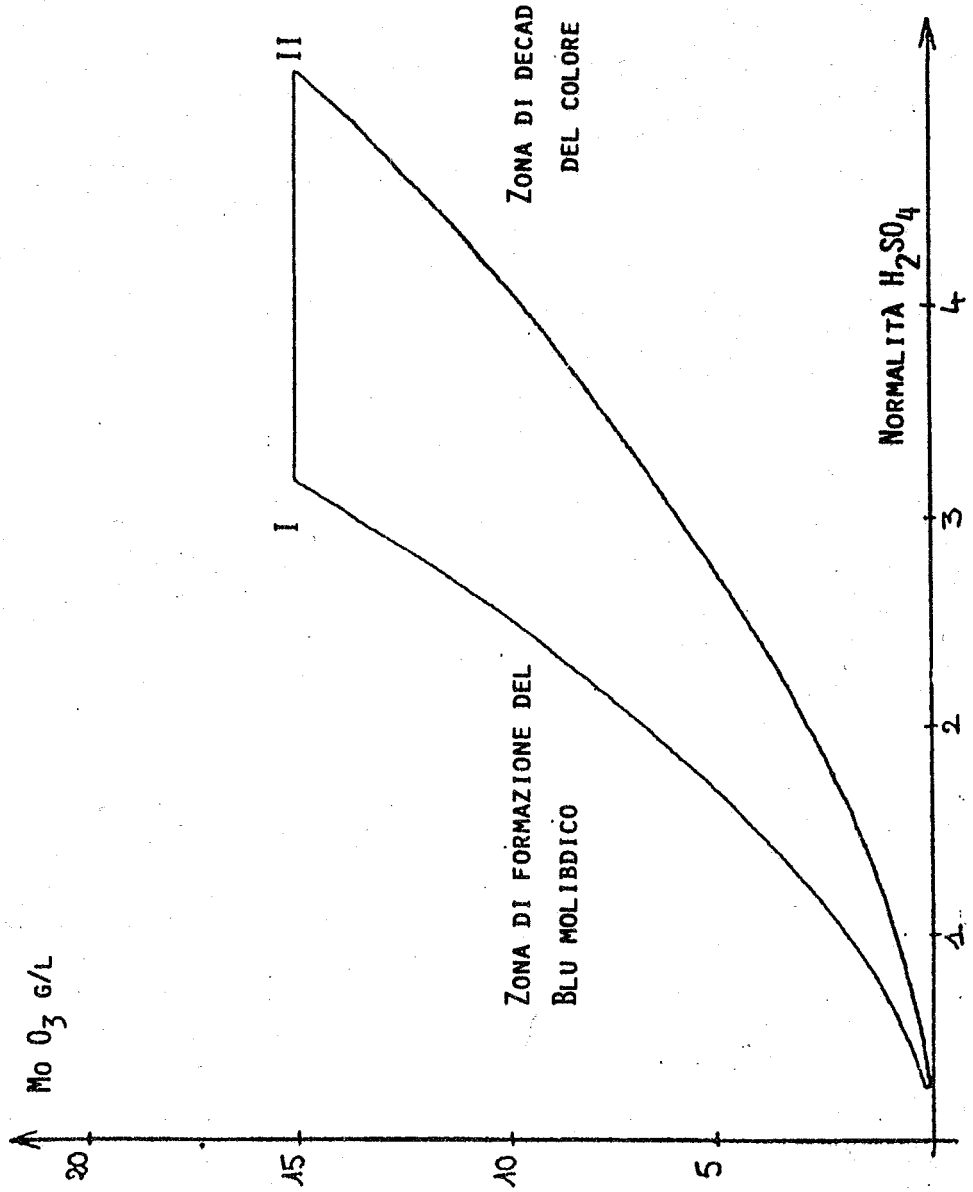


FIG. 3

INFLUENZA DEI DIVERSI TIPI DI RIDUCENTE SULLA FORMAZIONE DEL COMPLESSO "BLU FOSFOMOLIBDICO" IN AMBIENTE SOLFORICO

(DUVAL 1969)

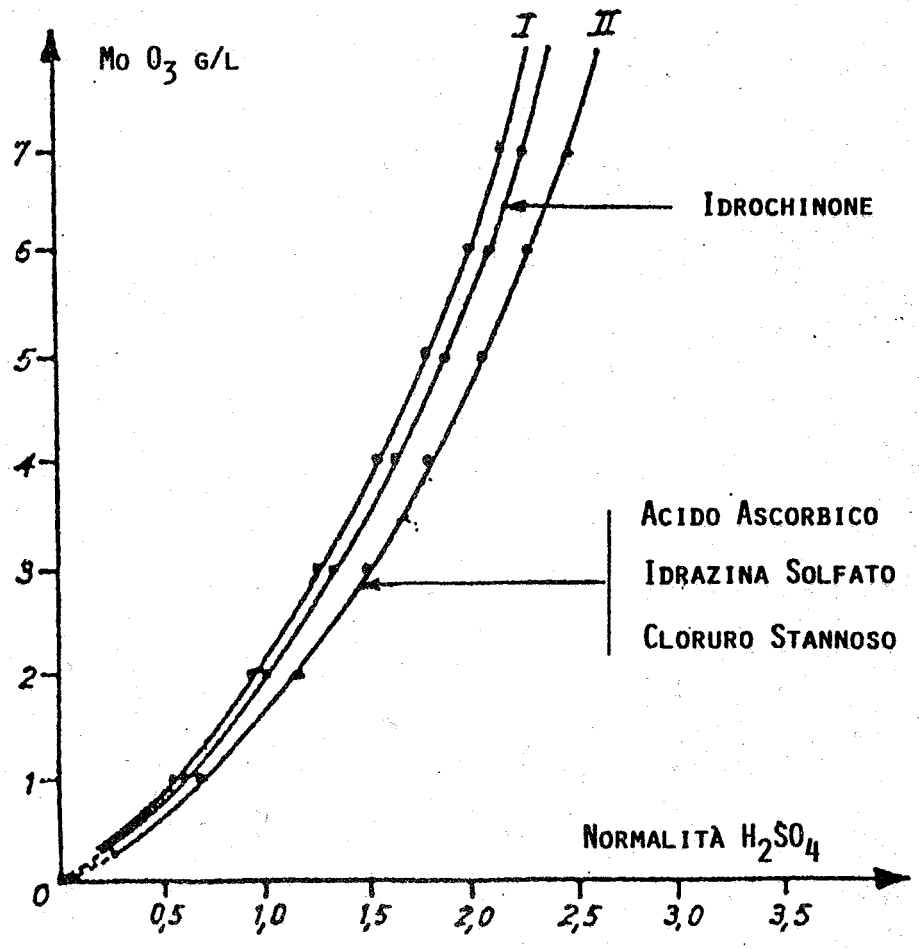


FIG. 4

INFLUENZA DEI DIVERSI TIPI DI RIDUCENTE SULLA FORMAZIONE DEL COMPLESSO "BLU FOSFOMOLIBDICO" IN AMBIENTE CLORIDRICO

(DUVAL 1969)

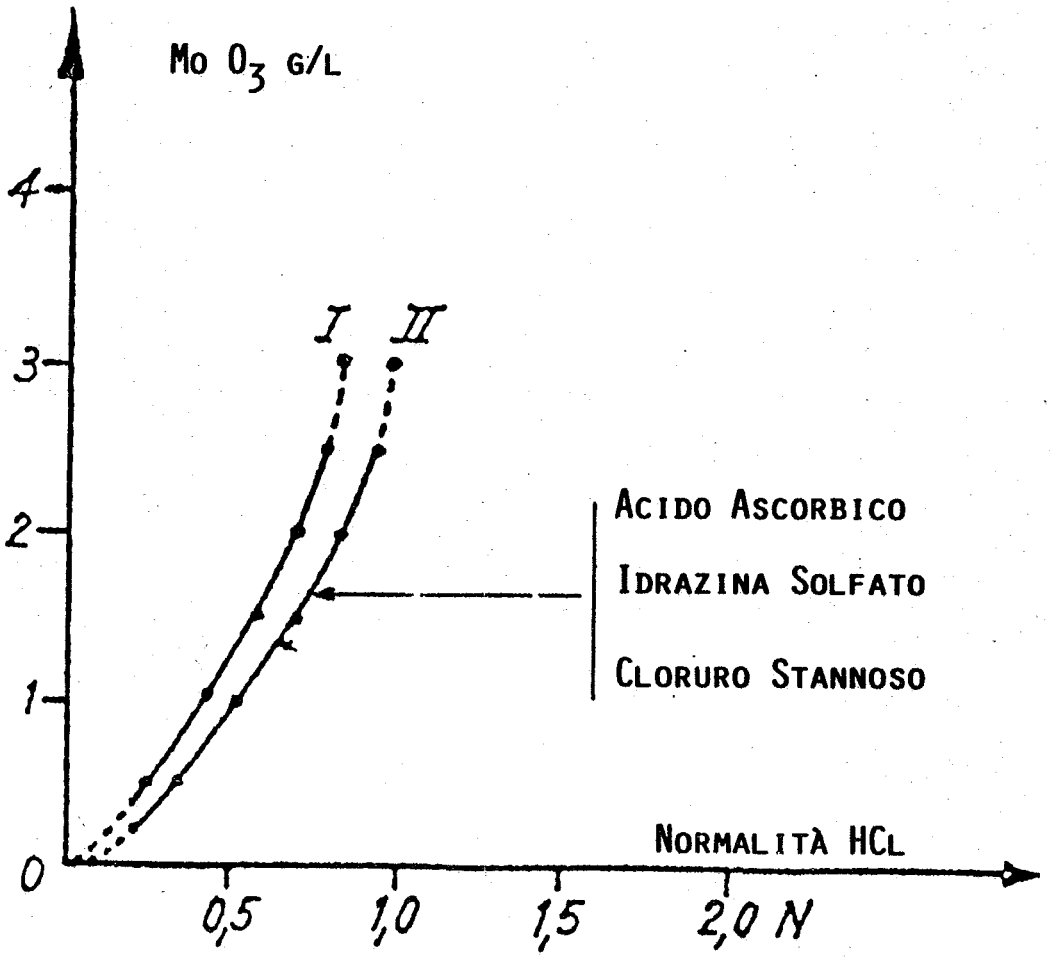


FIG. 5

INFLUENZA DELLA CONCENTRAZIONE DI FOSFORO SUL CAMPO DI STABILITA' DEL COMPLESSO FOSFOMOLIBDICO

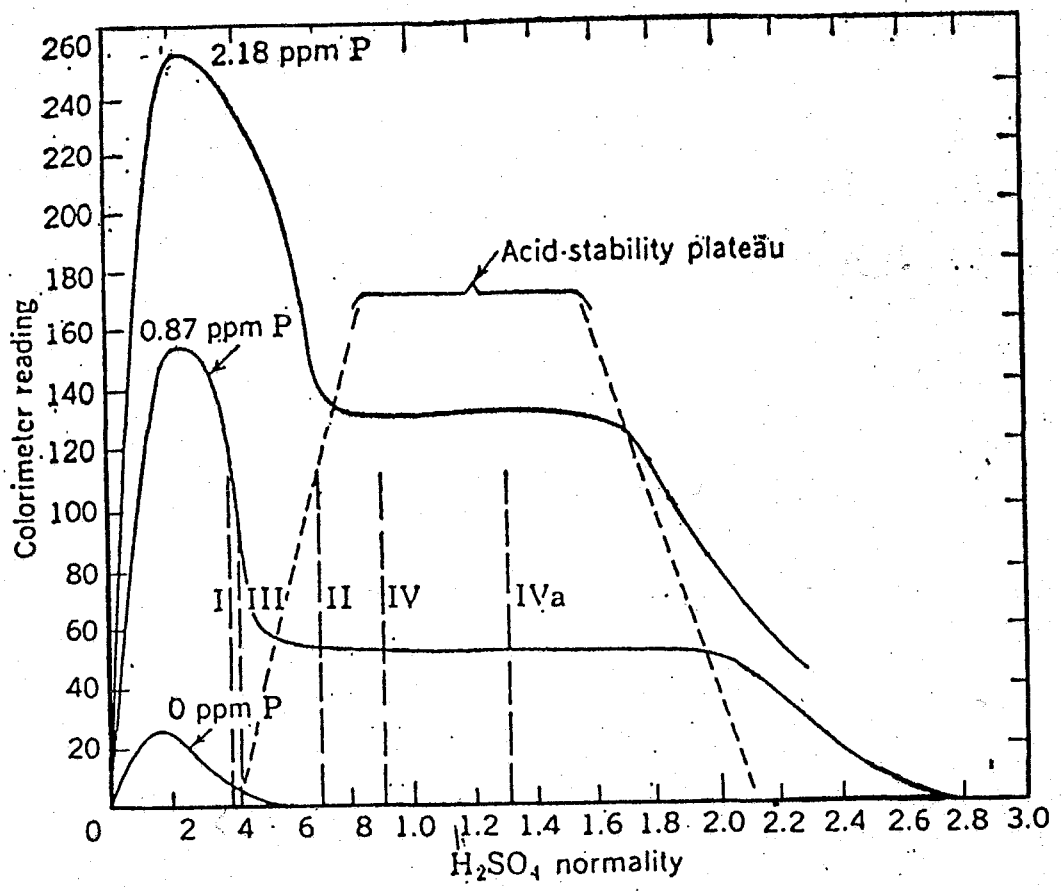
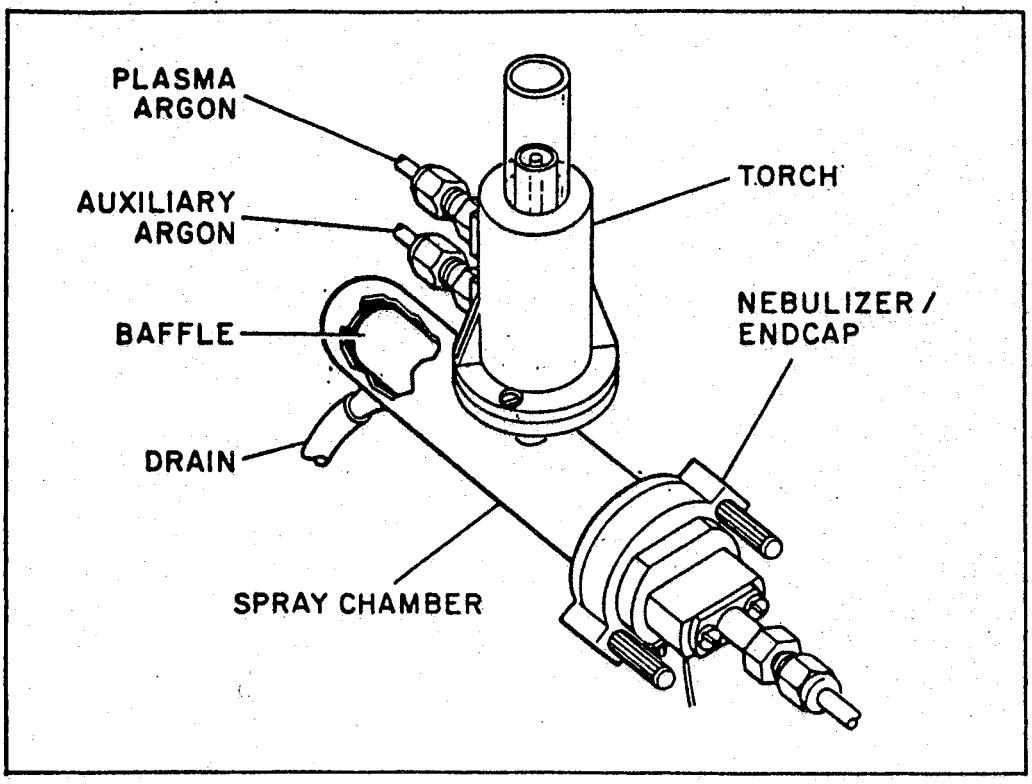


FIG. 6

SCHEMA DI TORCIA



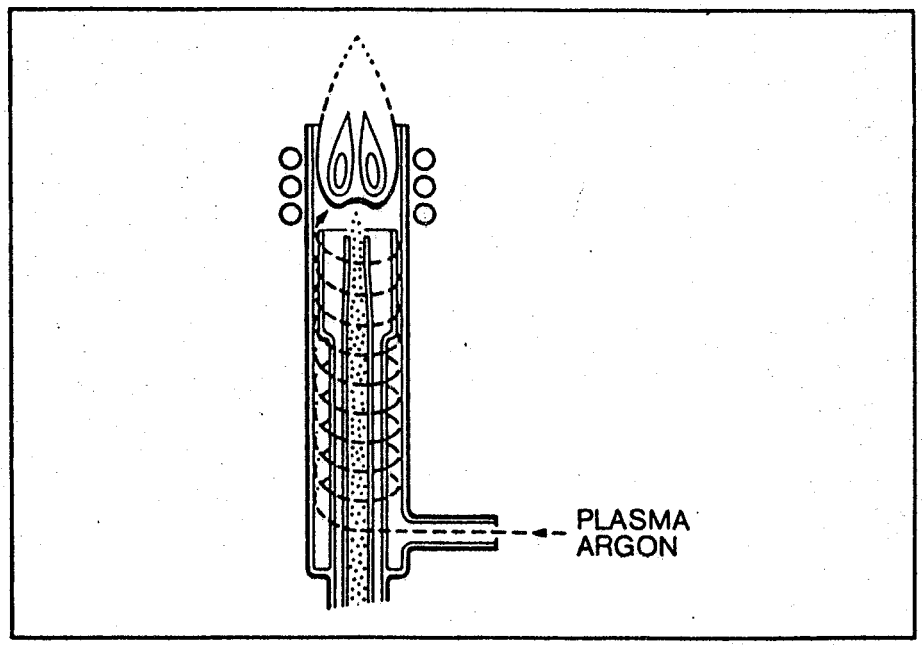
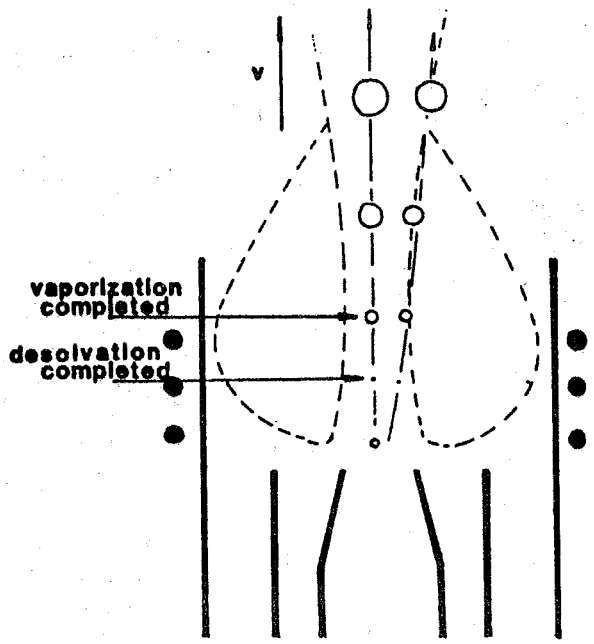


FIG. 7

SCHEMA DI MASSIMA DELLE REAZIONI AVENTI LUOGO ALL'INTERNO DEL PLASMA



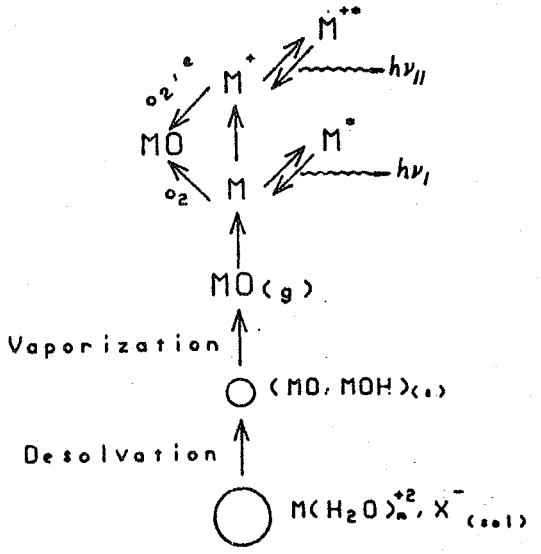
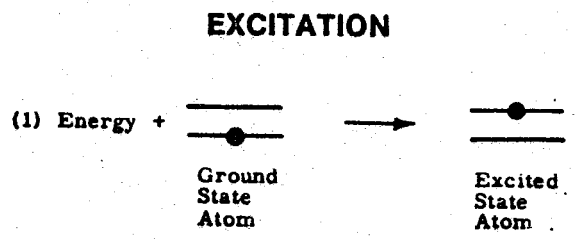
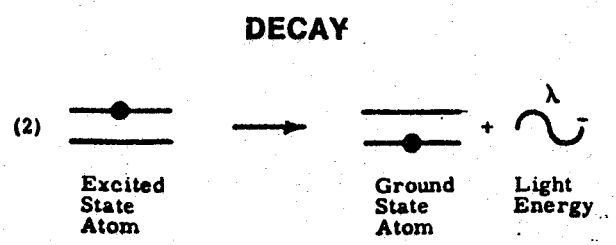


FIG. 8

SCHEMA DI MASSIMA DELLE TRANSIZIONI ELETTRONICHE CHE DETERMINANO EMISSIONE DI LUCE SPECIFICA





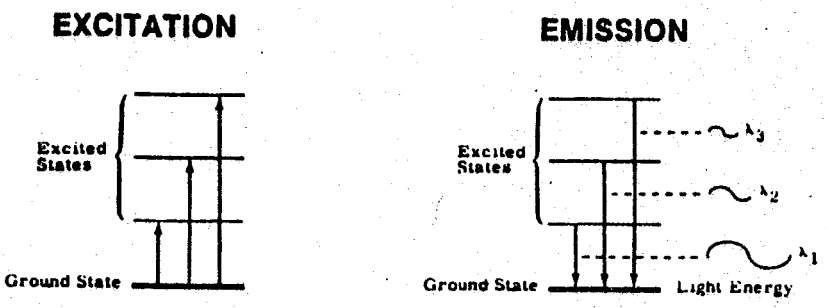


FIG. 9

SCHEMA DI MASSIMA DI UNO SPETTROMETRO ICP

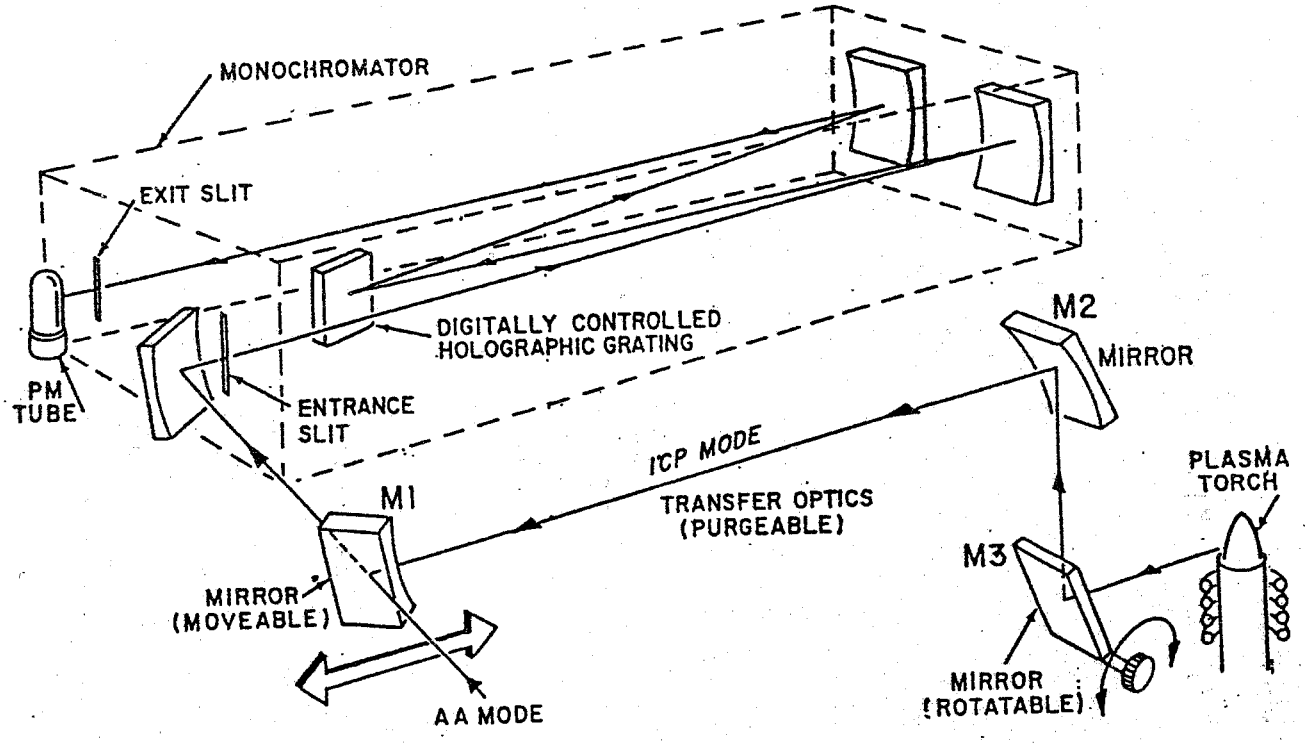
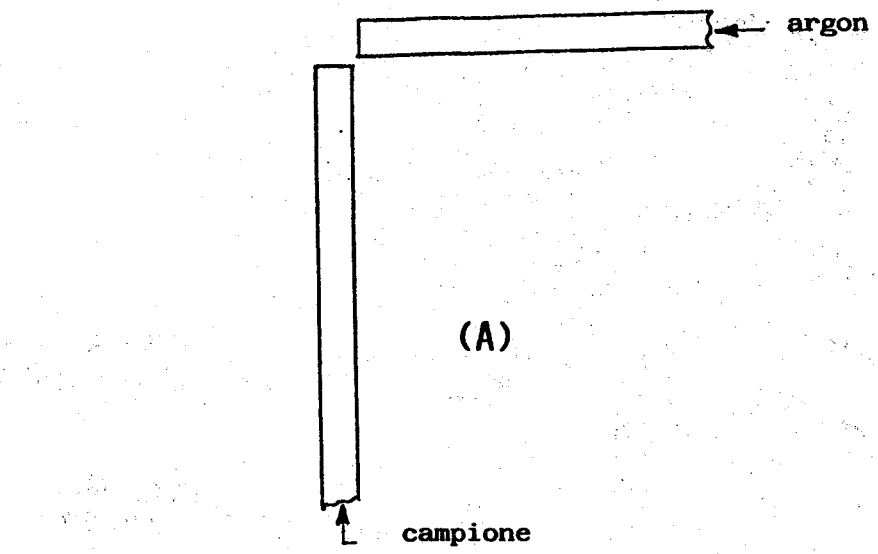


FIG. 10

SCHEMI DI MASSIMA DI NEBULIZZATORI PER ICP

A: NEBULIZZATORE CROSS-FLOW

B: NEBULIZZATORE BABINGTON



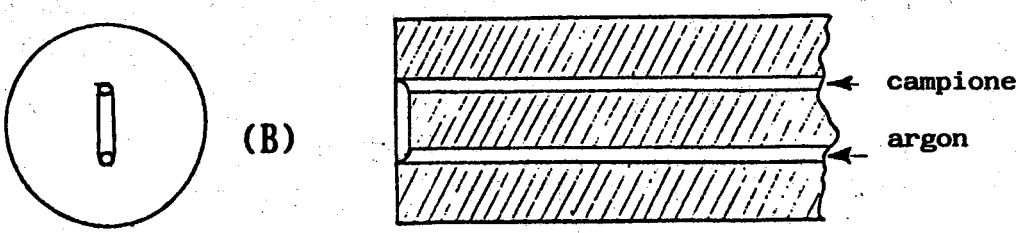
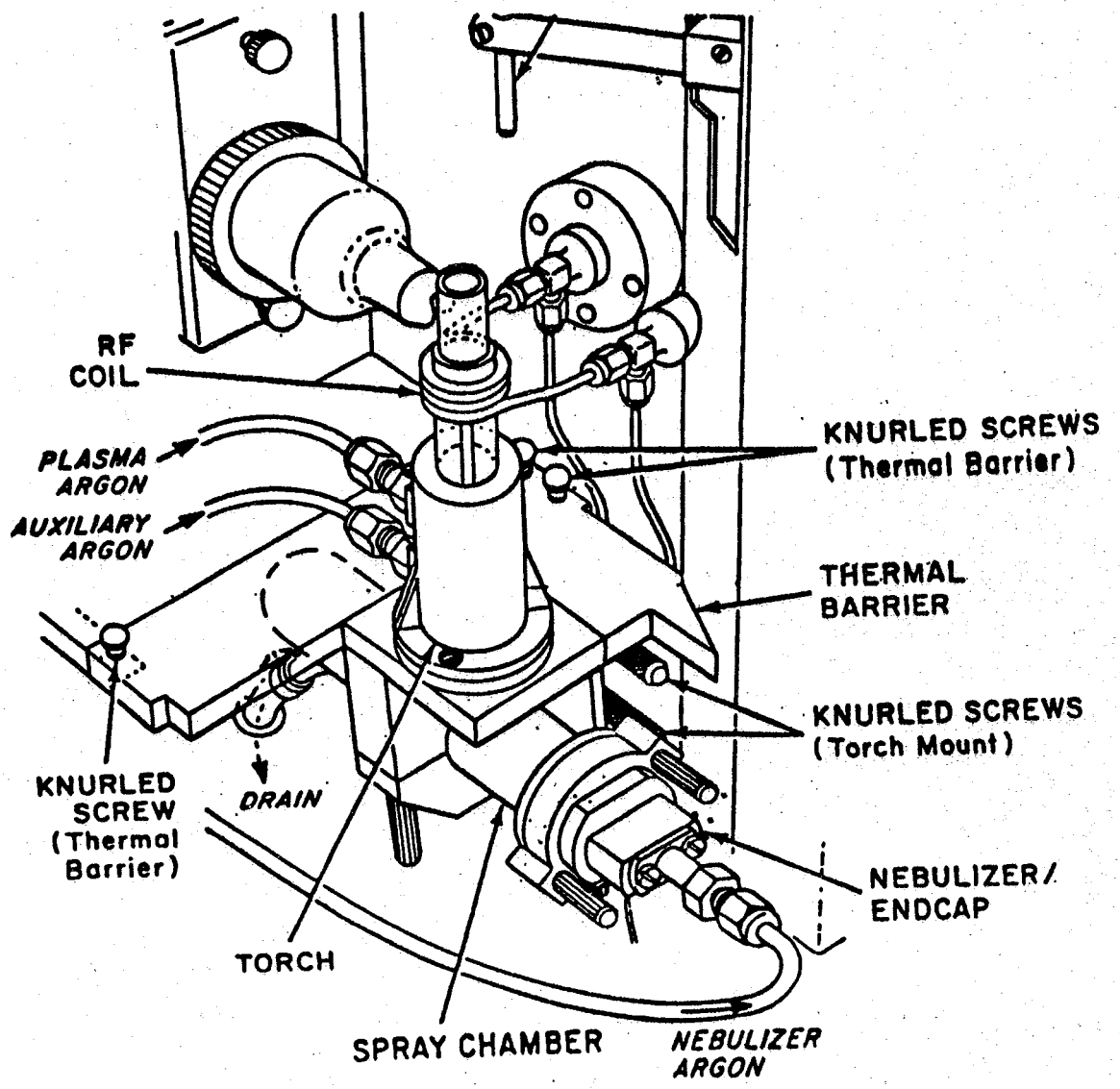


FIG. 11

SCHEMA DELL'APPARATO DI NEBULIZZAZIONE E TORCIA DI UNO SPETTROMETRO ICP



Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

LE ATTIVITA' ENZIMATICHE DEL SUOLO: ASPETTI TEORICI E PRATICI

Pacifico RUGGIERO
Istituto di Chimica Agraria - Universitá degli Studi
Via Amendola 165/a - 70126 - Bari

RIASSUNTO

L'enzimologia del suolo ha compiuto enormi progressi scientifici sia conoscitivi che applicativi. La complessitá del sistema in cui gli enzimi operano pone, tuttavia, problemi metodologici ed interpretativi non ancora risolti. L'attivitá di un enzima nel terreno risente di effetti microambientali ed é la risultante di attivitá che appartengono a categorie diverse. Un ruolo importante viene generalmente riconosciuto alla componente associata ai colloidi del suolo. Nella seconda parte, vengono discussi i problemi connessi alla misura dell'attivitá di un enzima del terreno e prospettate alcune possibili soluzioni.

SUMMARY

Soil enzyme research is progressing rapidly. However, the heterogeneity of the soil system imposes some difficulties in the measurement and interpretation of enzyme activities in soil. Enzymes in soil can be separated into a number of categories according to their location within the soil environment and it is apparent that a significant proportion of the enzymes in soil becomes associated with the soil colloids to form soluble and insoluble complexes. A study of the soil microenvironment suggests some rather specific consequences for enzyme activities. In the second part of the review, methodological problems are discussed and possible solutions proposed.

1. INTRODUZIONE

Il terreno é un sistema polifasico, assimilabile ad una entitá biologica, termodinamicamente aperto, in cui tutti i componenti molecolari si trovano in una situazione di non-equilibrio, sia rispetto alle reazioni chimiche che in esso possono compiersi, che ai complessi meccanismi coinvolti nella nutrizione degli organismi viventi. Le

condizioni di non-equilibrio sono fondamentali per il mantenimento della vita; la loro cessazione, ossia il raggiungimento dell'equilibrio, renderebbe il terreno un substrato inerte per i microorganismi e le piante. Lo svolgimento e la regolazione adeguata dei processi di trasformazione che avvengono nel terreno appaiono, pertanto, aspetti fondamentali del ciclo di tutti gli elementi nutritivi del suolo. Tralasciando gli aspetti termodinamici di tali processi, il loro svolgimento in funzione del tempo, cioé la cinetica, avverrebbe con estrema lentezza se non intervenissero atomi, molecole e ioni, con specifiche funzioni di catalizzatori, ad accelerare le reazioni da migliaia fino a qualche miliardo di volte, con una efficienza quindi molto elevata. Alcune trasformazioni sono non-biologiche e coinvolgono diversi catalizzatori chimici e fisici. Quelle biologiche, certamente le piú importanti dal punto di vista quantitativo, richiedono l'intervento di catalizzatori biologici, gli enzimi, che regolano da un punto di vista cinetico i processi biochimici nel suolo mediati dai microorganismi, dalle radici delle piante e dagli animali.

2. RUOLO DEGLI ENZIMI NEL TERRENO

Negli ultimi quindici anni, numerosi ricercatori hanno manifestato un grande interesse verso lo studio delle attivitá degli enzimi del terreno, come del resto dimostrato dalla pubblicazione di numerosi articoli scientifici e di prestigiose reviews (Sequi,1974; Kiss e coll.,1975; Skujins,1976; Burns,1978,1982,1986; Mayaudon,1986); di conseguenza, nell'ambito della biologia del suolo, ha preso consistenza e dimensione proprie l'enzimologia del suolo rivolta allo studio dei processi biochimici nei terreni. Tali processi coinvolgono i residui organici di origine vegetale, microbica ed animale che sono depositati o rilasciati nel terreno, oltre naturalmente tutte quelle sostanze xenobiotiche derivanti dall'impiego sempre piú massiccio di prodotti chimici in agricoltura e dalla presenza nel terreno di inquinanti industriali.

Una stima delle quantitá, invero enormi, che annualmente pervengono al terreno non é facile. Il contributo di sostanza organica offerto dai resti vegetali, certamente, fra tutti, quello quantitativamente piú significativo, é variabile in misura notevole a seconda della specie e della etá della vegetazione, del tipo di terreno, del clima. In generale, vengono riportati valori compresi fra 0.5 e 15 tonn ha^{-1} (Williams e Gray,1974; Stout e coll.,1981). I risultati relativi agli apporti di biomassa microbica per anno indicano valori fra 0.17 e 2.24 tonn ha^{-1} (Jenkinson e Ladd,1981), mentre relativamente piú modesti (< di 0.1 tonn ha^{-1}) sono i contributi offerti dalla fauna del suolo. Ovviamente i livelli di sostanza organica nel suolo non sono solo determinati dagli apporti di substrato, ma anche dalla velocitá della sua degradazione, funzione a sua volta di numerosi fattori (po-

polazione microbica, tipo di terreno, clima, natura del substrato). L'aspetto che, meglio di ogni altro, esalta il ruolo degli enzimi del terreno, é l'intervento essenziale nel rendere disponibili gli elementi nutritivi indispensabili alla vita dei microorganismi. Il terreno é considerato un ambiente sfavorevole per l'attivitá microbica con bassi nutrienti disponibili, livelli di idratazione ed areazione variabili e pH fluttuanti. Di conseguenza, la competizione fra i microorganismi é notevole ed intense sono le strategie di sopravvivenza sviluppate. I microorganismi fanno affidamento sulla attivitá dei propri enzimi extracellulari per procurarsi carbonio ed azoto solubili e l'energia. Infatti, la maggior parte del carbonio e dell'azoto organico che giunge al terreno é di natura polimerica e poco solubile e come tale non disponibile per l'assimilazione cellulare fino a quando depolimerasi microbiche non ne abbiano ridotto la massa molecolare catalizzando una serie di trasformazioni chimiche.

Pertanto, i significativi progressi compiuti nella comprensione dello stato e del ruolo degli enzimi nel suolo tendono certamente a riconsiderare il significato che in epoche passate veniva attribuito alle attivitá enzimatiche del terreno, cioé quello di indice della sua fetilitá, significato costruito sulle numerose osservazioni empiriche della distribuzione orizzontale e lungo il profilo in terreni diversi degli enzimi rispetto alle concimazioni, alle pratiche agronomiche, alle risposte ai fattori ambientali e climatici. I risultati contradditori e confusi che tali osservazioni hanno prodotto e la mancanza di appropriate metodologie, hanno certamente reso indefinita la relazione fra gli enzimi e la fertilitá del terreno.

Anche se é difficile correlare le attivitá enzimatiche con la fertilitá, é tuttavia evidente che gli enzimi rappresentino uno dei numerosi fattori che influenzano la produttivitá del terreno. Misure di una specifica attivitá enzimatica possono dare un contributo essenziale alla comprensione dei processi metabolici delle sostanze umiche o del ciclo di alcuni elementi nutritivi. Per esempio, nel ciclo dell'azoto appare importante la misura della attivitá proteolitica o quella della ureasi che potrebbe limitare l'azoto disponibile per le piante proveniente dai concimi o da fonti naturali. L'attivitá fosfatasica é correlata con la disponibilitá di fosfato, mentre l'attivitá della cellulasi e di altre polisaccarasi potrebbe essere posta in relazione con la velocitá di decomposizione delle lettiere e quella della deidrogenasi con l'attivitá biologica del suolo. Un sempre maggior interesse applicativo hanno le interazioni di enzimi con pesticidi e loro metaboliti (Cervelli e coll.,1978; Sjoblad e Bollag,1981), di grande importanza nel controllo dei processi di detossificazione ambientale, e l'influenza dell'inquinamento da metalli (Tabatabai,1977; Frankenberger e Tabatabai,1981; Stott e coll.,1985) e della salinitá (Frankenberger e Bingham,1982) sulle attivitá enzimatiche del suolo.

3. COMPONENTI DELLA ATTIVITA' ENZIMATICA EXTRACELLULARE DEL TERRENO

L'attività enzimatica di un particolare enzima (per esempio, ureasi) o di un gruppo di enzimi (per esempio, deidrogenasi o glucosidasi) nel terreno è di norma la risultante di attività che appartengono a categorie diverse, individuabili con relativa semplicità ma distinguibili sperimentalmente con non poche difficoltà. Tali categorie sono state descritte ampiamente da Burns (1982) e sommariamente sono:

a) Enzimi associati a cellule viventi, attive dal punto di vista metabolico. Essi possono essere citoplasmatici, periplasmatici, legati alla parete cellulare o extracellulari in sensu strictu, cioè secreti nella fase acquosa del terreno durante la normale crescita cellulare. Appartengono a questa categoria importanti idrolasi che partecipano ai cicli del carbonio e dell'azoto.

b) Enzimi associati a cellule vitali ma non proliferanti, quali cellule vegetative in riposo, endospore batteriche, spore fungine, cisti protozoiche ed anche semi di piante.

c) Enzimi temporaneamente associati a substrati esogeni in complessi enzima-substrato solubili o insolubili.

d) Enzimi associati a cellule prive di vita, intere, a frammenti cellulari o diffusi nella fase acquosa del terreno da cellule morte e lise.

e) Enzimi che sono più o meno permanentemente immobilizzati sui colloidi inorganici ed organici del terreno. Di tale componente enzimatica se ne discuterà l'importanza tra breve.

Gli enzimi di regola possono appartenere a più di una delle categorie elencate e, con il trascorrere del tempo, passare da una categoria all'altra. Non deve sorprendere, pertanto, se uno dei problemi di maggiore difficoltà interpretativa in enzimologia del terreno è la distinzione fra le varie categorie di enzimi sopra descritti. Alcuni pretrattamenti del campione di terreno, saggi enzimatici opportunamente modificati, l'analisi di soluzioni di estrazione e, come vedremo, lo studio di complessi argilla-enzima e humus-enzima naturali e sintetici, offrono alcune utili indicazioni. Per esempio, l'aggiunta alla miscela di reazione di un inibitore microbiologico elimina l'attività dovuta a nuovi enzimi prodotti da cellule proliferanti, mentre la distruzione degli enzimi liberi nella fase acquosa può essere ottenuta asciugando all'aria terreni umidi in campo o sottoponendo il terreno ad irradiazione con radiazioni ad alta energia (Burns e coll., 1978). Non mancano tuttavia effetti collaterali che rendono il metodo scelto poco affidabile. E' stato dimostrato, per esempio, che il toluene, l'inibitore microbiologico più ampiamente utilizzato, in alcuni gruppi di microorganismi si comporta da agente plasmolitico, determinando il rilascio di enzimi intracellulari e che gli enzimi extracellulari hanno una diversa sensibilità alla irradiazione rendendo il dosaggio molto critico (Skujins,1976). Ulteriori informazioni sulla localizzazione dei diversi enzimi possono essere ricavate dagli

estratti grezzi di terreno (Burns e coll.,1972; Pettit e coll.,1977). In funzione delle tecniche di estrazione utilizzate, si otterranno frazioni prive di cellule microbiche, o di detriti cellulari o di materiale inorganico. Tuttavia, l'attività estratta è in genere bassa (<20%) in confronto a quella misurata nel terreno originale ed assume pertanto una significatività ridotta.

4. I COMPLESSI ARGILLA- ED HUMUS-ENZIMA

Da questa breve premessa, risulta evidente che la misura della attività enzimatica in un ambiente eterogeneo, quale il terreno, comporti scelte metodologiche che si rivelano essenziali per la successiva interpretazione dei risultati. Tuttavia, sulla base di tutta una serie di evidenze sperimentali (Ladd e Butler,1975; Ruggiero e Radogna,1984; Burns,1986; Dick e Tabatabai,1987), è possibile affermare che la maggior parte degli enzimi nel terreno appartengono all'ultima delle 5 categorie in precedenza elencate, e cioè che essi formano complessi stabili con minerali argillosi e sostanze umiche e sono parte di una persistente capacità enzimatica extracellulare del terreno, indipendente dalla attività microbica esistente.

Il significato biologico della componente enzimatica immobilizzata dai colloidi nel suolo è difficile da cogliere. Un gran numero di enzimi sono attivi in terreni sterili e in estratti di terreno (Ladd, 1978) e si ha motivo di ritenere che le cellule microbiche vitali contribuiscano solo in piccola parte alla attività totale di molti enzimi. La mancanza di una correlazione positiva fra numero totale di microorganismi ed attività enzimatica o la trascurabile riduzione della attività conseguente all'impiego durante il saggio di un agente biocida, sono elementi che concorrono a stabilire distinzioni fra le diverse attività di uno stesso enzima. Inoltre, i tempi di risposta degli enzimi immobilizzati verso i relativi substrati sono probabilmente più rapidi rispetto a quelli degli enzimi associati a cellule vitali, i quali possono richiedere una fase di induzione prima della produzione dell'enzima e della degradazione del substrato. Per esempio, la degradazione di malathion è determinata da una esterasi specifica extracellulare associata a materiale umico. In assenza del complesso humus-enzima, la degradazione microbiologica avviene soltanto dopo una lag fase di 3-4 giorni (Gibson e Burns,1977; Burns e Edwards,1980). Analogamente, la rapida idrolisi di urea nel terreno è dovuta alla presenza di ureasi extracellulare immobilizzata, anche se i microorganismi ureolitici sono abbondanti nella maggior parte dei terreni. Pertanto, sembra che in molti casi la microflora del terreno assuma un ruolo secondario nella capacità di esso a trasformare rapidamente un determinato substrato. Infatti, i microorganismi possono rimanere dormienti a meno che i livelli di substrato non siano elevati o fino a quando non vengano stimolati da una molecola effettore prodotta dalle attività di enzimi immobilizzati.

Tuttavia, le prove più convincenti sulla esistenza di una consistente frazione enzimatica immobilizzata sono fornite dagli studi sul terreno tal quale, sulle soluzioni di estrazione ricche di sostanza organica, sulle interazioni fra minerali argillosi ed enzimi e sostanze umiche ed enzimi e sulla caratterizzazione delle proprietá degli enzimi in accordo ai classici principi di enzimologia. In altri termini é necessario studiare la cinetica della reazione, misurare il tempo di vita e la stabilitá alla temperatura, alla proteolisi, ai solventi; determinare i profili pH- e temperatura-attivitá. In assenza di tali verifiche, alcune attivitá potrebbero erroneamente essere attribuite all'azione di enzimi immobilizzati, mentre nella realtá potrebbero avere una origine abiotica. Le prove dirette ed indirette dimostrano che gli enzimi extracellulari sono rapidamende assorbiti dalle superfici argillose ed organiche e ció potrebbe anche determinare una parziale o addirittura totale perdita di attivitá. I fattori che determinano gli aspetti quantitativi delle interazioni fra l'enzima ed il supporto solubile o insolubile, l'attivitá residua e la sua stabilitá sono diversi e dipendono dalle proprietá dei singoli componenti che interagiscono (tra i quali: tipo di minerale argilloso e di colloide umico, natura degli ioni di scambio e loro idratazione, punto isoelettrico e massa molecolare dell'enzima), dai diversi meccanismi fisici e chimici che determinano l'associazione (intrappolamento fisico, scambio ionico, legame idrogeno, forze di Van der Waals), dalle proprietá (pH e composizione ionica) del microambiente in cui tali associazioni si attuano.

Nel considerare quella componente enzimatica del suolo relativamente stabile di fronte ai fattori di denaturazione fisica e chimica, é necessario citare enzimi in forma di glicoproteine, la cui origine nel terreno e l'apparente stabilitá , in un ambiente in cui sia i polisaccaridi che le proteine sono rapidamente catabolizzate, sono state di recente discusse da Mayaudon (1986). La parte proteica enzimaticamente attiva é di origine fungina ed é covalentemente legata ai carboidrati formatisi dalla parziale idrolisi di lipopolisaccaridi batterici. Il processo fisico di associazione é tale da inglobare l'enzima in vescicole che lo proteggono dall'attacco proteolitico di altri enzimi. La struttura nel suo complesso sarebbe quindi stabilmente immobilizzata sulle superfici dei colloidi umici attraverso ioni Ca. Infatti, se campioni di terreno vengono trattati con soluzioni di acido etilendiamminotetracetico, che forma complessi stabili con il calcio, il complesso enzimatico glicoproteico é estraibile.

5. STUDIO DELLE ATTIVITA' ENZIMATICHE DEL TERRENO

Tutte le forme di vita del terreno ed i suoi componenti inanimati, rappresentano sistemi che in natura sono altamente integrati, nei quali complesse e dinamiche interazioni sono continuamente in atto. I microbiologi con uno specifico interesse nella ecologia dell'ecosi-

stema agricolo sono divisi in due gruppi: coloro che ritengono che le conoscenze debbano essere acquisite da studi condotti in situ; e quelli che attribuiscono agli esperimenti condotti in laboratorio, in condizioni attentamente controllate, la fonte di informazione piú importante. Si tratta di due filosofie che, pur partendo da approcci metodologici molto diversi, appaiono, nella ricerca moderna, complementari piú che distinte. E' evidente che nel terreno una comunitá di cellule con proprie caratteristiche metaboliche opera in un microambiente le cui proprietá fisiche e chimiche non sono acquisibili da uno studio di pieno campo per la indisponibilitá , ancora oggi, di adeguate tecniche di indagine. Si comprende, pertanto, come il prelievo ed il trasferimento di un campione di terreno al laboratorio rappresenti spesso una necessitá piú che una "esemplificazione" scientifica. Il campionamento per sua stessa natura distruttivo di un habitat che si intende studiare in vitro, é una contraddizione solo apparente in quanto lo sviluppo di un determinato argomento parte da una fase di analisi, in cui le variabili sono attentamente controllate, ed attraverso una fase di sintesi, in cui singole osservazioni si combinano per fornire una visione piú realistica, arriva a studiare sistemi complessi, anche con l'aiuto di una modellistica sempre piú accurata e con l'applicazione di sofisticati sistemi di calcolo.

Alcune riflessioni sulla fase di campionamento appaiono tuttavia necessarie. E' comune pratica nello studio della biologia e della biochimica del suolo raccogliere campioni senza porre grande attenzione alla loro localizzazione nel profilo del terreno. In laboratorio, dopo rimozione dei residui vegetali e di eventuale macrofauna, i campioni vengono omogeneizzati, setacciati, asciugati all'aria. Il risultato di ció é che il terreno per scopi sperimentali assume una omogeneitá artefatta, non naturale. Pertanto, le misure quali, per esempio, la percentuale di C organico, la capacitá di scambio cationica, la carica microbica vitale, o l'attivitá fosfatasica, rappresenteranno risultati medi di un numero di ambienti estremamente diversi all'interno del profilo del terreno. Una indagine del profilo di un suolo rivela che in realtá esso ha una complessa eterogeneitá spaziale. Pertanto la stima delle attivitá enzimatiche, come del resto di quelle microbiche, e le proprietá chimico-fisiche varieranno a seconda di quale orizzonte sia stato campionato. Ciascun orizzonte é ovviamente diverso; una differenza manifestata dal diverso contenuto di sostanza organica, dalla tessitura, dal contenuto di acqua e di nutrienti, da differenze nella fase gassosa e cosí via, e determinata da fattori macroecologici quali il clima, la copertura vegetale e la composizione della roccia madre. Perció a breve distanza (1 o 2 metri) esistono ambienti molto diversi per attivitá biologica.

Un approccio sperimentale alla microbiologia ed alla biochimica del suolo applicata, basato sulla conoscenza della discontinuitá entro un profilo, potrebbe soddisfare alcune esigenze specifiche. Per

esempio, potrebbe essere utile conoscere la capacitá di un terreno, a varie profonditá , a degradare la sostanza organica, a solubilizzare gli elementi nutritivi, a distruggere un potenziale inquinante, a ritenere un concime. Potrebbe anche essere possibile condurre questo tipo di indagine in situ, favorendo cosí le tesi di coloro i quali ritengono che gli studi di maggior utilitá siano quelli condotti in campo. Tuttavia, un tale approccio non tiene conto dei numerosi microambienti nei quali i microorganismi dimorano (Burns,1986). La presa di coscienza dell'esistenza del microambiente richiede conoscenze dell'ambiente terreno in cui i gradienti sono misurati non in metri (profili), né in centimetri (orizzonti) o anche millimetri (aggregati), ma in micro- e nanometri.

6. IL MICROAMBIENTE TERRENO

Un tipico microambiente nel suolo é costituito da una fase solida, costituita dai colloidi argillosi ed organici, di carica prevalentemente negativa ed elevata area superficiale; da una fase acquosa, nella quale l'acqua assume stati fisici diversi e contiene un gran numero di soluti organici ed inorganici; una fase gassosa di composizione variabile; una microflora comprendente principalmente batteri e funghi che trasportano una carica variabile ma di segno nel complesso negativo; interfacce solido/liquido e liquido/gas che manifestano caratteristiche distinte e proprie. Le diverse fasi ed interfacce elencate non hanno dimensioni e proprietá costanti nel tempo e nello spazio.

Gli effetti che un tale microambiente procura sulle attivitá enzimatiche del terreno sono di varia natura. Le superfici colloidali argillose ed organiche attraggono, e pertanto concentrano, numerosi cationi organici i quali sono potenziali substrati, o inibitori, o attivatori, dell'attivitá enzimatica e non sono piú liberamente diffusibili nella fase acquosa. Viceversa, gli anioni organici generalmente vengono respinti dalle superfici colloidali ponendo problemi di ordine opposto. Una delle proprietá peculiari del microambiente del terreno é quella dovuta all'accumulo di protoni sulle superfici organiche ed argillose, la cui conseguenza si traduce in un pH interfacciale che puó essere da 2 a 3 unitá piú basso di quello nella fase liquida ad appena 100 nm di distanza. L'instaurarsi di gradienti di pH influenza l'attivitá enzimatica sia in conseguenza di una maggiore o minore dissociabilitá dei substrati e disponibilitá di eventuali cofattori, sia in termini di velocitá di interazione enzima-substrato che risulterá diversa sulle superfici acide in confronto con quella riscontrabile ad una certa distanza dalla superficie. Naturalmente, in questo contesto eserciteranno una influenza maggiore quei colloidi argillosi ed organici piú dilatabili e che presentano pertanto estese aree superficiali esterne ed interne a carica elevata (Tab.1). Comunque, al di lá degli effetti che il microambiente esercita sui substra

Tabella 1. Alcune proprietá dei minerali argillosi e delle sostanze umiche del terreno (Burns, 1986).

Tipo di colloide	Natura	Dilatabilitá	Area superficiale (m^2g^{-1})	CSC ($\mu eq\ g^{-1}$)
Caolinite	1:1	non-dilatabile	10-50	20-100
Vermiculite	2:1	dilatabile	500-750	1200-2500
Smectiti	2:1	dilatabili	700-800	600-1300
Sost. umiche	-	dilatabili	500-800	2000-7500

ti, sul pH e sulla forza ionica del mezzo, vi é l'interazione diretta che i colloidi inorganici ed organici hanno con gli enzimi, con formazione di complessi argilla- ed humus-enzima a cui va attribuita una larga parte delle attivitá enzimatiche del suolo.

7. PROBLEMI CONNESSI ALLA MISURA DELLE ATTIVITA' ENZIMATICHE DEL TERRENO

Da tutte le considerazioni in precedenza riferite, risulta abbastanza evidente che la misura delle attivitá enzimatiche nel terreno e la loro interpretazione sono non sempre agevoli e non prive di difficoltá . Non sorprende, di conseguenza, se talora per il saggio di uno stesso enzima siano stati adottati nei diversi laboratori metodi diversi o se un metodo messo a punto in un dato laboratorio non sia riproducibile in un altro, localizzato in un'altra parte del mondo. L'eterogeneitá del terreno, individuabile sia in termini biologici che mineralogici e geografici, rende abbastanza comprensibile tale apparente anomalia.

E' necessario, tuttavia, operare scelte che diano la maggiore garanzia interpretativa sulla base della vasta esperienza nel settore ormai maturata. Un problema ricorrente e fondamentale é l'attinenza fra le determinazioni in vitro e quelle in situ, o anche in laboratorio su campioni attentamente prelevati e trasportati in modo da ridurre al minimo le alterazioni dell'ambiente naturale. Ormai il punto di vista predominante in enzimologia del suolo é che, ogni qual volta sia possibile, vengano adottati i procedimenti nel rispetto dei principi classici di enzimologia. Di conseguenza, i saggi sono normalmente condotti in un tampone di forza sufficiente a bilanciare e mantenere il pH ottimale per tutta la durata del saggio, ad una temperatura costante, in presenza di un eccesso di substrato ed in agitazione per un periodo di tempo ben stabilito. Tuttavia, queste condizioni sono ovviamente diverse da quelle esistenti nell'ambiente naturale, in cui il pH puó essere diverso da quello ottimale per un particolare enzima e la concentrazione di substrato quasi mai in eccesso ma anzi discontinua sia nel tempo che nello spazio. I substrati, inoltre, sono spes

so fisicamente o chimicamente associati con materiale organico poco solubile e con frazioni inorganiche solide. Queste ed altre differenze rendono pertanto diverse le attività enzimatiche ottenute in laboratorio in condizioni ben definite tali da esprimere la massima attività potenziale dell'enzima, da quelle esistenti nel terreno. E' difficile, se non impossibile, conciliare i risultati di un approccio di metodo con quello dell'altro, ma le misure in vitro presentano l'indubbio vantaggio di descrivere con precisione le condizioni del saggio e di rendere i risultati riproducibili. Inoltre, le misure di attività in condizioni simili a quelle riscontrate in situ (nessun tampone, bassa concentrazione di substrato, temperatura variabile) presentano numerosi inconvenienti, il più evidente dei quali potrebbe essere la scarsa significatività delle costanti cinetiche K_m e V_{max} a causa della possibile limitazione di substrato e delle fluttuazioni di pH durante il saggio.

Un'altra difficoltà in enzimologia del suolo, a cui tra l'altro si é già fatto riferimento in precedenza, é la difficoltà di individuare quale componente della complessiva attività di uno specifico enzima si sta misurando. La distinzione fra queste diverse frazioni enzimatiche non é semplice, anche se numerosi saggi enzimatici tentano di eliminare l'attività dovuta alla crescita microbica incorporando nella miscela di reazione un inibitore (per es., toluene, cloroformio, sodio azide, un antibiotico), irradiando con raggi γ il terreno, o utilizzando un tempo di saggio il più breve possibile, inferiore alle due ore, per minimizzare la crescita microbica. La significativa porzione di attività associata ai minerali argillosi é deducibile con molta approssimazione solo indirettamente, mentre quella impegnata in complessi con le sostanze umiche é stata tentativamente estratta utilizzando tamponi e sali inorganici (Batistic e coll.,1980; Nannipieri e coll.,1980; Shcherbakova e coll.,1981; Ruggiero e Radogna, 1984) e successivo passaggio dell'estratto grezzo attraverso filtri batteriologici per rimuovere cellule, detriti cellulari, materiale organico particolato. L'impiego come estraente del pirofosfato di sodio a pH 7 (ampiamente utilizzato, sia pure a pH più elevato, per la estrazione della sostanza organica dal terreno) presenta il vantaggio di avere rese quantitative decisamente migliori rispetto all'impiego di tamponi, ma presenta l'inconveniente di dare soluzioni intensamente colorate che rendono di fatto non praticabili i saggi enzimatici che utilizzano metodi spettrofotometrici. La purificazione del complesso humus-enzima estratto presenta non poche difficoltà , in quanto i tradizionali metodi usati in enzimologia, che si servono di tecniche di precipitazione, cromatografiche ed elettroforetiche, appaiono di difficile applicazione. Del resto, anche i tentativi di separare l'enzima dalla matrice umica appaiono di scarso significato sia perché la forma complessata é quella presente in natura, sia perché l'attività e la stabilità dell'enzima dipendono dalla sua associazio-

ne con la frazione umica. Pertanto, é necessario studiare le proprietá dell'enzima nel terreno ed in estratti grezzi, o solo parzialmente purificati, humus-enzima. Una alternativa che negli ultimi anni viene seguita é quella della preparazione e dello studio di complessi artificiali humus-enzima (Maignan,1983; Sarkar e Burns,1984; Sarkar,1986; Serban e Nissenbaum,1986; Ruggiero e Radogna,1988) ed argilla-enzima (Harter e Stotzky,1971; Skujins e coll.,1974; Hughes e Simpson,1978; Hamzehi e Pflug,1981; Ruggiero e Radogna,1985) utilizzati come modelli dei complessi naturali. E' possibile cosí ricavare utili informazioni sull'effetto del microambiente, sui meccanismi della interazione humus- o argilla-enzima, sulle proprietá cinetiche e chimico-fisiche di tali complessi.

In complesso, una caratterizzazione sufficientemente completa di un enzima nel suolo e/o di suoi complessi solubili o insolubili con i colloidi del suolo, deve prevedere l'accertamento delle caratteristiche seguenti:

- profili pH-attivitá
- profili temperatura-attivitá
- cinetica della reazione
- verifica della linearitá di una delle trasformazioni dell'equazione di Michaelis-Menten
- costanti cinetiche K_m e V_{max}
- coefficiente termico Q_{10}
- energia di attivazione
- specificitá di substrato
- effetto di inibitori
- indipendenza dalla proliferazione microbica: eliminazione (saggio minore di 2 ore, irradiazione con raggi γ) o inibizione (toluene, sodio azide, antibiotici) dei microorganismi.

I risultati ottenuti da una tale indagine consentono da un lato di individuare con esattezza la natura del catalizzatore (biologico o non biologico) e la sua efficienza, dall'altro di interpretare l'attivitá che si é misurata in termini piú concreti.

8. FASI ANALITICHE: COMMENTI

I dettagli analitici delle metodologie adottate per la misura e l'estrazione degli enzimi sono reperibili in testi specialistici (Roberge,1978; Kiss e coll.,1975; Skujins,1976; Tabatabai,1982). In questa rassegna ci si limita ad alcuni commenti che possono essere di guida nella scelta di un metodo e delle migliori condizioni di saggio.

a) L'attivitá di un enzima puó essere diversa nelle diverse frazioni meccaniche del suolo. Si consiglia, in generale, di sottoporre ai saggi la frazione inferiore a 2 mm, nel caso di terreni minerali, inferiore a 4 mm per quelli organici.

b) Il terreno andrebbe sottoposto ad analisi appena campionato. Se

ció non fosse possibile, esso andrebbe conservato umido a 5°C. A temperatura ambiente, infatti, e secco all'aria, il terreno tende a perdere attività durante il tempo di conservazione.

c) La necessità di prevenire la proliferazione microbica e l'ulteriore produzione di esoenzimi imporrebbe l'uso di un inibitore microbiologico. Poiché l'inibitore ideale che soddisfi tale esigenza, senza influenzare direttamente o indirettamente l'attività dell'enzima in esame, non é stato ancora individuato, si ritiene che il contributo offerto dalla crescita microbica venga ridotto al minimo se la durata del saggio avviene nel piú breve tempo possibile (<2ore). I saggi che richiedono tempi piú lunghi dovrebbero prevedere preliminari trattamenti del terreno con agenti inibitori o sterilizzanti. In questo caso, tuttavia, non é possibile indicare scelte di tipo generale, in quanto l'impiego di tali agenti comporta inconvenienti piú o meno accentuati (effetto parziale e non totale, lisi cellulare e rilascio di endoenzimi, scomparsa di substrato e/o prodotto, etc.), i cui effetti sono anche in relazione al dosaggio, al tipo di enzima di cui si intende misurare l'attività , la natura della attività , il tipo e lo stato del terreno (Burns,1978). Solo attenti ed appropriati controlli in assenza ed in presenza dell'agente prescelto, possono guidare l'operatore ad individuare il piú idoneo, anche se l'impiego del toluene, come inibitore microbiologico, e l'irradiazione con radiazioni ad alta energia, per la sterilizzazione del terreno, sono certamente i pretrattamenti piú utilizzati. Il toluene limita, ma non deprime la crescita microbica e per saggi che richiedono lunghi tempi di incubazione vi sono seri rischi di lisi cellulare con rilascio quindi di enzimi intracellulari. Anche l'uso di radiazioni nei tests enzimatici é discutibile. L'interruzione della crescita microbica non determina la scomparsa di ogni attività metabolica. Gli enzimi liberi extracellulari sono distrutti rapidamente, mentre anche quelli associati ai colloidi potrebbero seguire almeno in parte lo stesso destino, sia per gli effetti diretti di una eventuale dose elevata di radiazione sia per l'alterazione del supporto organico o inorganico (Cawse,1975).

d) La necessità di mantenere costante il pH durante l'incubazione ed il saggio enzimatico e di confrontare l'attività con quella di enzimi isolati da microorganismi o da cellule vegetali, richiedono l'uso di tamponi, la cui scelta, purtroppo, anche in questo caso, non é vincolata, come spesso accade nei procedimenti biochimici, ma soggetta a numerosi condizionamenti sia in termini di natura chimica del tampone che di pH e di concentrazione. E' evidente che laddove il saggio preveda una estrazione di substrato o di prodotto e la sua analisi spettrofotometrica, bisogna evitare tamponi e pH che estraggono elevate quantità di sostanza organica, intensamente colorata in bruno, che interferirebbero sensibilmente con l'analisi stessa. Nello stesso tempo, il pH del tampone dovrebbe essere quello al quale l'attività del-

l'enzima é massima, anche se alcuni sostengono essere piú opportuno scegliere come pH quello del terreno. Entrambe le motivazioni appaiono giustificate, dipendendo dall'uso che il ricercatore intende fare del risultato ottenuto, cioé se esso si inserisce in una ricerca di base o se ha una pertinenza di tipo applicativo. La concentrazione del tampone dovrebbe essere sufficientemente alta da evitare spostamenti di pH durante la reazione. In assenza di un criterio unico di scelta, appare utile costruire la curva che correla il pH alla attività utilizzando tamponi diversi, a concentrazione diversa.

e) Per la caratterizzazione degli enzimi del terreno, é necessario acquisire i dati cinetici, derivati dall'equazione di Michaelis-Menten ed espressi come K_m e V_{max} in analogia alle procedure adottate in altri sistemi biologici. Nel terreno, tuttavia, le reazioni avvengono in un ambiente molecolare eterogeno, i cui effetti sono di diversa natura e cumulabili. Non tutto il substrato puó essere disponibile a reagire ad un dato istante con l'enzima, in quanto una parte piú o meno significativa di esso puó essere adsorbita dai colloidi del suolo e si sottrae alla interazione con l'enzima per formare il complesso enzima-substrato; pertanto é necessaria una concentrazione di substrato piú elevata per realizzare la stessa velocitá che si sarebbe ottenuta in un sistema solubile. Cervelli e coll.(1973), accertato l'adsorbimento del substrato p-nitrofenilfosfato da parte del terreno nella determinazione dell'attivitá fosfatasica, suggerivano di modificare l'equazione di Michaelis-Menten introducendo un fattore correttivo derivato dall'isoterma di adsorbimento di Freundlich. Si comprende, quindi, che la determinazione della K_m per gli enzimi del terreno é un problema complesso che richiede ulteriori considerazioni teoriche e modifiche metodologiche, soprattutto se si considera che una parte significativa degli enzimi é immobilizzata sui colloidi del suolo. Numerose sono le ragioni per le quali un enzima associato puó comportarsi in modo diverso da quello libero in soluzione. In primo luogo, l'immobilizzazione puó causare l'assunzione da parte delle molecole di enzima di una conformazione diversa e pertanto un loro differente comportamento cinetico. In secondo luogo, la partizione del substrato fra fase liquida e supporto determina una concentrazione di substrato in prossimitá dell'enzima diversa da quella in soluzione, soprattutto se il supporto trasporta una carica netta, come avviene per i colloidi del suolo, i cui effetti si risentono su substrati ionici e/o dissociabili. Infine, l'impedimento alla libera diffusione del substrato dovuto alla presenza del supporto ha un importante ruolo nella cinetica degli enzimi immobilizzati.

Una soluzione esatta delle equazioni allo stato stazionario per tali sistemi non puó essere ottenuta, ma con l'aiuto di modelli sono state elaborate modifiche nei valori di K_m e V_{max} che tengono conto degli effetti di partizione e di diffusione (Laidler e Bunting,1980).

Così la V_{max} diventa proporzionale alla concentrazione dell'enzima sul supporto ($V_{max} = k_c [E]_s$, dove k_c = costante catalitica) e la K_m apparente é data da: $K_m(app)^s = K_m^c / PF$, dove K_m^c é la costante di Michaelis dell'enzima immobilizzato in assenza degli effetti citati, P é il coefficiente di partizione (cioé il rapporto fra la concentrazione del substrato sul supporto e quella nella soluzione) ed F é una funzione del coefficiente di diffusione.

In un sistema microeterogeneo in cui la diffusione non é libera ma controllata, anche l'efficacia di un inibitore enzimatico ed il modo della inibizione possono essere sostanzialmente diversi da quelli in un sistema omogeneo (Thomas e coll.,1974). Inoltre, quando un enzima é inibito dal prodotto della reazione, gli impedimenti diffusionali esaltano l'efficacia della inibizione, mentre l'inibizione da eccesso di substrato puó anche non manifestarsi in un sistema con limitazioni diffusionali. Quest'ultime, quindi, esercitano il ruolo di un tampone cinetico verso qualche effettore esogeno. Concludendo, l'effetto del supporto sulle proprietá cinetiche dell'enzima é specialmente importante per comprendere come in realtá gli enzimi funzionino nell'ambiente naturale e ció é di grande utilitá anche da un punto di vista applicativo.

f) Altri accorgimenti metodologici sui quali si desidera richiamare l'attenzione riguardano la necessitá di mantenere costante la temperatura durante l'analisi; di scegliere, magari sulla base di prove preliminari, un tempo di incubazione sufficiente perché la reazione sia completa; di utilizzare un volume di liquido che assicuri adeguatamente il contatto liquido-solido mantenendo, nello stesso tempo, il sistema in agitazione costante; di assicurarsi che la concentrazione di substrato sia da 5 a 10 volte piú elevata della K_m dell'enzima in modo da lavorare a velocitá prossime a quella massima senza il rischio che la concentrazione di substrato sia fattore limitante della reazione. Infine, in tutti quei saggi basati sulla estrazione alcalina dal terreno del prodotto di reazione (per esempio, il p-nitrofenolo nei saggi della fosfatasi, arilsolfatasi, β-glucosidasi, α-galattosidasi, ecc.) é necessario aggiungere un agente flocculante, generalmente $CaCl_2$, per prevenire la dispersione dell'argilla, che renderebbe difficoltosa la fase di filtrazione, e l'estrazione dal terreno di sostanza organica, il cui intenso colore bruno non consentirebbe il dosaggio spettrofotometrico.

9. CONCLUSIONI

Le considerazioni in precedenza svolte, anche se talora necessariamente sommarie, inquadrano l'enzimologia del suolo in una dimensione scientifica autonoma ormai chiaramente delineata dagli enormi progressi conoscitivi ed applicativi compiuti negli ultimi anni. Tuttavia, la complessitá del sistema in cui gli enzimi operano e la dif-

ficoltá di reperire metodologie idonee, lasciano ancora senza risposte certe alcuni eventi interpretativi che riguardano i diversi componenti della attivitá enzimatica totale del suolo, il contributo da essi offerto al ciclo degli elementi nutritivi, i meccanismi coinvolti nelle associazioni tra gli enzimi ed i colloidi del suolo, la stechiometria della interazione e la stabilitá dei complessi formatisi. Quest'ultima caratteristica, la potenziale riutilizzazione nella stessa reazione e per numerose volte di un enzima immobilizzato, l'efficienza molto elevata, hanno negli ultimi anni decisamente orientato numerosi ricercatori verso lo studio di complessi naturali ed artificiali humus-enzima e argilla-enzima. I risultati sono di estremo interesse anche per le potenziali applicazioni degli enzimi immobilizzati in agricoltura e nell'ambiente. I settori nei quali l'intervento di tali complessi appare di grande prospettiva tecnologica, anche sulla base di risultati preliminari giá acquisiti, sono la degradazione dei residui delle lavorazioni agricole, la solubilizzazione degli elementi nutritivi, la degradazione e detossificazione di pesticidi e loro metaboliti, l'inibizione di fitopatogeni. Si ritiene che in alcuni interventi possa essere molto piú agevole manipolare l'uso di enzimi che la piú tradizionale inoculazione microbica.

BIBLIOGRAFIA

Batistic L., Sarkar J.M. e Mayaudon J.1980. Extraction, purification and properties of soil hydrolases. Soil Biol.Biochem.12, 59-63.

Burns R.G., El-Sayed M.H. e McLaren A.D.1972. Extraction of an urease -active organo-complex from soil. Soil Biol.Biochem.4, 107-108.

Burns R.G., Gregory L.J., Lethbridge G. e Pettit N.M.1978. The effect of γ-irradiation on soil enzyme stability. Experientia 34,301-302.

Burns R.G.1978. Soil Enzymes. Academic Press, Londra.

Burns R.G. e Edwards J.A.1980. Pesticide breakdown by soil enzymes. Pestic.Sci.11, 506-512.

Burns R.G.1982. Enzyme acivity in soil: Location and a possible role in microbial ecology. Soil Biol.Biochem.14, 423-427.

Burns R.G.1986. Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. In: Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes (Huang P.M. e Schnitzer M. ed.). SSSA Special Public. N.17, Soil Sci.Soc.Am.,Madison, Wisconsin, pp.429-451.

Cawse P.A.1975. Microbiology and biochemistry of irradiated soils. In: Soil Biochemistry, Vol.3 (Paul E.A. e McLaren A.D. ed.). Marcel Dekker, New York, pp.213-267.

Cervelli S., Nannipieri P., Ceccanti B. e Sequi P.1973. Michaelis constant of soil acid phosphatase. Soil Biol.Biochem. 5, 841-845.

Cervelli S., Nannipieri P. e Sequi P.1978 Interactions between agrochemicals and soil enzymes. In: Soil Enzymes (Burns R.G. ed.). Academic Press, Londra, pp.251-293.

Dick W.A. e Tabatabai M.A.1987. Kinetics and activities of phosphatase-clay complexes. Soil Sci.143, 5-15.

Frankenberger Jr.W.T. e Tabatabai M.A.1981. Amidase activity in soils: IV.Effects of tace elements and pesticides. Soil Sci.Soc.Am.J. 45, 1120-1124.

Frankenberger Jr.W.T. e Bingham F.T.1982. Influence of salinity on soil enzyme activities. Soil Sci.Soc.Am.J. 46, 1173-1177.

Gibson W.P. e Burns R.G.1977. The breakdown of malathion in soil and soil components. Microb.Ecol.3, 219-230.

Hamzehi E. e Pflug W.1981. Sorption and binding mechanisms of polysaccharide cleaving soil enzymes by clay minerals. Z.Pflanz.Bodenk. 144, 505-513.

Harter R.D. e Stotzky G.1971. Formation of clay-protein complexes. Soil Sci.Soc.Am.Proc.35, 383-389.

Hughes J.D. e Simpson G.H.1978. Arylsulphatase-clay interactions. II. The effect of kaolinite and montmorillonite on arylsulphatase activity. Austr.J.Soil Res. 16, 35-40.

Jenkinson D.S. e Ladd J.N.1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: Soil Biochemistry, Vol.5 (Paul E.A. e Ladd J.N. ed.). Marcel Dekker, New York, pp.415-471.

Kiss S., Dragan-Bularda M. e Radulescu D.1975. Biological significance of enzymes accumulated in soil. Adv.in Agronomy 27, 25-87.

Ladd J.N. e Butler J.H.A.1975. Humus-enzyme systems and synthetic, organic polymer-enzyme analogs. In: Soil Biochemistry, Vol.4 (Paul E.A. e McLaren A.D. ed.). Marcel Dekker, New York,pp.143-194.

Ladd J.N.1978. Origin and range of enzymes in soil. In: Soil Enzymes (Burns R.G. ed.). Academic Press, Londra, pp.51-96.

Laidler K.J. e Bunting P.S.1980. The kinetics of immobilized enzyme systems. In: Methods in Enzymology, Vol.64 (Colowick S.P. e Kaplan N.O. ed.). Academic Press, Londra, pp.227-248.

Maignan C.1983. Activité des complexes acides humiques-invertase: influence des cations flocculants. Soil Biol.Biochem. 15, 651-659.

Mayaudon J.1986. The role of carbohydrates in the free enzymes in soil. In: Peat and Water (Fuchsman C.H. ed.). Elsevier, Amsterdam, pp.263-309.

Nannipieri P., Ceccanti B., Cervelli S. e Matarese E.1980. Extraction of phosphatase, urease, proteases, organic carbon and nitrogen from soil. Soil Sci.Soc.Am.J.44, 1011-1015.

Pettit N.M., Gregory L.J., Freedman R.B. e Burns R.G.1977. Differential stabilities of soil enzymes: assay and properties of phosphatase and arylsulphatase. Biochim.Biophys.Acta 485, 357-366.

Roberge M.R.1978. Methodology of soil enzyme measurement and extraction. In: Soil Enzymes (Burns R.G. ed.). Academic Press, Londra, pp.341-370.

Ruggiero P. e Radogna V.M.1984. Properties of laccase in humus-enzyme complexes. Soil Sci. 138, 74-87.

Ruggiero P. e Radogna V.M.1985. Interactions between soil colloids and enzymes which oxidize phenols and polyphenols. 7th Intern. Symp.Environ.Biogeochem., September 8-13, Roma.

Ruggiero P. e Radogna V.M.1988. Humic acids-tyrosinase interactions as a model of soil humic-enzyme complexes. Soil Biol Biochem.20, 353-359.

Sarkar J.M. e Burns R.G.1984. Synthesis and properties of β-D-glucosidase-phenolic copolymers as analogues of soil humic-enzyme complexes. Soil Biol.Biochem. 16, 619-625.

Sarkar J.M.1986. Formation of ^{14}C-cellulase-humic complexes and their stability in soil. Soil Biol.Biochem. 18, 251-254.

Sequi P.1974. Gli enzimi del terreno. L'Italia Agricola 111, 91-109.

Serban A. e Nissenbaum A.1986. Humic acid association with peroxidase and catalase. Soil Biol.Biochem.18, 41-44.

Shcherbakova T.A., Mas'ko A.A. e Galushko N.A.1981. Extraction of organo-mineral complexes with enzymatic activity from soils. Soviet Soil Sci.13, 45-52.

Sjoblad R.D. e Bollag J.-M.1981. Oxidative coupling of aromatic compounds by enzymes from soil microorganisms. In: Soil Biochemistry, Vol.5, (Paul E.A. e Ladd J.N. ed.). Marcel Dekker, New York, pp.113-152.

Skujins J., Pukite A. e McLaren A.D.1974. Adsorption and activity of chitinase on kaolinite. Soil Biol.Biochem.6, pp.179-182.

Skujins J.1976. Extracellular enzymes in soil. CRC Crit.Rev.Microbiol. 4, 383-421.

Stott D.E., Dick W.A. e Tabatabai M.A.1985. Inhibition of pyrophosphatase activity in soils by trace elements. Soil Sci.139, 112-117.

Stout J.D., Goh K.M. e Rafter T.A.1981. Chemistry and turnover of naturally occuring resistant organic compounds in soil. In: Soil Biochemistry, Vol.5 (Paul E.A. e Ladd J.N. ed.). Marcel Dekker, New York, pp.1-73.

Tabatabai M.A.1977. Effects of trace elements on urease activity in soils. Soil Biol.Biochem. 9, 9-13.

Tabatabai M.A.1982. Soil Enzymes. In: Methods of Soil Analysis, Part 2 (Page A.L., Miller R.H. e Keeney D.R. ed.). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin USA, pp.903-947.

Thomas D., Bourdillon C., Broun G. e Kernevez J.P.1974. Kinetic behavior of enzymes in artificial membranes. Inhibition and reversibility effects. Biochemistry 13, 2995-3000.

Williams S.T. e Gray T.R.G.1974. Decomposition of litter on the soil surface. In: Biology of Plant Litter Decomposition, Vol.2 (Dickinson C.H. e Pugh G.J.F. ed.). Academic Press, Londra, pp.611-632.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

USO DEL POROSIMETRO A INTRUSIONE DI MERCURIO E TECNICHE A LUCE LASER NELL'ANALISI DEL TERRENO

Guido Vigna Guidi e Roberto Pini
Istituto per la Chimica del Terreno, C.N.R. Via Corridoni 78, Pisa

RIASSUNTO

Sono riportati i principi teorici, le apparecchiature e le applicazioni al terreno della tecnica della porosimetria a intrusione di mercurio e di quella che utilizza lo "scattering" di una luce laser. La prima tecnica è ampiamente sperimentata e serve per determinare, in aggregati di terreno, la porosità totale e la distribuzione dimensionale dei pori nell'intervallo 10^{-2} - 10^{2} um (e.c.d.). La tecnica di "scattering" di una luce laser, che è stata usata pochissimo in studi sul terreno, permette la determinazione e la distribuzione in classi dimensionali di particelle in sospensione aventi un diametro approssimativamente nell'intervallo da 0,7 a alcune centinaia di um.

SUMMARY

Theoretical background, commercial instrumentation and soil application of mercury intrusion porosimetry and laser light scattering are reported. The former technique has known for about twenty years and is widely used for the determination of soil porosity. Total porosity and pore size distribution can be analyzed in the range 10^{-2} - 10^{2} um (e.c.d.). Drying processes of soil samples are also discussed. Laser light scattering is a new technique and has been applied only in two cases to solve soil problems. By means of this technique the determination and size class distribution can be carried out on suspensions of particles of diameter from 0.7 to some hundreds um.

POROSIMETRO A INTRUSIONE DI MERCURIO

1. PRINCIPIO DEL METODO

L'equazione utilizzata nella porosimetria a mercurio è stata ricavata da Washburn nel 1921 e può essere espressa nella forma:

$$Pr = 2\gamma \cos\theta \qquad (1)$$

dove P è la pressione richiesta per forzare il mercurio in pori di

raggio r, assumendo che i pori abbiano geometria cilindrica. La tensione superficiale e l'angolo di contatto del mercurio con le pareti dei pori sono espresse da γ e Θ rispettivamente.

L'equazione (1) è stata ricavata considerando che la tensione superficiale di un liquido è definita come il lavoro richiesto per produrre una quantità di superficie. Inoltre, se un capillare è immerso in liquido, come mostrato nella Fig. 1, il liquido nel capillare salirà o scenderà rispetto al livello del liquido esterno in funzione dell'angolo di contatto solido-liquido.

A causa dell'elevata tensione superficiale il mercurio tende a non bagnare la maggior parte delle superfici solide e deve essere forzato per entrare nei pori. Assumendo i pori cilindrici, quando il mercurio è spinto sotto pressione ad entrare in un poro di raggio r e di lunghezza l il lavoro richiesto per incrementare l'area è dato da:

$$W_1 = 2\pi r l \gamma \cos\vartheta \qquad (2)$$

D'altra parte quando un volume di mercurio ΔV è forzato nello stesso poro sotto una pressione esterna P si compie un lavoro uguale a:

$$W_2 = P\Delta V = P\pi r^2 l \qquad (3)$$

Poichè all'equilibrio $W_1 = W_2$ si ottiene (1).

Essendo il prodotto Pr costante e assumendo costanti γ e ϑ, l'equazione di Washburn indica che, all'aumento della pressione, il mercurio sarà spinto in pori sempre più piccoli.

2. APPARECCHIATURA SPERIMENTALE

Gli apparecchi che sfruttano il principio descritto precedentemente e sono in grado di fornire misure quantitative del volume totale dei pori e della loro distribuzione dimensionale sono chiamati porosimetri a intrusione di mercurio. Dei vari porosimetri presenti in commercio sarà data qui di seguito la descrizione del porosimetro Carlo Erba serie 200 e dell'unità macropori serie 120.

In questo apparecchio, il cui schema semplificato è riportato in Figura 2, l'unità di misura consiste in una piccola autoclave contenente il dilatometro cioè una ampolla di vetro, terminante in alto in un tubicino tarato, in cui viene messo il campione e riempita di mercurio. Il mercurio presente nel tubicino calibrato stabilisce un contatto elettrico con una sonda metallica il cui avanzamento è automatico. Quando la pressione aumenta, il mercurio entra nei pori del campione ed il livello di mercurio nel tubicino si abbassa interrompendo il contatto elettrico, che viene poi ristabilito dall'abbassamento della sonda. La variazione di volume corrispondente al riempimento dei pori viene poi trasmesso, per ogni incremento di pressione, ad un sistema di uscita dati per le successive elaborazioni.

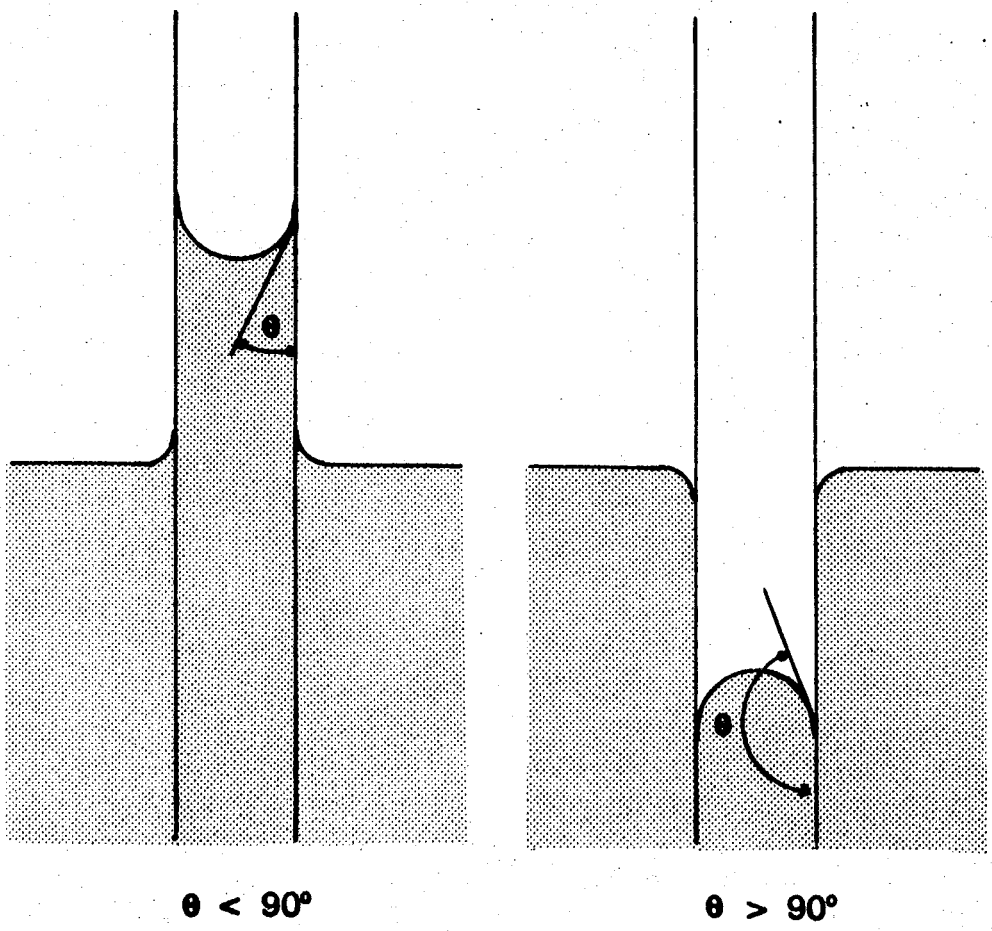


Fig. 1 - A sinistra è riportato il caso di un liquido che bagna una superficie solida (il livello del liquido nel capillare è più alto di quello del liquido esterno, angolo di contatto solido-liquido $\vartheta < 90°$). A destra è riportato il caso di un liquido che non bagna la superficie solida (il livello del liquido nel capillare è più basso di quello del liquido esterno, angolo di contatto solido-liquido $\vartheta > 90°$).

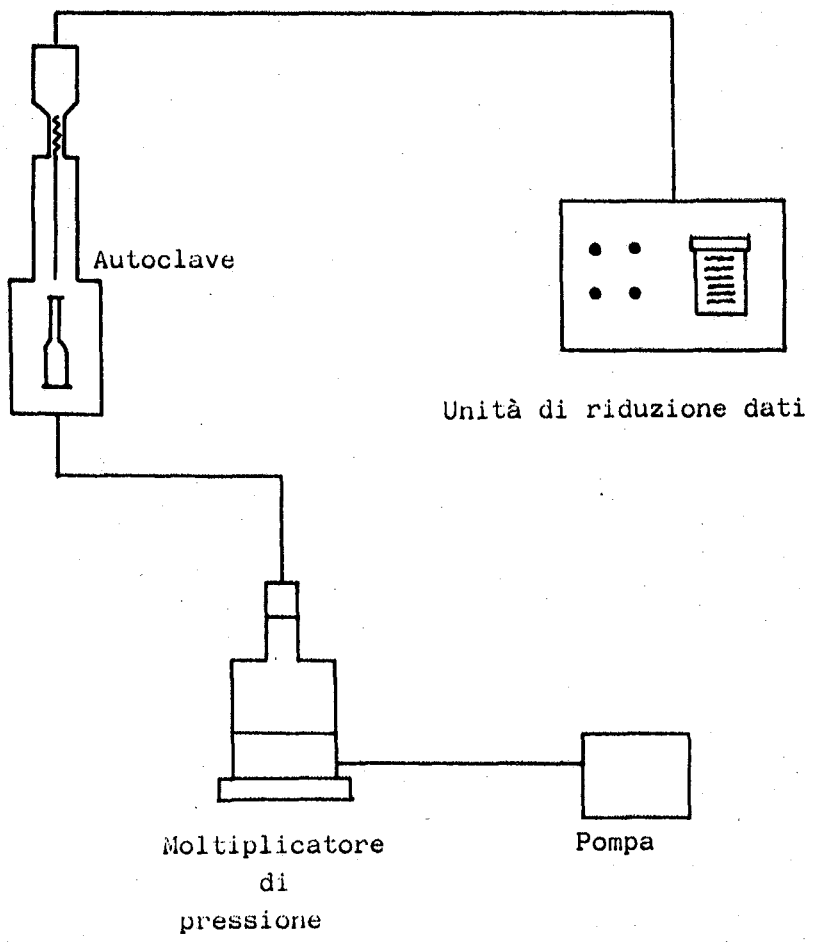


Fig. 2 - Schema del porosimetro Carlo Erba serie 200.

Il massimo di pressione raggiungibile nel porosimetro è 2000 Kg/cm^2 e quindi possono essere analizzati i pori aventi il diametro compreso tra 0,0075 um (7,5 nm) e 15 um.

Il campione deve essere disareato prima dell'aggiunta del mercurio nel dilatometro. Durante questa operazione è possibile, con l'uso dell'unità macropori serie 120 che permette l'aggiunta controllata di mercurio fino ad una pressione di quattro Kg/cm^2, analizzare i pori aventi diametro compreso tra circa 200 um e 3,75 um. Nella Figura 3 è riportato un esempio dei dati che vengono forniti da un programma appositamente predisposto e la loro trasformazione in forma grafica (Figura 4).

3. APPLICAZIONE DELLA TECNICA AL TERRENO

La maggior parte dei processi biologici, fisici e chimici che avvengono nel terreno dipendono dai pori che occupano mediamente dal 40

ISTITUTO PER LA CHIMICA DEL TERRENO - PISA

DISCO N. 0 SCHEDA N. 21

DATE	30/06/87
SAMPLE	fraz. 5 - 10 mm
WEIGHT (g)	1.46
DILATOMETER DIAM. (mm.)	3
PRESSURE MAX. (Kg/cmq)	1500
TOTAL PORE VOLUME (cm3/g)	0.13894660

POROSIMETER STATEMENT

P	H	hHg	SV	V%	SV%	Diam
0.066	1.9	0.0	9	6.6	6.6	237.2727
0.132	2.7	0.0	13	2.8	9.4	113.9818
0.197	3.1	0.0	15	1.4	10.8	76.1421
0.263	3.7	0.0	18	2.1	12.9	57.0342
0.328	4.0	0.0	19	1.0	13.9	45.7317
0.394	4.2	0.0	20	0.7	14.6	38.0711
0.460	4.5	0.0	22	1.0	15.7	32.6087
0.526	4.9	0.0	24	1.4	17.1	28.5171
0.657	5.2	0.0	25	1.0	18.1	22.8311
0.789	5.8	0.0	28	2.1	20.2	19.0114
0.921	6.1	0.0	30	1.0	21.3	16.2866
1.000	6.4	0.0	31	1.0	22.3	15.0000
2.000	7.1	0.0	34	2.4	24.7	7.5000
3.000	7.6	0.0	37	1.7	26.5	5.0000
4.000	8.4	0.0	41	2.8	29.3	3.7500
5.000	8.8	0.0	43	1.4	30.7	3.0000
7.000	9.7	0.0	47	3.1	33.8	2.1429
10.000	11.2	0.0	54	5.2	39.0	1.5000
15.000	13.1	0.0	63	6.6	45.6	1.0000
20.000	14.6	0.0	71	5.2	50.9	0.7500
25.000	15.6	0.1	75	3.1	54.0	0.6000
30.000	16.5	0.1	79	3.1	57.1	0.5000
35.000	17.2	0.1	83	2.4	59.6	0.4286
40.000	18.1	0.1	87	3.1	62.7	0.3750
50.000	18.4	0.1	89	1.0	63.8	0.3000
100.000	20.2	0.2	97	5.9	69.7	0.1500
150.000	21.1	0.3	101	2.8	72.5	0.1000
200.000	21.7	0.4	103	1.7	74.2	0.0750
250.000	22.5	0.6	106	2.1	76.3	0.0600
300.000	22.9	0.7	107	1.0	77.4	0.0500
350.000	23.5	0.8	110	1.7	79.1	0.0429
400.000	23.9	1.0	111	0.7	79.8	0.0375
450.000	24.5	1.1	113	1.7	81.5	0.0333
500.000	24.9	1.3	114	0.7	82.2	0.0300
600.000	25.7	1.5	117	2.1	84.3	0.0250
700.000	26.7	1.7	121	2.8	87.1	0.0214
800.000	27.5	2.0	123	1.7	88.9	0.0188
900.000	28.4	2.2	127	2.4	91.3	0.0167
1000.000	29.1	2.4	129	1.7	93.0	0.0150
1100.000	29.7	2.6	131	1.4	94.4	0.0136
1200.000	30.5	2.8	134	2.1	96.5	0.0125
1300.000	30.9	3.1	135	0.3	96.9	0.0115
1400.000	31.5	3.3	137	1.4	98.3	0.0107
1500.000	32.3	3.6	139	1.7	100.0	0.0100

Fig. 3 - Dati sulla porosità forniti dal programma di calcolo. P è la pressione del mercurio in Kg/cm^2, H l'abbassamento del livello del mercurio (in mm) nel tubo tarato del dilatometro, hHg la compressibilità del mercurio (in mm), SV la sommatoria dei volumi (in mm^3), V% è 100 $(V_i - V_{i-1})/Vtot$, SV% la sommatoria di V% e D (in um) il diametro dei pori.

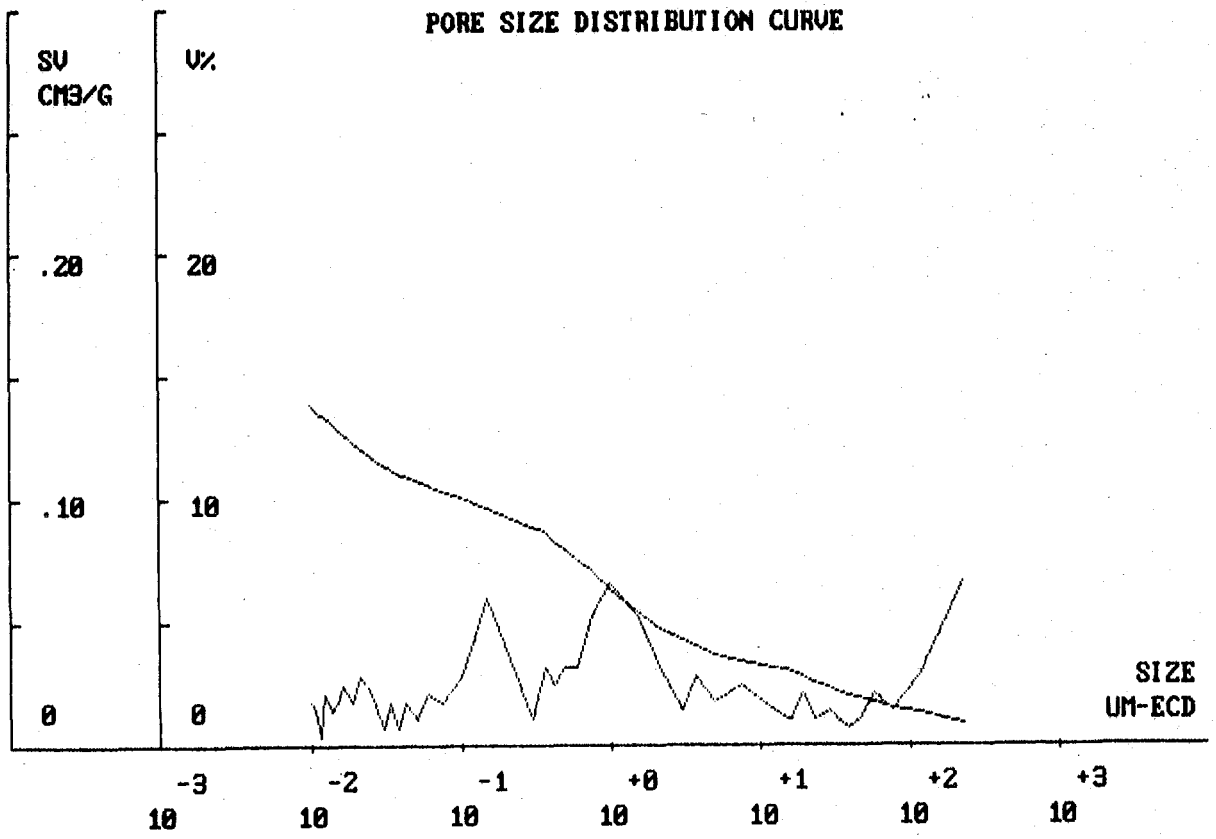


Fig. 4 - Curve della distribuzione della grandezza dei pori. La curva a S è formata con i dati SV (curva integrale), l'altro con i dati V%. In ascisse è riportato in scala logaritmica la grandezza in um del diametro dei pori.

al 60 per cento del volume totale del terreno. La conoscenza del numero, della grandezza e della continuità dei pori, oltre ad essere considerata un utile mezzo per caratterizzare la struttura del terreno, permette di valutare, ad esempio, i movimenti dell'acqua e dei gas e quindi l'influenza di questi parametri sulle piante (Fig. 5). Da quanto appena detto appare chiara l'importanza di una caratterizzazione quanto più accurata possibile della porosità.

La porosimetria a intrusione di mercurio viene usata con successo ormai da una ventina di anni a questo proposito. I primi lavori di una misura diretta del volume e della grandezza dei pori risalgono infatti ai primi anni settanta quando questa tecnica fu utilizzata per la prima volta per predire i movimenti dell'acqua (Klock et al., 1969; Nagpal et al., 1972) e per analizzare la distribuzione dimensionale dei pori

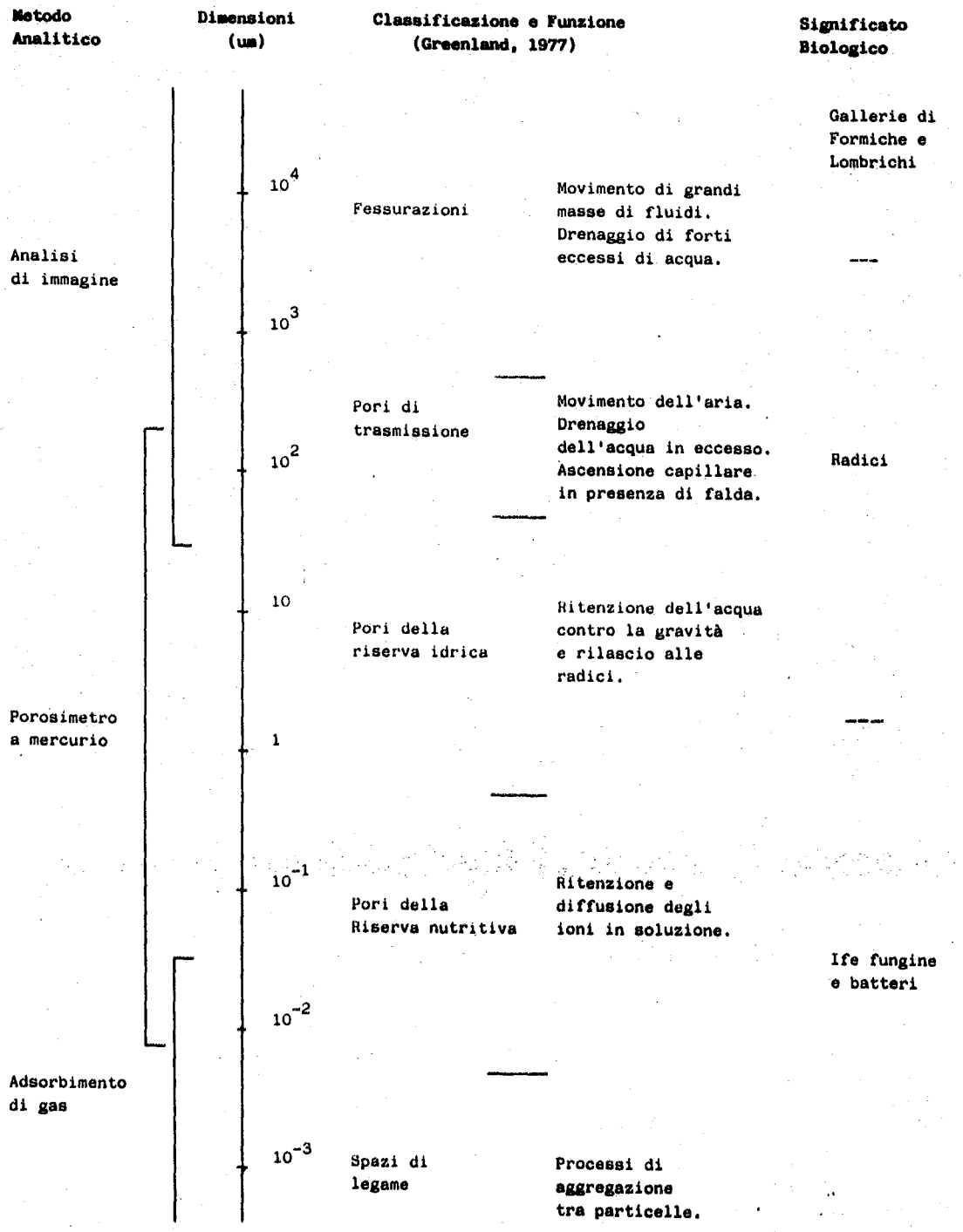


Fig. 5 - Metodi di misura, classificazione funzionale e significato biologico dei pori del terreno.

nelle argille (Diamond, 1970).

3.1 Campi di utilizzo

Essendo la porosità correlata con tutta una serie di altri parametri del terreno, svariati sono stati i problemi studiati con l'aiuto della porosimetria a mercurio anche se è comunque possibile raggrupparli in tre campi principali.

3.1.1 Messa a punto e confronto di metodologie analitiche

Come avviene con tutti i nuovi metodi analitici un certo numero di lavori sono stati dedicati al confronto con i dati ottenuti con metodi basati su altri principi. C'è da aggiungere però che nei lavori raggruppati in questo campo è talvolta presente una parte applicativa accanto a quella puramente metodologica.

L'ottimo accordo tra la porosità totale calcolata da dati di densità apparente e reale e quella derivata dalla porosimetria è stata messa in evidenza da Vachier et al. (1979). Dal confronto tra i valori ottenuti dalla porosimetria con quelli calcolati dalle curve di ritenzione idrica è stato osservato che l'accordo è buono, salvo nei casi in cui è presente una elevata quantità di sabbia o di argilla, specialmente quando quest'ultima appartiene ad uno dei tipi soggetti a notevoli variazioni di volume in relazione al contenuto d'acqua (Nagpal et al., 1972; Olson, 1985). La combinazione della porosimetria a mercurio e dell'adsorbimento dell'azoto è stato trovato più che adeguato, almeno nella maggioranza dei casi, per caratterizzare la porosità del terreno nell'intervallo 0,001 um - 50 um (Sills et al., 1973a). Inoltre è stata verificata la stabilità del sistema poroso durante la misura (Lawrence, 1978) ed è stato proposto un metodo per misurare i pori di diametro maggiore di 200 um che non sono generalmente misurabili con questa tecnica (Olson, 1987).

3.1.2. Problemi strutturali del terreno

A questo campo appartiene il gruppo più numeroso di lavori anche se, tenuto conto dei diversi modi di intendere la struttura del terreno, l'approccio può variare anche notevolmente da un caso all'altro.

Diversi ricercatori hanno utilizzato questa tecnica per caratterizzare il sistema poroso di materiali come le argille in cui, data la ricchezza di pori piccoli, era particolarmente importante lo sfruttamento del metodo fino alle massime pressioni ottenibili corrispondenti a pori di diametro di circa 10^{-2} um (Diamond, 1970; Sills et al., 1973b; Sills et al., 1974; Konstankiewiez e Stawinski, 1976; Homshaw e Cambier, 1980; Chruchman e Payne, 1983). Le informazioni ottenute erano in genere usate per comprendere meglio i legami tra la porosità e le proprietà fisiche dei terreni argillosi.

In altri casi sono stati indagati con maggior attenzione i pori di dimensioni maggiori con lo scopo di chiarire alcuni aspetti legati alla

crescita delle radici anche in funzione della diminuzione della porosità totale e della variazione della distribuzione dimensionale dei pori in seguito a compressioni esercitate sul terreno (Olson, 1985; Guidi et al. 1985).

Per valutare meglio i rapporti tra struttura e fertilità fisica del terreno è stata anche studiata la variabilità temporale della porosità e della distribuzione dimensionale dei pori in terreni trattati e non con diversi materiali organici (Guidi e Poggio, 1987; Guidi et al., 1988) e in terreni sommersi coltivati a riso (Guidi et al., 1988).

3.1.3. Movimento e ritenzione dell'acqua

La porosimetria e intrusione di mercurio non si presta molto bene a studiare i movimenti dell'acqua nel terreno principalmente perchè i campioni sottoposti ad analisi sono troppo piccoli, generalmente il volume è al massimo di pochi cm^3, e quindi una parte notevole della porosità tra gli aggregati non può venire determinata.

Malgrado questa limitazione, la tecnica è stata utilizzata al posto delle usuali curve di ritenzione e delle misure di infiltrazione per valutare l'acqua disponibile per le piante (Olson, 1985) e la conduttività idraulica dei terreni (Klock et al., 1969; Ragab et al., 1982).

3.2. Essiccamento del campione

Uno dei problemi a cui bisogna prestare particolare attenzione in tutti i metodi utilizzati per la determinazione della porosità del terreno è l'eliminazione dell'acqua dal campione. Durante questo processo si possono avere delle alterazioni anche profonde del sistema poroso e quindi i dati ottenuti possono non essere rappresentativi della porosità originale. Fortunatamente però il pericolo della formazione di artefatti non è generale, essendo più probabile solo nei terreni in cui è maggiore la presenza di minerali argillosi.

Inoltre, mentre per il confronto tra terreni diversi assume necessariamente una fondamentale importanza la conoscenza di ogni eventuale variazione della porosità causata da fattori intrinseci e quindi generalmente diversi in ogni singolo terreno, nel caso in cui vengono comparati gli effetti di trattamenti diversi sullo stesso terreno la misura non è più assoluta, ma relativa ed inoltre le variazioni dovute ai fattori intrinseci sono presumibilmente le stesse per tutti i campioni.

La prima revisione critica delle tecniche maggiormente usate per l'essiccamento dei campioni in terreni ricchi di argilla e in cui erano anche riportati i dati sulle modificazioni causate sul sistema dei pori è stata fatta da Lawrence (1977). Successivamente altri ricercatori hanno effettuato confronti tra le varie tecniche e misurato gli effetti prodotti su vari tipi di terreni con la porosimetria a mercurio

(Lawrence et al., 1979; Collins, 1983; Thompson et al. 1985). Tuttavia non sono state individuate e proposte valide alternative alle tecniche descritte da Lawrence e anche le conclusioni, pur se con qualche eccezione, non differiscono sostanzialmente dalle sue.

Il metodo più semplice per l'essiccamento è l'evaporazione diretta dell'acqua che può essere eseguita praticamente o all'aria o in stufa. Questa tecnica tuttavia causa spesso crepacciamento e distorsione dei pori a causa del riarrangiamento delle particelle poichè il menisco dell'acqua esercita una tensione crescente tra le pareti dei pori al procedere dell'evaporazione dell'acqua.

Un altro metodo utilizzato per l'essiccamento, usualmente chiamato "freeze drying", prevede la rapida immersione del campione umido in un liquido criogenico (es. azoto liquido) seguito dalla sublimazione del ghiaccio sotto vuoto perchè, in queste condizioni, non vengono esercitate tensioni sulle pareti dei pori. La grossa limitazione di questo metodo è che il congelamento del campione deve essere molto rapido per evitare la formazione di grossi cristalli di ghiaccio che causerebbero la distorsione dei pori. Per questa ragione i campioni che meglio si prestano ad essere trattati con questo metodo sono di piccole dimensioni o sottili.

Un terzo approccio è quello di sostituire l'acqua con un liquido organico miscibile (es. acetone) e poi lasciarlo evaporare. Questa sostituzione dovrebbe causare meno tensione sui pori durante l'evaporazione in quanto la tensione superficiale dell'acqua a 25°C ($7{,}2\ 10^{-2}$ N/m) è assai superiore a quella dell'acetone ($2{,}3\ 10^{-2}$ N/m). Questa tecnica è anche quella seguita da diversi micromorfologi che sostituiscono l'acqua con acetone e poi impregnano il campione con una resina indurente.

Il sistema di essiccamento che, nell'opinione della maggioranza, sembra causare le minori alterazioni nel sistema poroso del terreno è quello cosidetto al punto critico (critical point drying). Il principio di questo metodo si basa sul fatto che ad una certa temperatura e pressione la fase liquida passa completamente ed immediatamente alla fase gassosa. Generalmente la sostanza utilizzata è l'anidride carbonica che ha come temperatura e pressione critica rispettivamente 31°C e 7,6 MPa. Non è consigliabile utilizzare l'acqua che, avendo temperatura critica di 374°C e pressione critica a 22,5 MPa, causerebbe probabilmente alterazione nei minerali argillosi. Poichè l'acqua è immiscibile con l'anidride carbonica liquida è necessario sostituire l'acqua presente nel campione prima con un solvente, usualmente l'acetone, che sia miscibile con l'anidride carbonica. Nello schema riportato in Fig. 6 si può vedere la sequenza di operazioni necessarie per sottoporre un campione all'essiccamento al punto critico.

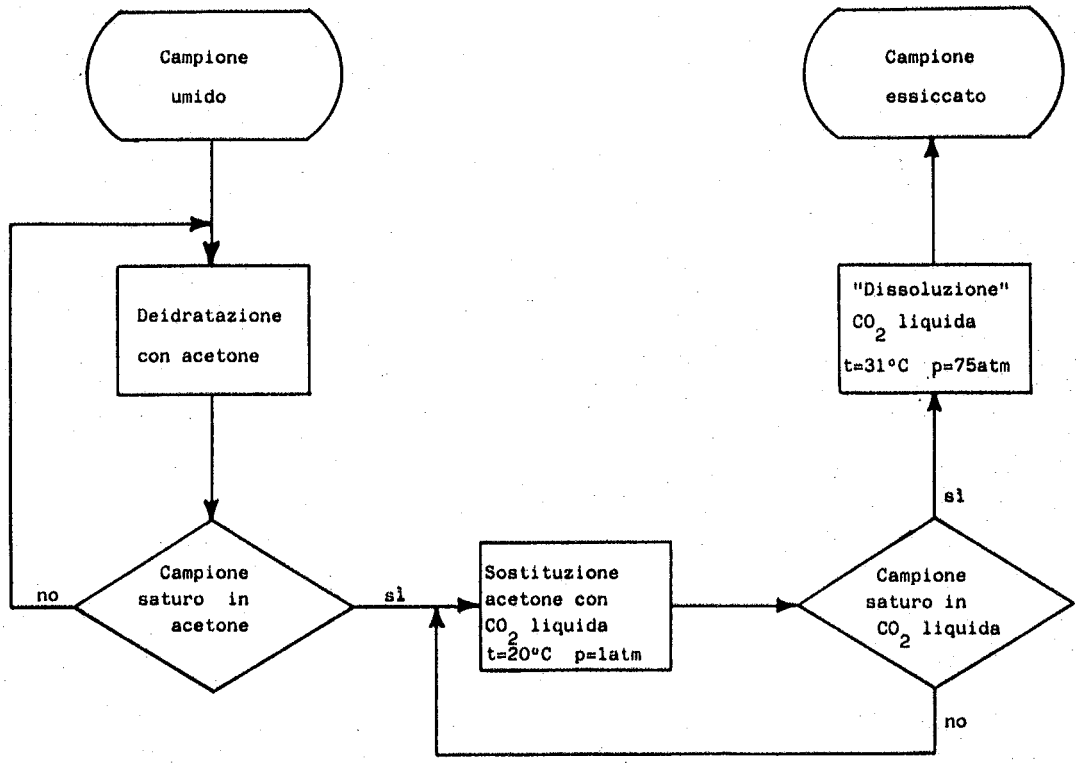


Fig. 6 - Schema delle operazioni necessarie per la preparazione del campione di terreno per l'essiccazione al punto critico.

4. Conclusioni

Da quanto detto precedentemente è possibile trarre le seguenti conclusioni:

- La porosimetria a intrusione di mercurio è una tecnica ormai affermata e affidabile per la determinazione della porosità e della distribuzione dimensionale dei pori nel terreno.
- Il diametro dei pori che è possibile determinare con questa tecnica è generalmente compreso nell'intervallo 10^{-2} - 10^{2} um. In questo intervallo sono compresi molti dei pori interessati dall'acqua disponibile per le piante, dai problemi strutturali e dalla crescita radicale. Pori di dimensioni leggermente maggiori o minori possono essere caratterizzati in funzione delle caratteristiche delle apparecchiature strumentali usate.
- La grandezza massima degli aggregati di terreno che è possibile analizzare generalmente non è superiore a qualche cm^{3} e quindi una parte notevole dei pori esistenti tra gli aggregati non può essere determinata.
- Poichè l'essiccamento dei campioni di terreno può causare alterazioni nel sistema dei pori, specialmente in presenza di notevoli quantità di argilla, può essere opportuno in alcuni casi utilizzare tecniche particolari per ridurre al minimo questo pericolo.

TECNICHE A LUCE LASER

1. METODI UTILIZZATI PER L'ANALISI DIMENSIONALE

Un esame della letteratura corrente e delle pubblicazioni distribuite dalle varie ditte costruttrici di apparecchiature scientifiche indica che sono attualmente disponibili diversi strumenti mediante i quali è possibile attuare analisi dimensionali di particelle.

Se si considerano solo i sistemi in cui le particelle sono disperse in un liquido i fenomeni fisici utilizzati nella messa a punto di tecniche di misura impiegati nelle apparecchiature commerciali attualmente sul mercato possono essere suddivisi in:

- Proprietà elettriche
- Proprietà di trasporto
- Metodi ottici

A quest'ultima classe appartiene il metodo che utilizza lo "scattering" di una luce laser per l'analisi dimensionale.

2. PRINCIPIO DEL METODO

Senza entrare nella trattazione teorica del fenomeno fisico che è alla base del metodo si può dire che un raggio di luce laser che colpisce una particella può essere deviato o assorbito. La luce deviata è formata dalla luce riflessa, rifratta e difratta sulla sezione trasversale della particella e il processo di deviazione è chiamato

"scattering" (Fig. 7). L'intensità della luce scatterata dalla particella è proporzionale alle dimensioni della particella mentre l'angolo di "scattering" è inversamente proporzionale alla grandezza. La maggior parte delle apparecchiature commerciali usano come sorgente un laser He-Ne (λ = 0,63 um) e come teoria la diffrazione di Fraunhofer. In queste condizioni, mentre non possono essere determinate particelle di dimensioni uguali o inferiori alla lunghezza d'onda del raggio incidente, il limite superiore può raggiungere anche diverse centinaia di micron.

3. APPARECCHIATURA SPERIMENTALE

In questi ultimissimi anni diversi apparecchi che sfruttano il principio riportato precedentemente sono comparsi sul mercato. Qui di seguito sarà descritto il funzionamento e le caratteristiche del Microtrac Modello 7995-12 costruito dalla Leeds and Northrup.

Lo schema semplificato dell'apparecchio è riportato nella Fig. 8. In breve, il campione da analizzare, sospeso in acqua, viene fatto passare attraverso una cella a flusso continuo dove avviene lo "scattering" della luce laser. La quantità e la direzione della luce scatterata dalle particelle sono analizzate attraverso dei filtri ottici e dei rivelatori e mandate a un microcomputer che controlla le fasi del processo e fornisce i dati relativi alla distribuzione dimensionale delle particelle.

Gli intervalli di grandezza dimensionale delle particelle (espressi come diametri in um) coperti da tre gruppi di ottiche intercambiabili sono 0,7-125 um, 0,9-176 um e 1,6-300 um. Ogni intervallo è diviso in 15 canali (classi) dimensionali.

Il tempo di misura può variare continuamente da 1 a 999 secondi e le misure possono essere ripetute automaticamente da 1 a 99 volte con la stampa finale della media.

4. APPLICAZIONE DELLA TECNICA AL TERRENO

Questa tecnica è stata messa a punto solo recentemente e sebbene sia molto versatile e siano noti diversi campi di applicazione (Plantz, 1984) fino a questo momento, salvo i due casi che saranno descritti successivamente, non risulta sia stata mai impiegata nell'analisi del terreno.

4.1. Analisi granulometrica

La distribuzione dimensionale delle particelle è uno dei sistemi più vecchi per descrivere differenze o somiglianze tra terreni diversi.

Il sistema di analisi più seguito è quello che prevede una combinazione tra un setacciamento meccanico e la determinazione, a tempi diversi, di particelle sospese in un liquido. D'altra parte il metodo della pipetta è lungo e tedioso e necessita di una concentrazione di materiali in sospensione che, in alcuni casi, come ad esempio

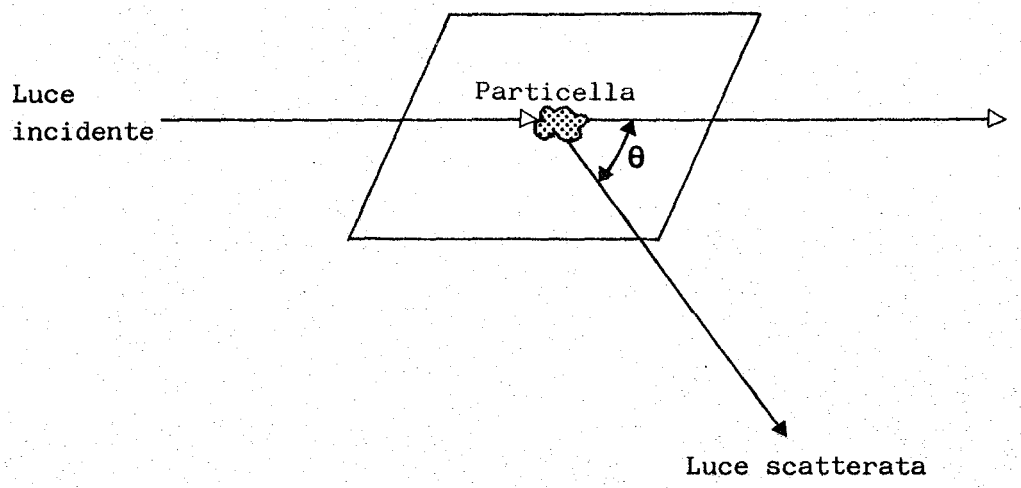


Fig. 7 - Scattering della luce da parte di una singola particella.

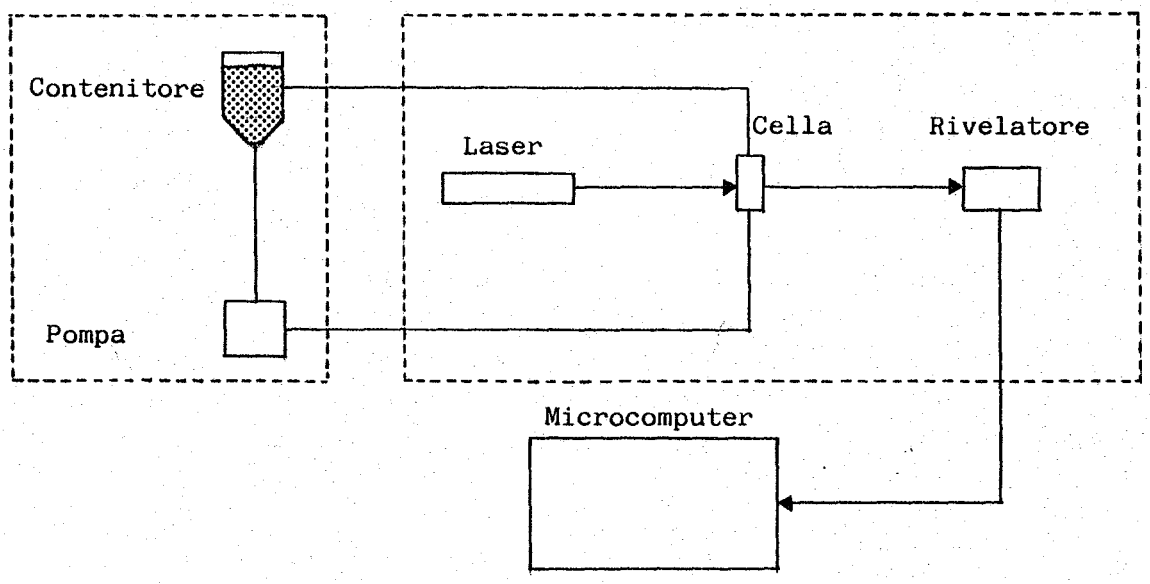


Fig. 8 - Schema semplificato del Microtrac Modello 7995-12

di acque contenenti sedimenti, è difficile da ottenere. Inoltre, la preparazione del campione può distruggere od alterare alcune proprietà caratteristiche del sedimento. Per questi motivi alcuni ricercatori americani hanno applicato la tecnica dello "scattering" alla determinazione granulometrica di dieci terreni confrontando i risultati con quelli ottenuti dall' usuale metodo alla pipetta, combinato con il setacciamento a umido per le particelle di diametro compreso tra 62 e 176 um (Cooper et al., 1984). L'apparecchio utilizzato (Microtrac) poteva determinare particelle di diametro compreso tra 1.9 e 176 um ed era in grado di fornire dati riproducibili con quantità di solidi sospesi variabili tra 25 e 2000 mg/litro e con tempi di misura tra 50 e 100 secondi.

Il confronto mediante rette di regressione tra il metodo tradizionale e quello utilizzante lo "scattering" della luce laser ha mostrato una correlazione migliore (0,92) per gli intervalli di grandezza 62-31 um e 31-16 um.

L'ottima correlazione tra i dati ottenuti con il Microtrac e quelli con i metodi tradizionali è confermato dai valori riportati nella Figura 9 che si riferiscono all'analisi granulometrica di una sabbia divisa in quattro classi dimensionali (Pini e Guidi, dati non pubblicati).

Le conclusioni che Cooper aveva tratto nel suo lavoro erano che: 1) il Microtrac fornisce un metodo rapido per la determinazione dimensionale delle particelle, 2) che piccoli campioni possono essere analizzati con il Microtrac ma non con il metodo alla pipetta e 3) che sono necessarie ulteriori esperienze per riuscire a correlare al meglio possibile i dati ottenuti con il Microtrac con quelli derivati dal metodo alla pipetta.

Determinazione di microaggregati.

L'altro campo in cui è stato utilizzato lo scattering della luce laser è stato quello della determinazione dei microaggregati del terreno (Pini e Guidi, 1988). I microaggregati, definiti come gli aggregati di diametro inferiore di 250 um, sono importanti per una buona struttura ed anche perchè sono il primo passo per l'aggregazione di argille in strutture più complesse e più grandi. I microaggregati sono correlati ai pori contenenti l'acqua disponibile per le piante e sono anche, generalmente, assai stabili rispetto all'azione disgregante dell'acqua e meno sensibili alle lavorazioni a causa delle associazioni organo-minerali che agiscono come agenti leganti.

L'esperienza è stata condotta sulla frazione 1-2 mm di tre terreni strutturalmente carenti semplicemente sospesa in acqua e agitata per 20 minuti. Confronti sono stati eseguiti con campioni trattati con esametafosfato e sonicati.

Il set ottico scelto permetteva la determinazione di particelle nell'intervallo 1.6-300 um e, per evitare possibili interferenze sulla misura causata da particelle di diametro superiore a 300 um, queste

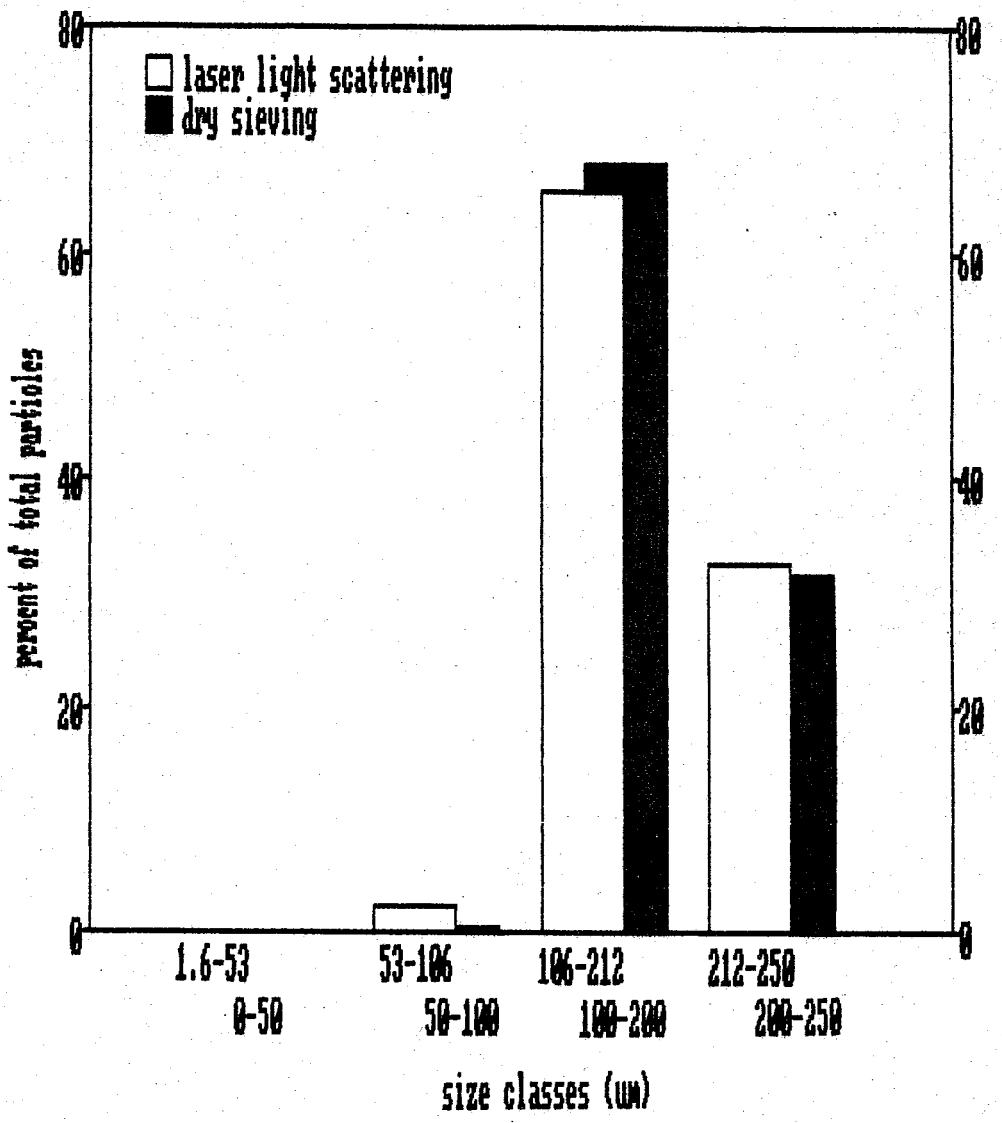


Fig. 9 - Confronto della distribuzione dimensionale delle particelle effettuate mediante "scattering" della luce laser e setacciamento a secco su una sabbia. I dati sono espressi in percento del totale.

erano allontanate prima della determinazione mediante setacciamento a umido con un setaccio avente maglie di 250 um.

Prove preliminari hanno permesso di mettere in evidenza che, per quantità dei campioni varianti da 0,05 a 3 grammi, l'apparecchio fornisce letture stabili negli intervalli dimensionali scelti (250-53 um, 53-19 um, 19-9,4 um, 9,4-1,6 um).

I microaggregati del terreno, essendo formati da un insieme di particelle più piccole, possono andare incontro a fenomeni di disgregazione quando, come nel sistema utilizzato dal Microtrac, sono continuamente fatti circolare nell'apparecchio spinti da una pompa e le forze di legame che tengono uniti i singoli componenti non sono particolarmente forti. In questo caso il tempo di misura deve essere sufficientemente lungo da assicurare un basso coefficiente di variazione ma non troppo lungo per evitare di fornire dati errati dovuti alla rottura degli aggregati e ridistribuzione dei frammenti in classi dimensionali più piccole. Questo compromesso è stato trovato utilizzando tempi di misura compresi tra 3 e 12 secondi. Un esempio di quanto detto sopra è riportato nelle Tabelle 1 e 2. Nella Tab. 1 è riportato l'andamento della stabilità dei microaggregati dall'inizio della circolazione della sospensione nel sistema di misura dell'apparecchio. Da dati riportati nella Tab. 2, che si riferiscono alla determinazione effettuata sul campione di terreno trattato con esametafosfato e ultrasuoni, si vede che, la distribuzione dimensionale delle particelle non dipendeva né dal tempo di misura né dal tempo di permanenza nell'apparecchio. Inoltre la quantità di particelle presenti nella classe 250-53 um nel terreno trattato con acqua non è inferiore a quella trovata per il terreno disgregato.

Si può dire perciò che lo scattering di una luce laser è una tecnica molto utile per la determinazione della distribuzione dimensionale dei microaggregati del terreno. Le analisi sono facili da eseguire e la velocità notevole in quanto ogni determinazione richiede al massimo solo alcuni minuti. Nel caso di microaggregati instabili bisogna prestare attenzione nella scelta del tempo di misura.

5. Conclusioni

Questa tecnica è praticamente nuova per il terreno. Tuttavia, anche se fornisce dei dati ottenibili anche con metodi tradizionali, si farà sicuramente apprezzare per la sua velocità, affidabilità e versatilità.

TABELLA 1

Variazione della distribuzione dimensionale degli aggregati del terreno PT rispetto al tempo di misura e a quello di permanenza nell'apparecchio. I dati si riferiscono al terreno trattato con acqua e sono espressi in percento dei microaggregati totali.

Classi dimensionali (um)	Tempo di misura (secondi)						D.M.S.*
	3	6	12	25	50	100	
			Prima determinazione				
250.0 - 53.0	42	42	43	44	37	30	2
53.0 - 19.0	28	26	25	28	27	24	2
19.0 - 9.4	7	10	12	9	18	14	2
9.4 - 1.6	23	22	20	19	18	32	2
			Dopo cinque minuti				
250.0 - 53.0	23	24	25	25	24	25	2
53.0 - 19.0	27	26	24	26	24	23	2
19.0 - 9.4	16	19	18	19	17	14	2
9.4 - 1.6	34	31	33	30	35	38	3

* Differenza minima significativa al livello 0,05.

TABELLA 2

Variazione della distribuzione dimensionale dei microaggregati con il tempo di misura. I dati si riferiscono ai terreni trattati con esametafosfato e ultrasuoni e sono espressi come percento dei microaggregati totali.

Classi dimensionali (um)	Tempo di misura (secondi)						D.M.S.*
	3	6	12	25	50	100	
				Terreno PT			
250.0 - 53.0	26	27	25	26	28	27	2
53.0 - 19.0	28	28	27	29	27	29	2
19.0 - 9.4	14	15	15	14	15	14	1
9.4 - 1.6	32	30	33	31	30	30	2

* Differenza minima significativa al livello 0,05.

BIBLIOGRAFIA

Churchman, G.S., e Payne, D., (1983). Mercury intrusion porosimetry of some New Zeland soils in relation to clay mineralogy and texture. J. Soil Sci., 34, 437-451.

Collins, K., (1983). Scanning electron microscopy of engineering soils. Geoderma, 30, 243-252.

Cooper, L.R., Haverland, R.L., Hendricks, D.M., e Knisel, W.G., (1984). Microtrac particle-size analyzer an alternative particle size determination method for sediment and soils. Soil Sci., 138, 138-146.

Diamond, S., (1970). Pore size distributions in clays. Clays Clay Miner., 18, 7-23.

Greenland, D.J., (1977). Soil damage by intensive arable cultivation: temporary or permanent? Phil. Trans. Roy. Soc. (London), B, 281, 193-208.

Guidi, G., Pera, A., Giovannetti, M., Poggio, G., e De Bertoldi, M., (1988). Variations of soil structure and microbial population in a compost amended soil. Plant Soil, 106, 113-119.

Guidi, G., e Poggio, G., (1987). Some effects of compost on soil physical properties. pp. 577-583. In: Compost: production, quality and use, M. De Bertoldi, M.P. Ferranti, P. L'Hermite, F. Zucconi (Ed.) Elsevier Appl. Sci., New York.

Guidi, G., Poggio, G., e Petruzzelli, G., (1985). The porosity of soil aggregates from bulk soil and from soil adhering to roots. Plant Soil, 87, 311-314.

Homshaw, L.G., e Cambier, P., (1980). Wet and dry size distribution in a kaolinitic soil before and after removal of iron and quarz. J. Soil Sci., 31, 415-428.

Klock, G.O., Boersma, L. e De Backer, L.W., (1969). Pore size distributions as measured by the mercury intrusion method and their use in predicting permeability. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 33, 12-15.

Konstankiewicz, K., e Stawinski, J., (1976). The use of the mercury porosimeter for studies of some soil properties. Polish J. Soil Sci., 9, 3-10.

Lawrence, G.P., (1977). Measurement of pore sizes in fine-textured soils: a review of existing techniques. J. Soil Sci., 28, 527-540.

Lawrence, G.P., (1978). Stability of soil pores during mercury intrusion porosimetry. J. Soil Sci., 29, 299-304.

Lawrence, G.P., Payne, D., e Greenland, D.J., (1979). Pore size distribution in critical point and freeze dried aggregates from clay subsoils. J. Soil Sci., 30, 499-516.

Nagpal, N.K., Boersma, L. e De Backer, L.W. (1972). Pore size distributions of soil from mercury intrusion porosimeter data. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 36, 264-267.

Olson, K.R., (1985). Characterization of pore size distributions within

soils by mercury intrusion and water-release methods. Soil Sci., 139, 400-404.

Olson, K.R., (1987). Method to measure soil pores outside the range of mercury intrusion porosimeter. Soil Sci. Soc. Am. J., 51, 132-135.

Pini, R., e Guidi, G., (1988). Determination of soil microaggregates with laser light scattering. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. (in stampa).

Plantz, P.E., (1984). Particle size measurements from 0.1 to 1000 um based on light scattering and diffraction pp. 173-209. In: Modern methods of particle size analysis, H.G. Barth (Ed) John Wiley and Sons, New York.

Ragab, R., Feyen, J., e Hillel, D., (1982). Effect of the method for determining pore size distribution on prediction of the hydraulic conductivity function and of infiltration. Soil Sci., 132, 141-145.

Sills, I.D., Aylmore, L.A.G. e Quirk, J.P. (1973a). A comparison beween mercury injection and nitrogen sorption as methods of determining pore size distributions. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 37, 535-537.

Sills, I.D., Aylmore, L.A.G., e Quirk, J.P., (1973b). An analysis of pore size in illite - kaolinite mixtures. J. Soil Sci., 24, 480-490.

Sills, I.D., Aylmore, L.A.G., e Quirk, J.P. (1974). Relationship between pore size distributions and physical properties of clay soils. Aust. J. Soil Res., 12, 107-117.

Thompson, M.L., McBride, J.F., e Horton, R., (1985). Effect of drying treatments on porosity of soil materials. Soil Sci. Soc. Amer. J., 49, 1360-1364.

Vachier, P., Cambier, P., e Prost, R., (1979). Structure d'un milieu poreux: la craie. Ann. agron., 30, 247-263.

Vigna Guidi, G., Pini, R., e Poggio, G., (1988). Porosity in a puddled rice soil as measured with mercury-intrusion porosimetry. Soil Sci. (in stampa).

Washburn, E.W., (1921). Note on a method of determining the distribution of pore sizes in a porous material. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 7, 115-116.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

LA VALUTAZIONE DELLE PERDITE DI N_2O DAL SUOLO

P.G. Arcara
Istituto Sperimentale per lo Studio e la Difesa del Suolo, Piazza Massimo D'Azeglio 30, 50121 Firenze

RIASSUNTO

La relazione esamina il significato del protossido di azoto nell'atmosfera e riferisce brevemente sulle principali fonti telluriche che ne determinano la presenza e sulle relazioni tra emissione di N_2O e condizioni chimico fisiche del suolo. Sono riportate dettagliatamente le metodologie di pieno campo e di laboratorio idonee ad una valutazione semplice, accurata e poco dispendiosa del protossido d'azoto svolto dal terreno. Al termine vengono riferiti i livelli delle perdite misurate in vari sistemi agrari anglosassoni e in alcune aree sperimentali italiane a grano e a prato.

SUMMARY

The paper deals briefly with the meaning of nitrous oxide in the atmosphere and with its main telluric sources. Some relationships between nitrous oxide emission and soil characteristics are examined. Simple, careful and up to date methods for nitrous oxide evaluation in open field and in laboratory are reported in detail. At the end rates of nitrous oxide emissions from different cropped and fertilized soils are referred.

1. INTRODUZIONE

Da circa un secolo il protossido d'azoto (N_2O) è annoverato tra i gas presenti nella composizione dell'atmosfera terrestre e la sua concentrazione stimata attorno a 300 ppb ma solo negli ultimi quindici anni questo gas è divenuto oggetto di crescente interesse da parte di diversi settori della ricerca applicata in conseguenza del ruolo che sembra avere nella catalisi distruttiva dell'ozono che protegge la biosfera da un'eccessiva penetrazione di raggi ultravioletti. Tra la fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80 particolare attenzione è stata data all'ipotesi che l'N_2O rilasciato nell'atmosfera dalla denitrificazione dei nitrati presenti nel suolo e nelle acque potesse essere la molla capace di far scattare le reazioni che determinano la parziale distruzione della fascia stratosferica dell'ozono.

Questa ipotesi, largamente pubblicizzata e talora divulgata con eccessiva disinvoltura, ha sollevato notevoli preoccupazioni a livello internazionale sull'uso dei fertilizzanti azotati visti come possibili agenti di elevate emissioni dal suolo di N_2O prodotto nel corso della denitrificazione dei nitrati derivanti dalla fertilizzazione. Fortunatamente le preoccupanti valutazioni del Council for Agricultural Science and Technology (CAST, 1976) e di numerosi Autori anglosassoni (Crutzen and Ehhalt, 1977; Hahn and Junge, 1977; Liu et al., 1977; Mc Elroy et al., 1976) basate su modelli di previsione formulati verso la metà degli anni '70 sono risultate confermate solo in alcuni casi ma molto lavoro deve essere ancora fatto per arrivare ad una completa identificazione sia delle principali fonti che degli "scarichi" dell'N_2O nel suolo e per una soddisfacente valutazione del tempo di persistenza del gas nell'atmosfera.

2. IL SUOLO COME FONTE E COME SCARICO DI N_2O

Sebbene una grande parte della letteratura internazionale prodotta fino al volgere degli anni '70 e riguardante le fonti del protossido di azoto presente nell'atmosfera fosse partita dall'assunto che questo gas provenisse largamente, se non interamente, dalla riduzione anaerobica dei nitrati per opera dei microrganismi denitrificanti, molteplici indagini successive hanno evidenziato che buona parte dell'N_2O può derivare dall'ossidazione aerobica dell'ammonio a nitrato condotta nel suolo dai microrganismi nitrificanti (Bremner and Blackmer 1981; Delwiche, 1981; Freney et al., 1979). Molti Autori ritengono oggi che vi sia una sostanziale equivalenza nelle perdite di azoto sotto forma di N_2O dai suoli agrari dovute ai processi di nitrificazione e di denitrificazione e il maggior peso dell'uno o dell'altro processo deve essere attribuito al tipo dei fertilizzanti (composti ammoniacali o nitrici) impiegati (Bremner et al., 1981; Breitembeck et al., 1980; Mosier and Hutchison, 1981; Sahrawat and Keeney, 1986; Cates and Keeney, 1987); secondo Duxbury and Mc Connaughey (1986) la comparabilità delle perdite di N_2O dal suolo per nitrificazione con quelle derivanti dalla somministrazione di nitrati è particolarmente evidente nel caso della fertilizzazione con urea. Recentemente altre fonti biologiche di protossido di azoto nel suolo sono state riscontrate da Bleakley and Tiedje (1982) e da Robertson and Tiedje (1987) e, sebbene non completamente identificate, sono state riferite alla biomassa fungina o a particolari gruppi di microrganismi (Smith and Zimmerman, 1981).

Come è stato accennato sopra, il suolo fornisce non solo le fonti ma anche gli scarichi biologici attraverso i quali l'N_2O viene trasformato e riassorbito o ridotto e svolto in forma di azoto elementare; tali scarichi operano spesso contemporaneamente alle sorgenti e il loro diverso grado di attività può essere una delle spiegazioni

delle ampie fluttuazioni riscontrabili nelle misurazioni eseguite nel corso del tempo sullo stesso suolo o contemporaneamente in suoli diversi. Tra i fattori capaci d'influire sull'emissione o meno di N_2O dal suolo hanno rilevanza indiscussa il contenuto di sostanza organica, la concentrazione dei nitrati, la temperatura del suolo e il suo contenuto idrico, (Arcara et al., 1985; Ryden and Rolston, 1983; Rolston, 1981; Firestone et al., 1980; Bremner et al., 1980; Terry and Tate, 1980; Ryden and Lund, 1980; Goodroad and Keeney, 1984 a).

La sostanza organica debolmente umificata riduce fortemente la liberazione di N_2O dal terreno promuovendo la completa riduzione dei nitrati ad azoto mentre alte concentrazioni di nitrato nel suolo sono state indicate come causa dello sbilanciamento del rapporto N_2O/N_2 (i due prodotti terminali della denitrificazione) a favore dell'N_2O. Temperatura elevata e saturazione idrica del suolo attivano generalmente la completa denitrificazione del nitrato ma fasi alterne di umidificazione ed essiccazione determinano sovente elevati picchi di emissione di N_2O al pari delle basse temperature di fine inverno coincidenti con la fase del disgelo dei terreni (Goodroad and Keeney, 1984 b). Inoltre lo svolgimento di N_2O dei processi di nitrificazione può essere intensificato dalla scelta del fertilizzante ammoniacale: impiegando ammoniaca anidra e letame immaturo (Christiansen, 1983; Breitenbeck and Brenner, 1986) sono state registrate perdite di N_2O assai più elevate che con urea e nitrato ammonico.

3. LA DETERMINAZIONE DELL'N_2O: METODI E DISPOSITIVI

La breve rassegna sopraripportata delle cause di variazione nel flusso di N_2O dal terreno dà un'idea approssimativa delle difficoltà connesse con la grande variabilità spaziale del fenomeno cui si aggiunge anche il problema dei cicli giornalieri diversificati (Blackmer et al., 1982) ma ciononostante la semplificazione analitica consentita dai notevoli progressi effettuati nel corso degli anni '70 nel campo dei dispositivi e dei materiali per l'analisi gascromatografica ha favorito il moltiplicarsi delle ricerche in questo settore (Ryden e Rolston, 1983).

Pur esistendo teoricamente una buona possibilità di scelta nei dispositivi adottabili per la separazione e la rivelazione dell'N_2O per via gascromatografica, si può affermare che a tutt'oggi le colonne riempite con poropak Q e abbinate o meno con altre impaccate con setacci molecolari 5 Å sono tra le più idonee e le più diffuse nei laboratori impegnati in questo tipo d'indagini e i detector utilizzati, tra quelli possibili, sono prevalentemente due, quello a cattura di elettroni (EC) e quello a conduttività termica (TC). Se il rivelatore EC dispone dell'innegabile vantaggio di una più elevata sensibilità e quindi della possibilità di dosaggio di minime concentrazioni di

N_2O, non devono essere però trascurati i grandi meriti del rivelatore a conduttività termica consistenti in una grande stabilità, facilità di ripetizione delle analisi e estrema semplicità operativa che possono consentire la raccolta di dati affidabili anche in condizioni non ideali di qualificazione dell'operatore.

La limitata sensibilità del rivelatore TC, inadatto a misure di concentrazione dell'N_2O inferiori a 15-20 ppm, ne impedisce l'uso quando si debbano effettuare misure puntuali in suoli non stimolati a sviluppare i processi di nitrificazione e di denitrificazione (mancanza di elementi fertilizzanti e di sostanza organica, eccessiva disidratazione ecc.) o su campioni molto esigui (pochi grammi di suolo) ma l'inconveniente può essere superato effettuando, come diremo tra poco, la concentrazione del gas su setacci molecolari (Ryden et al., 1979 a).

Come gran parte delle determinazioni relative all'attività biologica del suolo anche la valutazione delle perdite di N_2O dal terreno può essere eseguita alternativamente tramite misure "in situ" sul terreno indisturbato o con rilievi condotti in laboratorio su campioni sottoposti a manipolazione delle caratteristiche strutturali originarie. Al di là di differenze legate al grado più o meno elevato di sofisticazione dei dispositivi adottati (Denmead, 1979; Ryden et al., 1979 a; Matthias et al., 1980; Wickramasinghe et al., 1978; Hutchison and Mosier, 1981), entrambe le metodiche sopraddette possono essere sviluppate nell'ambito di due sistemi di raccolta dei campioni gassosi: il sistema a flusso continuo e il sistema statico. Mentre il sistema statico offre il vantaggio di una maggiore semplicità di realizzazione dell'apparecchiatura necessaria, l'applicazione del flusso continuo d'aria al dispositivo per le misure "in situ" permette di ridurre al minimo l'alterazione dell'atmosfera soprastante la superficie del suolo preso in esame e di raccogliere in breve tempo (2-3 ore d'incubazione) quantità di protossido d'azoto facilmente analizzabili con un gascromatografo munito di rivelatore TC.

Gli elementi fondamentali per le determinazioni "in situ" e in flusso d'aria dell'N_2O emesso dal terreno sono dati dalla camera d'incubazione, ossia da un cilindro metallico del diametro di 40 cm, chiuso superiormente con una copertura trasparente mobile, infisso nel terreno alla profondità di 5-10 cm e munito di due rubinetti laterali per consentire il passaggio di un flusso continuo d'aria al suo interno, prodotto da una pompa aspirante collegata con uno dei rubinetti. Tra il cilindro e la pompa vanno inserite alcune trappole chimiche (ascarite o cloruro di calcio e idrossido di potassio) destinate a bloccare l'anidride carbonica svolta dal suolo durante la prova e un letto di setacci molecolari 5 Å per la raccolta dell'N_2O, (Ryden et al., 1979 a, 1979 b; Arcara e Sparvoli 1982). L'eliminazione della CO_2 è necessaria per evitare la sovrapposizione, nel corso dell'analisi gascromatografica con colonne di poropak Q, del suo picco con quello

dell'N_2O.

I setacci molecolari arricchiti di N_2O possono essere conservati in contenitori chiusi e la liberazione del gas va effettuata al momento dell'analisi idratando i setacci sotto vuoto (Ryden et al., 1979 a).

Il metodo sopraddetto, da noi utilizzato ripetutamente nello studio di perdite di azoto come protossido da colture di grano e in prati artificiali, è risultato penamente soddisfacente, relativamente economico e, corredando l'apparecchiatura di un piccolo generatore portatile di corrente, di semplice esecuzione e applicabilità in qualunque ambiente; molto adatto per terreni sciolti e per colture non soggette a frequenti operazioni colturali, il metodo presenta alcuni limiti nelle colture interessate da frequenti passaggi di macchine operatrici o in terreni caratterizzati dalla ricorrente comparsa di vistose crepacciature.

La tecnica dell'esposizione della superficie del terreno ad un piccolo flusso continuo di aria e della raccolta e concentrazione dell'N_2O sviluppato su setacci molecolari è applicabile con successo anche in laboratorio (Arcara et al., 1985).

Il dispositivo è costituito da una bottiglia di vetro a collo largo da 1000 ml con tappo a vite a tenuta di gas, opportunamente modificata con l'inserzione di due rubinetti laterali e un setto perforabile sul coperchio, contenente il terreno in esame (almeno 300 g), un sistema di trappole per la trattenuta dell'umidità e della CO_2 e un letto di setacci molecolari 5 Å per la cattura dell'N_2O. L'aria viene fatta fluire con continuità per dieci giorni attraverso i vari elementi del dispositivo collegati l'uno all'altro nell'ordine sopraddetto, utilizzando una bombola come fonte di erogazione ed un flussimetro di precisione che ne regola la portata (30-35 ml/min.); il campionamento e la sostituzione dei setacci vengono eseguiti ogni 24-48 h.

Questo metodo consente una precisa valutazione sia quantitativa che qualitativa dell'N_2O liberato dal terreno in condizioni controllate ed è particolarmente utile quando si voglia studiare la reazione di vari tipi di suolo all'aggiunta di vari composti quali fertilizzanti minerali e organici, estratti umici, erbicidi ecc. I suoi limiti sono costituiti solo dalla lunghezza del tempo di svolgimento e da una certa laboriosità di preparazione del dispositivo.

Una metodica che rappresenta una situazione di compromesso tra quella di pieno campo sul suolo indisturbato e quella di laboratorio su campioni più o meno profondamente manipolati è quella basata sull'impiego di carote prelevate con il minor disturbo possibile delle caratteristiche strutturali e rapidamente incubate in contenitori chiusi, a temperature analoghe a quelle del suolo, (Tiedje, 1982; Ryden et al., 1987). Il contenitore, alto circa 15 cm, deve essere a tenuta di gas ed avere un setto perforabile sul coperchio per il prelievo

del campione gassoso da analizzare dopo 24 h di incubazione. Il diametro delle carote può variare da 3,5 a 7 cm: nel primo caso è opportuno disporre in ogni contenitore almeno tre carote mentre è sufficiente una sola carota se del massimo diametro indicato. Questa tecnica può essere impiegata vantaggiosamente per determinazioni puntuali ma richiede un elevato numero di ripetizioni ed è sconsigliabile per studi del processo che necessitino di incubazioni superiori alle 24 h.

Tutti i metodi sopradescritti per la misura dell'N_2O globalmente svolto dal suolo possono essere adottati per studiare le perdite di azoto riferibili al solo processo di denitrificazione a patto che siano eseguiti in presenza di acetilene che come è ben noto blocca la trasformazione dell'N_2O ad azoto molecolare ed inibisce la nitrificazione, (Smith et al., 1978; Ryden et al., 1979 a; Yoshinari and Knowles, 1976; Aulakh et al., 1984). Nel caso delle misure "in situ" la diffusione dell'acetilene nel suolo viene ottenuta con varie modalità la più usata delle quali consiste nel saturare l'atmosfera della camera d'incubazione con questo gas un'ora prima dell'inizio della prova; a quel momento la camera viene aperta, ventilata per consentire il ripristino della normale atmosfera al suo interno e quindi richiusa. Nelle prove di laboratorio in flusso si procede facendo fluire attraverso il dispositivo d'incubazione una miscela d'aria con acetilene all'1-2%, mentre nelle prove statiche con carote è sufficiente iniettare nel contenitore acetilene in quantità pari al 10% del volume libero del recipiente che contiene le carote. Nonostante il parere diverso di Ryden et al (1987), la nostra esperienza ci spinge a suggerire di effettuare l'incubazione in un'atmosfera inerte di argon.

4. ENTITA' DELLE EMISSIONI DI N_2O DAL SUOLO

L'entità delle perdite gassose di azoto, sotto forma di protossido, dai suoli agrari è tuttora valutabile solo in via provvisoria in ragione della limitatezza delle indagini condotte rispetto alla grande variabilità spaziale del fenomeno e delle molte interazioni che esso può avere con i fattori della produzione (fertilizzazione, irrigazione, ecc.) tuttavia molti dati attualmente disponibili (Mosier and Hutchison, 1981; Cates and Keeney, 1987; Duxbury and Mc Connaughey, 1986) inducono a ritenere che i fertilizzanti minerali azotati (esclusa l'ammoniaca anidra) provochino mediamente perdite di azoto, come N_2O, non superiori al 3% del totale somministrato mentre valori più elevati possono verificarsi in conseguenza di diverse modalità di irrigazione (Terry et al., 1986) e, soprattutto, con i fertilizzanti organici che possono dare origine a perdite di azoto in forma di N_2O pari al 10% del totale.

I risultati da noi ottenuti in alcuni ambienti italiani in una serie di indagini svolte nell'ambito del progetto finalizzato IPRA

del CNR concordano con le più recenti indicazioni della letteratura internazionale relativamente alle emissioni di N_2O da colture fertilizzate con urea o con nitrato ammonico (Arcara e al., in stampa), mentre sono meno direttamente riferibili a quelli degli Autori anglosassoni nel caso dei fertilizzanti organici. Infatti la somministrazione di liquami a colture foraggere (Arcara e Spallacci, in stampa) ha dato origine a emissioni di N_2O elevatissime nei primi dieci giorni dallo spandimento ma successivamente le perdite si sono bruscamente attenuate e complessivamente non hanno superato il 10% dell'azoto minerale del fertilizzante. Tali perdite, comunque, sono risultate ben più consistenti di quelle verificate con l'impiego di letame maturo o di molti materiali organici compostati, a differenza di quanto osservato da Duxbury et al. (1981) e da Christiansen (1983).

Infine abbiamo rilevato risultati estremamente variabili in funzione del tipo di suolo e di estratto, saggiando in laboratorio l'aggiunta al terreno di estratti umici e riteniamo che considerazioni più significative su tali composti potranno essere fatte solo dopo una precisa definizione, a livello industriale, dei procedimenti di estrazione e di purificazione.

5. BIBLIOGRAFIA

Arcara P.G. e E.Sparvoli -1982 - Biological fertility valuation in the meadows: in situ assay of nitrogen fixation and denitrification.-In: Evolution du niveau de fertilite des sols dans differents systemes de culture. F.Lanza ed. I.S.A. Bari; 89-98.

Arcara P.G., M.Gispert, F.Prignano - 1985 - Denitrification, organic matter and physico-chemical properties in four italian soils.- In: Current perspectives in Environmental Biogeochemistry -G. Giovannozzi & P. Nannipieri eds. I.P.R.A., Roma.

Arcara P.G., E.Gregori, N.Miclaus - in stampa - Denitrificazione e perdite di azoto (N_2O) da suoli a grano fertilizzati con urea, nitrato ammonico e letame.

Arcara P.G., P.Spallacci - in stampa - Perdite gassose di azoto (N_2O) da suoli argillosi a prato fertilizzati con azoto minerale e organico.

Aulakh M.S., D.A.Rennie and E.A.Paul - 1984 - Acetylene and N-serve effects upon N_2O emissions from NH_4^+ and NO_3^- treated soils under aerobic and anaerobic conditions - Soil Biol.Biochem. 16,4; 351-356.

Blackmer A.M., S.G.Robbins and J.M.Bremner - 1982 - Diurnal variability in rate of emission of nitrous oxide from soils - Soil Sci.Soc.Am.J., 46; 937-942.

Bleakley B.H. and J.M.Tiedje - 1982 - Nitrous oxide production by organisms other than nitrifiers or denitrifiers - Applied and Environmental Microbiology, 44; 1342-1348.

Breitenbeck G.A., A.M.Blackmer and J.M.Bremner - 1980 - Effects of different nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from soil - Geophys.Res.Letter, 7; 85-88.

Breitenbeck G.A., J.M.Bremner - 1986 - Effects of various nitrogen fertilizers on emission of nitrous oxide from soil - Biol.Fert.Soils, 2; 195-199.

Bremner J.M., S.G.Robbins and A.M.Blackmer - 1980 - Seasonal variability in emission of nitrous oxide from soil - Geophis.Res.Lett. 7; 641-644.

Bremner J.M. and A.M.Blackmer - 1981 - Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide - In: Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide - C.C.Delwiche ed. J.Wiley & Sons, New York; 151-170.

Bremner J.M., G.A.Breitenbeck, A.M.Blackmer - 1981 - Effect of anhydrous ammonia fertilization on emission of nitrous oxide from soils- J.Environ. Qual. 10; 77-80.

Cates R.L. jr. and D.R.Keeney - 1987 - Nitrous oxide production throughout the year from fertilized and manured maize fields - J.Environ. Qual. 16; 443-447.

Christiansen S. - 1983 - Nitrous oxide from a soil under permanent grass: seasonal and diurnal fluctuations as influenced by manuring and fertilization - Soil Biol. Biochem, 15; 531-536.

Council for Agricultural Science and Technology - 1976 - Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone - CAST Report n°53, Iowa State Univ., Ames IA.

Crutzen P.J., D.H.Ehhalt - 1977 - Effects of nitrogen fertilizers and combustion on the stratospheric ozone layer - Ambio, 6; 112-117.

Delwiche C.C. - 1981 - The nitrogen cycle and nitrous oxide - In: Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide - C.C.Delwiche, ed. - J.Wiley & Sons, New York; 1-15.

Denmead O.T. - 1979 - Chamber systems for measuring nitrous oxide emission from soils in the field - Soil Sci.Soc.Am.J., 43; 89-95.

Duxbury J.M., D.R.Bouldin, R.E.Terry and R.t. Tate - 1981 - Emissions nitrous oxide from soils - Nature, 298; 462-464.

Duxbury J.M. and P.K.Mc Connaughey - 1986 - Effect of fertilizer source on denitrification and nitrous oxide emissions in a maize-field

- Soil Sci.Soc.Am.J. 50; 644-648.

Freney J.R., Denmead O.T. and Simpson J.R. - 1979 - Nitrous oxide emission from soils at low moisture contents - Soil Biol.Biochem. 11; 167-173.

Firestone M.K., R.B.Firestone and Tiedje J.M. - 1980 - Nitrous oxide from soil denitrification: factors controlling its biological production - Science 208; 749-751.

Goodroad L.L., D.R.Keeney - 1984 a - Nitrous oxide production in aerobic soils under varying pH, temperature and water content - Soil Biol.Biochem. 16; 39-43.

Goodroad L.L., D.R.Keeney - 1984 b - Nitrous oxide emissions from soils during thawing - Can.J. Soil Sci., 64; 187-194.

Hahn J. and C.Junge - 1977 - Atmospheric nitrous oxide: a critical review. Naturforsch - 32; 190-192.

Hutchinson G.L. and A.R.Mosier - 1981 - Improved soil cover method for field measurement of nitrous oxide fluxes - Soil Sci.Soc.Am.J., 45; 311-316.

Liu S.C., R.J.Cicerone, T.M.Donahue, W.L.Chamedies - 1977 - Sources and sinks of atmospheric N_2O and the possible ozone reduction due to industrial fixed nitrogen fertilizers - Tellus, 29; 251-263.

Matthias A.D., A.M.Blackmer, J.M.Bremner - 1980 - A simple chamber technique for field measurement of emissions of nitrous oxide from soils - J.Environ.Qual., 9; 251-257.

Mc Elroy M.B., J.W.Elkins, S.C.Wofsy, Y.L.Young - 1976 - Sources and sinks for atmospheric N_2O - Rev.Geophys.Space Phys. 14; 143-150.

Mosier A.R., G.L.Hutchinson - 1981 - Nitrous oxide emissions from cropped fields - J.Environ.Qual., 10; 169-173.

Robertson G.P., J.M.Tiedje - 1987 - Nitrous oxide sources in aerobic soils: nitrification, denitrification and other biological processes - Soil Biol.Biochem, 19; 187-193.

Rolston D.E. - 1981 - Nitrous oxide and nitrogen gas production in fertilizer loss - In: Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide - C.C.Delwiche ed., J.Wiley & Sons, New York.

Ryden J.C., L.J.Lund, D.D.Focht - 1979 a - Direct in - field measurement of nitrous oxide flux from soils - Soil Sci.Soc.Am.J. 42; 731-737.

Ryden J.C., L.J.Lund, J.Letey, D.D.Focht - 1979 b - Direct measurements of denitrification loss from soils: II Development and application of field methods - Soil Sci.Soc.Am.J. 43; 110-118.

Ryden J.C., L.J.Lund - 1980 - Nature and extent of directly measured denitrification losses from some irrigated vegetable crop production units. Soil Sci.Soc.Am.J., 44; 505-511.

Ryden J.C., D.E.Rolston - 1983 - The measurement of denitrification - In: Gaseous loss of nitrogen from plant-soil systems - J.R.Freney and J.R.Simpson, eds. -M.Nijhoff, The Hague; 91-132.

Ryden J.C., J.H.Skinner, D.J.Nixon - 1987 - Soil core incubation system for the field measurements of denitrification using acetylene-inhibition- Soil Biol.Biochem. 19, 753-757.

Sahrawat K.L., D.R.Keeney - 1986 - Nitrous oxide emission from soils - Adv. Soil Sci. 4; 103-148.

Smith M.S., M.K.Firestone, J.M.Tiedje - 1978 - The acetylene inhibition method for short term measurement of soil denitrification and its evaluation using nitrogen 13 - Soil Sci.Soc.Am.J., 42; 611-615.

Smith M.S., K.Zimmerman - 1981 - Nitrous oxide production by nondenitrifying soil nitrate reducers - Soil Sci.Soc.Am.J., 45; 865-871.

Terry R.E. and R.L.Tate - 1980 - The effect of nitrate on nitrous oxide reduction in organic soils and sediments - Soil Sci.Soc.Am.J., 44; 744-746.

Terry R.E., E.N.Jellen, D.P.Breakwell - 1986 - Effect of irrigation method and acetylene exposure on field denitrification measurements Soil Sci.Soc.Am.J., 50; 115-120.

Tiedje J.M. - 1982 - Denitrification - In: Methods of soil analysis; part 2 - A.L. Page, ed. - Am.Soc.Agronomy, S.S.S.A. publ., Madison, U.S.A.; 1011-1026.

Wickramasinghe K.N., O.Talibudeen, J.F.Witty - 1978 - A gas flow-through system for studying denitrification in soils - J.Soil Sci., 29; 527-536.

Yoshinari T., R.Knowles - 1976 - Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria - Biochem.Biophys.Res.Commun., 69; 705-710.

I MICROELEMENTI DEL TERRENO

Verona 1988

Gianniantonio Petruzzelli*, Renato Levi-Minzi**
* Istituto Chimica Terreno, C.N.R., Via Corridoni 78, Pisa
**Istituto Chimica Agraria dell'Università, Via S. Michele degli Scalzi 2, Pisa

RIASSUNTO

Dopo aver ricordato la definizione, l'origine ed il contenuto dei microelementi nel terreno vengono brevemente passate in rassegna alcune delle principali tecniche analitiche utilizzate per la loro determinazione. Viene rimarcata l'importanza delle forme chimiche in cui i microelementi nel terreno sono presenti, o convenzionalmente separabili, in funzione di valutazioni nutrizionali ed ambientali. Si accenna infine alla non trascurabile possibilità di errore attribuibile al campionamento.

SUMMARY

Some of the more used analytical techniques for the determination of microelements in soil are briefly described Authors stress the importance of the chemical forms of microelements in soil to evaluate both the environmental and the nutritional role of these elements. Further improvements of sampling procedures are recommended.

1. INTRODUZIONE

Sono chiamati convenzionalmente microelementi gli elementi presenti nel terreno a concentrazioni $\lesssim$ 1.000 ppm. Essi pervengono al suolo prevalentemente per la rottura del reticolo cristallino della roccia madre, ma non devono essere trascurate altre fonti quali i fertilizzanti, i pesticidi, le acque di irrigazione, l'inquinamento industriale, i rifiuti urbani (Tab. 1).

I microelementi del terreno si possono classificare in: a) micronutritivi (Cu, Mn, Zn, Mo, B,.....) indispensabili per i vegetali a concentrazioni "normali", ma tossici in quantità eccessiva; b) non micronutritivi (Be, Bi, Cd, Cr, Pb, Ni,.....), normalmente inutili, ma tossici a concentrazioni più alte. Fa eccezione il Fe, che pur non

essendo, a rigore, un microelemento, manifesta funzioni micronutritive.

I vegetali assorbono i microelementi dal terreno, ove essi sono presenti in quantità molto variabili, riportate in Tab. 2.

Tuttavia, per essere assimilabili più o meno rapidamente dalle piante, i microelementi devono essere presenti in una delle seguenti forme, a disponibilità decrescente:

1) Come anioni (Mo, As, Se,....) o cationi (Fe, Cu, Mn, Zn,...) la cui disponibilità, di norma, varia al variare del pH: questa forma costituisce il pool dei microelementi immediatamente assimilabili dai vegetali.
2) Adsorbiti in forma scambiabile: in questa forma essi sono disponibili in breve tempo.
3) Legati ai minerali argillosi sui siti meno accessibili o chelati con la sostanza organica: queste forme sono messe a disposizione delle piante a medio termine.
4) Fortemente legati nei minerali o nelle sostanze organiche più complesse: questo pool di microelementi rappresenta le forme che si renderanno disponibili solo in determinate condizioni del mezzo, e comunque, nel lungo periodo.

I metalli polivalenti, in particolare, possono essere presenti nel terreno in differenti forme chimico-fisiche, di diversa dimensione, carica e densità. Esistono ioni semplici, molecole, vari prodotti di idrolisi, complessi con materiali organici ed inorganici, ecc. Tuttavia fino a non molto tempo fa la determinazione dei microelementi riguardava, salvo alcune importanti eccezioni, il contenuto totale nel terreno senza alcun riguardo verso la specie chimica. Oggi si è riconosciuta l'importanza predominante della specie chimica di un metallo, per quello che riguarda gli aspetti ambientali, mentre il valore totale concerne essenzialmente la caratterizzazione del terreno. Sebbene si utilizzino tuttora metodi gravimetrici o colorimetrici attualmente l'analisi dei microelementi si fonda prevalentemente sulla spettrometria di assorbimento atomico. Qui di seguito, oltre a questa tecnica, vengono brevemente ricordate alcune metodologie analitiche utilizzate (o utilizzabili) per la determinazione dei microelementi.

Spettrometria di assorbimento atomico

La tecnica, nota da tempo, è stata soggetta a numerosi miglioramenti ed affinamenti. Oltre una sessantina di elementi sono determinabili per spettroscopia di assorbimento atomico con concentrazioni uguali ed inferiore ad 1 mg/Kg. I metalli ed i metalloidi sono determinabili con i metodi usuali in fiamma, mentre i composti non metallici richiedono metodi indiretti di determinazione perchè le loro righe di risonanza compaiono nella regione dell'ultravioletto. Ad esempio il cloro può essere determinato per precipitazione con argento e successiva determinazione dell'eccesso del metallo.

Come noto la determinazione analitica prevede la preparazione del

campione sotto forma di soluzione; il principale svantaggio strumentale è che, in generale, si può misurare un solo elemento alla volta, anche se talora è possibile impiegare rivelatori costituiti da una schiera di diodi per la determinazione simultanea di più elementi.

L'impiego universale della spettrofotometria d'assorbimento atomico deriva dal fatto che, operativamente, è molto facile da usarsi, con notevoli possibilità di automatismi; la precisione è spesso migliore dell'1% ed i limiti di rivelabilità sono più che adeguati per quanto riguarda le analisi dei microelementi nel terreno.

Negli ultimi anni si è sviluppato inoltre l'impiego di atomizzatori a fornetto che presentano efficienze di conversione atomica molto più elevate degli atomizzatori di fiamma, anche se le interferenze sono maggiori, soprattutto se si varia la composizione della matrice. I limiti di rivelazione sono comunque, eccellenti, ad esempio 6×10^{-14} g per lo Zinco, 1×10^{-13} g per il Cadmio, 2×10^{-13} g per l'Argento.

Emissione a plasma

Tra i metodi di spettroscopia di emissione ha assunto, ultimamente, una rilevante importanza la scarica di plasma induttivamente accoppiato (I.C.P.).

La scarica ICP è causata dall'effetto di un campo di radiofrequenze su una corrente di gas. Grazie alle elevate temperature (all'interno di una scarica ICP la temperatura è di circa 10.000 K), si hanno minori interferenze rispetto alle tecniche di fiamma. Tutti i composti possono venire atomizzati al passaggio attraverso il camino caldo al centro della scarica. Per evitare interferenze di ionizzazione, si usa spesso un tampone spettroscopico (LiCl 1.000 ppm). Il metodo presenta il vantaggio di consentire la determinazione contemporanea di più elementi.

La spettrometria a plasma viene influenzata in minima parte da interferenze chimiche, mentre notevoli possono essere le interferenze spettrali, quando più elementi presenti in un campione hanno linee di emissione ravvicinate ad una stessa lunghezza d'onda. Per evitare errori quantitativi (il segnale calcolato è in realtà la somma di più segnali) possono essere utilmente impiegate tabelle di righe spettrali che aiutano anche nella identificazione e risoluzione delle interferenze spettrali (Boumans, 1980). Con strumenti di emissione a plasma sequenziale le interferenze spettrali possono essere risolte impiegando linee di emissione alternative per i vari elementi.

In alcuni casi la spettrometria a plasma presenta notevoli vantaggi rispetto all'assorbimento atomico in quanto che, una volta eseguita l'opportuna preparazione analitica le operazioni sono puramente ripetitive e non richiedono interventi di operatori esperti, la preparazione dei campioni è spesso semplificata e maggiore è il numero dei microelementi determinabili, ad esempio anche il Boro. Esistono tuttavia settori analitici in cui questa tecnica non può essere impiegata, quando soprattutto è richiesta una sensibilità molto elevata; in tal caso è

necessario ricorrere all'assorbimento atomico col fornetto di grafite. Un confronto dei limiti di rivelabilità è riportato nella Tab. 3.

L'analisi polarografica.

Le classiche metodologie polarografiche sono impiegate raramente nelle analisi dei microelementi nel terreno, tuttavia attualmente con l'introduzione di alcune varianti tecniche, in particolare l'analisi di strippaggio, i metodi voltammetrici hanno assunto un nuovo interesse applicativo. Con la voltammetria di strippaggio anodico, si arriva a sensibilità di parti per miliardo per i metalli pesanti nelle acque. La tecnica è applicabile nel caso di cationi metallici in grado di formare amalgami e di anioni che formano composti parzialmente solubili col mercurio. In breve, viene condotta una preelettrolisi a potenziale controllato, accumulando il materiale all'interno dell'elettrodo, sotto forma di amalgama, o alla superficie dell'elettrodo, e concentrando il materiale elettroattivo della soluzione originale da 10 a 500 volte. Questo aumento di concentrazione è seguito da una inversione della tensione dei potenziali, in corrispondenza della dissoluzione dell'amalgama o della riduzione catodica del mercurio dai sali di mercurio. I segnali della corrente sono una misura della quantità di amalgama o di sali di mercurio formatisi. Per deposizione catodica possono essere determinati ad esempio Cu, Pb, Zn, Cd. Per deposizione anodica si possono determinare alogenuri e solfuri a seconda del tipo di elettrodi impiegati.

Sebbene i risultati più probanti siano stati ottenuti nelle analisi delle acque o dei sedimenti, tale tecnica può essere impiegata anche per la soluzione del terreno, con notevole interesse, essendo in grado di consentire la distinzione tra frazioni metalliche "labili", essenzialmente legate da forze coulombiane, e frazioni "non labili" complessate ad esempio da materiali umici.

La sensibilità elevatissima della tecnica dipende, oltre che dalla concentrazione di un microelemento nella soluzione, dalla durata e dalla tecnica elettrochimica impiegata nella fase di strippaggio.

Elettrodi a ioni specifici

Questa tecnica potenziometrica si è sviluppata negli ultimi anni in seguito alla produzione di numerosi elettrodi ionoselettivi (ISE) in grado di rispondere selettivamente alla attività dello ione in esame. La risposta è di tipo logaritmico; ad esempio per un catodo si ha

$$E_{cella} = E_{costante} + E_{ise} = E^{1}_{costante} + \frac{RT}{nF} \ln a$$

Teoricamente l'errore relativo di concentrazione è indipendente dalla concentrazione effettiva, tuttavia la grandezza dell'errore è notevole; per i microelementi, in condizioni vicine a quelle ideali,

l'errore relativo di concentrazione è di circa ±1%. Per molti metalli pesanti, in condizioni di potenziali di giunzione liquida che variano da ±5 a ±10 mV, come avviene in soluzioni di elevata forza ionica, l'errore relativo di concentrazione può raggiungere anche il 50%. Si può talora superare questa limitazione utilizzando gli elettrodi specifici come indicatori del punto finale di titolazioni potenziometriche. Caratteristica degli elettrodi ionoselettivi è la capacità di misurare l'attività di uno ione e ciò risulta particolarmente utile nelle determinazioni cinetiche (Aringhieri, Carrai, Petruzzelli, 1985).

Per quanto riguarda le interferenze esse sono dovute alla presenza di reazioni chimiche nel mezzo in analisi, ad esempio alla complessazione di un microelemento, ovvero alla bassa specificità dell'elettrodo che può rispondere anche ad ioni diversi da quello per cui è stato progettato. E' evidente che entrambi gli inconvenienti sono da tenersi in attenta considerazione lavorando sul terreno, matrice particolarmente complessa.

Nel caso di risposta a più di uno ione l'equazione può essere modificata in:

$$E_{cella} = E^{1}_{costante} + \frac{RT}{nF} \ln (a_1 + K_{ij} a_j^{n/z})$$

dove a_j è l'attività dello ione interferente e Z la sua carica, K_{ij} è il coefficiente di selettività; quest'ultimo può variare da zero fino a 1000.

Cromatografia ionica

La determinazione delle specie ioniche di molti microelementi può essere effettuata anche mediante tecniche di cromatografia ionica. Questo tipo di analisi, originariamente sviluppato per l'analisi di anioni organici in matrici diverse, è stata opportunamente modificata in modo da potere annoverare fra gli elementi determinabili praticamente tutti gli ioni inorganici.

Il metodo si basa sulla affinità di ioni in soluzione per la matrice della fase stazionaria; nel caso di ioni metallici l'eluente è un complessante, e la migrazione differenziata dei diversi ioni permette di separarli in picchi differenziati con tempi di ritenzione diversa.

I picchi raggiungono in tempi diversi il sistema di rivelazione, che nel caso di elementi metallici comprende un reattore post colonna in cui avviene una reazione colorimetrica, misurabile quantitativamente.

In linea teorica la cromatografia ionica è soggetta a poche interferenze, tuttavia in matrici complesse come il terreno, sostanze di natura del tutto diverse, come ad esempio molecole umiche, possono provocare notevoli difficoltà fra cui l'inquinamento della colonna. La tecnica sembra offrire nuove possibilità anche nel campo di analisi routinarie del terreno (C.S.C.). Per quanto concerne i microelementi nel

terreno questa tecnica è ancora in fase di sviluppo ed affinamento per quanto riguarda gli elementi metallici, mentre buoni risultati ha già dato per altri tipi di elementi (Cl^-).

Spettroscopia a raggi X.

Questa tecnica è molto usata nell'analisi dei terreni: si possono determinare numerosi elementi (con numero atomico superiore a 8), quasi sempre con tecniche non distruttive. I principali problemi che si incontrano nell'analisi di campioni di terreno derivano dalla bassa resa e dalla bassa energia di radiazione degli elementi leggeri, dall'effetto di radiazione prodotto dalla matrice e dalla dimensione delle particelle; in pratica per minimizzare gli effetti di microassorbimento il terreno deve essere macinato fino a valori inferiori a 50 μm e vanno preparate opportune pasticche.

Gli errori associati con l'etereogenicità delle polveri possono essere evitati macinando il campione fin quando il procedimento non produce ulteriori variazioni nella intensità della radiazione emessa.

La fluorescenza X è spesso utilizzata nello studio di terreni, sedimenti e rocce per la rapidità di esecuzione e la buona precisione. Per quanto riguarda i presupposti teorici ricordiamo che, con appropriate tecniche di eccitazione (nel nostro caso raggi X primari), gli elementi chimici possono essere portati ad emettere radiazioni nella regione spettrale dei raggi X, radiazioni che possono essere usate per identificare gli elementi e studiarne le concentrazioni.

Gli spettrografi consentono la rilevazione di almeno 80 elementi per intervalli di concentrazione dal 100% ad alcune ppm. Il procedimento prevede il calcolo delle concentrazioni di un elemento attraverso una relazione in cui sono presi in considerazione la concentrazione degli elementi nel terreno ed il loro numero, l'intensità della fluorescenza di ciascun elemento, nonchè alcuni coefficienti sperimentali relativi a ciascuna matrice. Mediante la determinazione dell'intensità delle righe di fluorescenza X di ciascun elemento ed attraverso una elaborazione matematica computerizzata si ottengono le concentrazioni dei vari elementi, espresse in ossidi.

Elettro-ultra-filtrazione (E.U.F.)

Nemeth ha presentato nel 1982 il metodo dell'E.U.F. che combina tecniche di elettrodialisi con tecniche di ultrafiltrazione: applicando differenti voltaggi nel corso della fase di estrazione si ottengono diverse frazioni, che rappresentano la diversa mobilità (disponibilità) di elementi nutritivi presenti nel suolo. Naturalmente al suddetto procedimento di separazione deve seguire la fase di determinazione, da effettuare con uno dei metodi consueti. Bisogna anche rilevare che l'E.U.F. è stata utilizzata prevalentemente per macroelementi, ma anche per i microelementi (B, Fe, Mn, Cu, Zn) vi sono interessanti prospettive.

* * *

Negli ultimi dieci anni è stato riconosciuto che il comportamento di un microelemento nel terreno è determinato dalla particolare specie chimica in cui esso è presente piuttosto che dalla concentrazione totale. Esiste oggi uno sforzo combinato per sviluppare migliori tecniche analitiche e per determinare le specie attive degli elementi in traccia, quelle cioè significative dal punto di vista ambientale e nutrizionale.

Questo è particolarmente importante nel terreno, dove i processi chimico fisici di interazioni con le superfici regolano il passaggio di un microelemento in soluzione e quindi, attraverso l'apparato radicale nei vegetali, nella catena alimentare.

Ad esempio nei terreni calcarei, anche se la quantità totale di Cu o Zn è elevata, la loro disponibilità per la nutrizione vegetale è bassa essendo le forme chimiche presenti insolubili. I fattori ambientali, come la temperatura del terreno e le condizioni di umidità influenzano notevolmente la disponibilità dei microelementi, disponibilità che tende a ridursi al diminuire della temperatura ed a bassi contenuti di umidità. Fattori essenziali per l'inserimento dei microelementi nella catena alimentare sono il pH, il potenziale redox, l'attività biologica, la quantità ed il tipo di argilla e di sostanza organica, e quindi la Capacità di Scambio Cationico. Nel caso dei metalli pesanti la disponibilità tende a diminuire all'aumentare del pH per la formazione di precipitati e di adsorbimenti molto forti, nonchè per l'aumentata stabilità dei complessi con le sostanze umiche.

Al diminuire del potenziale redox di un terreno, si possono avere iniziali aumenti di disponibilità dovuti alla dissoluzione di alcuni ossidi che tengono occlusi microelementi tipo Cu e Zn; mentre per ulteriori diminuzioni, fino a valori molto bassi del potenziale redox, si ha invece formazione di solfuri insolubili che rendono questi stessi elementi indisponibili.

La decomposizione della sostanza organica da parte della biomassa microbica può dar luogo a composti organici che possono formare complessi solubili con diversi metalli pesanti, e questi complessi possono aumentare la mobilità di molti elementi. D'altro canto è noto come la formazione di complessi con la sostanza organica può anche drasticamente diminuire la disponibilità di molti microelementi. In definitiva, semplificando, nel terreno i microelementi possono essere presenti in diverse forme chimico-fisiche (Viets, 1962; Soon and Bates, 1982), spesso in equilibrio tra di loro; e questo equilibrio è influenzato dal pH, dall'Eh e dalla concentrazione dei metalli, dei leganti e da altre caratteristiche del terreno.

Le tecniche più frequentemente impiegate per differenziare i microelementi in frazioni definite chimico-fisiche sono l'estrazione

chimica, la gel cromatografia e la filtrazione intesa anche come elettroultrafiltrazione.

Mentre l'estrazione chimica dei microelementi dal terreno sia con un singolo reagente o con più reagenti in sequenza (Lake, 1984; Genevini, 1986) viene impiegata per ottenere fasi diverse di microelementi, la gel filtrazione offre un mezzo per separare microelementi legati alla sostanza organica di differente peso molecolare, l'elettroultrafiltrazione agisce sugli ioni con diversa carica elettrica.

Al termine del processo di "speciazione" i microelementi vengono comunque determinati, nelle diverse fasi ottenute, con i metodi analitici precedentemente descritti. Tecniche altamente sofisticate, (N.M.R., E.P.R., I.R.) hanno dato ottimi risultati (Senesi, 1988; Piccolo, 1988), tuttavia allo stato attuale non rientrano tra le metodiche routinarie. Tra le tecniche più originali che ultimamente sono state impiegate si può ricordare la spettrometria di massa. Anche questa tecnica ampiamente impiegata nel campo della chimica organica può essere utilizzata per la determinazione quali-quantitativa dei microelementi (Ure and Bacon, 1978).

Altrettanto interessanti, infine, i contributi analitici radiochimici. L'attivazione protonica e neutronica è stata impiegata in determinazioni di microelementi in matrici ambientali (Chattopadhay, 1977). I risultati, sono ancora migliori se si può procedere ad una separazione e preconcentrazione del campione (Bergerioux, Blanc, Haerdi, 1977).

E' infine opportuno rimarcare che, nonostante i notevoli progressi della chimica analitica, molte incertezze rimangono ancora nel campo della determinazione quantitativa delle forme dei microelementi nel terreno. Il problema fondamentale rimane quello della significatività del campione e del metodo di campionamento; del resto confronti inter-laboratori condotti nell'ambito della FAO su questo argomento hanno mostrato talora incongruenze tali da essere imputabili solamente ad una non completa significatività del campione. E' d'altra parte opportuno sottolineare come diverse tecniche di estrazione diano risultati che analiticamente non sono confrontabili tra di loro per cui è necessario che venga sempre indicata la metodologia impiegata.

L'acquisizione di nuove e più veloci metodologie di preparazione dei campioni, quali ad esempio i forni a microonde, che riducono drasticamente i tempi di mineralizzazione, e l'impiego più esteso di materiali (certificati) di riferimento potrebbero contribuire notevolmente al miglioramento della qualità dei risultati, la cui interpretazione è spesso troppo suscettibile di interpretazioni non univoche. Questo contribuisce ad aumentare alcune delle difficoltà che normalmente si incontrano nelle analisi degli elementi in traccia nel terreno, anche perchè laddove esistono valori tabulati da rispettare nel campo ambientale, non sempre vengono dati i valori di tolleranza dell'errore. E questa incertezza lascia fortemente perplessi coloro che, occupandosi di terreno, ne conoscono la estrema variabilità.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Aringhieri R., Carrai P. e Petruzzelli G., 1985. Kinetics of Cu^{2+} and Cd^{2+} adsorption by on Italian soil. Soil Sci. 139, 197-204.

Bergerioux C., Blanc J.P. e Haerdi W., 1977. Preconcentration of environmental trace elements on organic support for neutron activation and high resultion photon spectrometers. J. Radioanal. Chem. 37, 823-834.

Boumans P., 1980. Line coincidence tables for inductively coupled plasma atomic emission spectrometer. Pergamon Press New York.

Chattopadhay M., 1977. Optimal use of instrumental neutron and proton activation analysis for multielement determination in sewage sludge. J. Radional. Chem. 37, 785-799.

Genevini M.L., Garbarino A. e Zaccheo P. 1986. Frazionamento chimico dei metalli in un terreno trattato con fango di depurazione di acque industriali e urbane. Riv. di Agron. 20, 68-73.

Lake, D.L., Kirk P.W.W. e Lester J.N., 1984. Fractionation, characterization, and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge-amended soils: A Review. J. Environ. Qual. 13, 175-183.

Nemeth K., 1982. Electro-ultrafiltration of aqueous soil suspension with simultaneously varying temperature and voltage. Plant and Soil 64, 7-25.

Piccolo A., Crini F. Effetto dell'addizione di sostanze umiche al suolo sulla disponibilità alle piante di metalli pesanti. I fanghi ed il loro impatto sull'ambiente. Aspetti biologici, chimici, fisici, idrogeologici, sanitari e normativi. Taormina, Naxos, 14-18 marzo 1988. (in stampa).

Senesi, N. Uso in agricoltura dei fanghi urbani di depurazione: capacità metallo-complessante residua della componente umica di terreni variamente ammendati. I fanghi ed il loro impatto sull'ambiente. Aspetti biologici, chimici, fisici, idrogeologici, sanitari e normativi. Taormina, Naxos, 14-18 marzo 1988. (in stampa).

Soon Y.K., T.E. Bates T.E., 1982. Chemical pools of cadmium, nickel, and zinc in polluted soils and some preliminary indications of their availability to plants. J. Soil Sci. 33: 477-488.

Ure M. e Bacon G., 1978. Comprehensive analysis of soils and rocks by spark-source mass-spectrometry Analyst 103: 807-822.

Viets F.G., 1962. Chemistry and availability of micronutrients. J. Agric. Food Chem. 10: 174-178.

Tabella 1 - Contenuto medio indicativo di alcuni microelementi in rocce, perfosfati, fanghi di depurazione urbani (ppm).

	Cu	Mn	Zn	Mo	B
Graniti	13	325	48	1,1	12
Dioriti	53	1390	70	0,8	--
Gabbri	90	1390	100	1,2	8
Calcari	6	550	20	0.4	20
Perfosfati	49	120	470	0,5-35	0-1000
Fanghi	800	500	2500	7	70

Tabella 2 - Contenuto totale di microelementi nel terreno (ppm).

Elemento	Min.	Max.	Valore medio
As	0,1	40	6
B	2	100	10
Cd	tr.	10	0,1
Co	1	40	8
Mn	100	4000	850
Mo	0,2	5	2
Ni	10	100	40
Pb	2	200	10
Cu	2	100	20
Se	0,1	2	0,5
V	20	500	100
Zn	10	300	500

Tabella 3 - Confronto dei limiti di rivelabilità (I valori sono espressi in ppb)

Elementi	Assorbimento Atomico		Plasma Accoppiato Induttivamente	
	Fiamma	Fornetto	Sequenziale	Simultaneo
Antinomio	60	0,08	40	50
Arsenico	100	0,08	50	50
Boro	1000	--	3	4
Cadmio	1	0,0002	2	2
Cromo	3	0,004	3	5
Cobalto	5	0,008	3	3
Rame	2	0,005	2	2
Manganese	3	0,0005	1	1
Mercurio	200	0,2	12	10
Molibdeno	10	0,03	10	5
Nichel	8	0,05	5	10
Vanadio	20	0,1	3	1
Zinco	0,6	0,001	1	4

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

IL POST-ANALISI: QUALE?

Linda Federico Goldberg
Ist. di Chimica Agraria - Università degli studi di Milano

Riassunto

Da un'ampia disamina dei principali fattori che influenzano il pool delle forme assimilabili degli elementi nutritivi, emerge la necessità che la valutazione della fertilità ed il calcolo del fabbisogno in fertilizzanti venga effettuato elaborando in maniera integrata i parametri rappresentativi dei fattori ambientali, agronomici ed analitici specifici per il suolo in studio.

Summary

A careful examen of the principal factors which influence the assimilable pool of nutritive elements stresses out the necessity that the evaluation of fertility and the calculation of fertilizer needs be made by elaborating, in an integrated way, the parameters representing environmental, agronomical and analytical factors specific for the studied soil.

Il post-analisi, vale a dire l'interpretazione e la gestione dei risultati analitici, e' in stretta relazione con l' impostazione analitica, derivante a sua volta dall'impostazione e dallo scopo della ricerca. Tale constatazione puo' apparire ovvia,addirittura lapalissiana; in realta' e' valida essenzialmente per gli studi di carattere pedologico e per quelli intesi ad approfondire le conoscenze sulla struttura ed il comportamento dei principali costituenti del suolo.
Nel primo caso pochi sono i parametri veramente essenziali per l' inquadramento tassonomico dei suoli: la tessitura, che specifica la famiglia di appartenenza e e' di grande utilita' per la stesura di carte derivate, soprattutto di quelle di capacita' d'uso; la capacita' di scambio cationico, lo stato di saturazione basica che in qualche caso discrimina gli ordini (ad esempio permette di distinguere gli alfisuoli dagli ultisuoli) ma piu' frequentemente consente di classificare i sottordini (ad esempio nell' ambito degli inceptisuoli permette di distinguere gli eutrici dai districi). Anche il contenuto in carbonio organico puo' avere importanza per caratterizzare i mollisuoli e per individuare i suoli a carattere fluventico. Le varie forme di ferro possono invece essere utilizzate per evidenziare cronosequenze ed anche sequenze climatiche.
Sono pochi, comunque, - come e' stato gia' accennato - i parame-

tri chimici veramente significativi per convalidare le osservazioni di campo.
Anche negli studi di base sulla chimica dei principali costituenti del suolo vi e' una stretta interdipendenza tra metodologia analitica e fine della ricerca che, nella maggior parte dei casi, e' volta ad esplorare particolari, limitati aspetti delle caratteristiche chimiche della sostanza oggetto di studio. Di conseguenza l' interpretazione dei reperti analitici e' relativamente semplice.
La problematica diventa assai piu' complessa quando l' indagine e' volta a valutare lo stato di fertilita' del suolo e, soprattutto, a tradurre in termini operativi il responso analitico, vale a dire stabilire il fabbisogno in fertilizzanti: questo a causa della pecularieta' del sistema suolo-pianta, il cui stato e' determinato da numerose variabili interne o esterne, indipendenti o dipendenti da altre variabili, nonche' dalle loro interazioni.
Per studiare il sistema suolo-pianta,occorre pertanto, analogamente a quanto avviene per ogni ecosistema, procedere,almeno concettualmente, alla sua scomposizione in subsistemi parziali che, una volta chiariti nel loro funzionamento e nelle loro interazioni, devono pero' essere considerati come tessere di un unico mosaico.In natura non si procede infatti per compartimenti disgiunti gli uni dagli altri,ma attraverso un armonico flusso di reazioni di ordine geochimico,chimico e biologico che di continuo s' intrecciano in un equilibrio dinamico ed estremamente complesso.
Non e' sempre facile individuare i singoli subsistemi e fissarne i limiti; ne' stabilire quali di essi siano i veri punti focali dell'intero sistema, quale sia il punto centrale da cui si dipartono e su cui convergono i piu' importanti processi in esso coinvolti. Poiche' il sistema suolo-pianta viene studiato soprattutto in funzione della produzione vegetale,nodo centrale puo' essere considerato la riserva immediata di elementi nutritivi, vale a dire le combinazioni di detti elementi presenti come soluti nelle soluzioni circolanti e come tali prontamente utilizzabili dalla vegetazione oppure assorbiti sul complesso di scambio e, quindi, sempre disponibili, ma trattenuti dal suolo con maggiore energia. Le forme solubili sono in attivo interscambio con quelle scambiabili la cui quantita' e'in funzione,ad un tempo, della capacita' di trattenimento e del rifornimento.In altri termini si deve distinguere tra capacita' di immagazzinamento e proporzione dei singoli elementi rispetto ad essa, proporzione che dipende, a sua volta, dal bilancio tra apporti e perdite. L' assimilabilita' dei nutrienti coinvolge quindi due concetti: uno, relativamente statico, di capacita', determinato da variabili interne ed uno piu' dinamico di flusso determinato da variabili esterne di apporto e di perdite. In realta' l' apporto e' una variabile realmente esterna mentre le perdite risultano dalla differenza tra apporto e assorbimento.

Sul pool degli elementi nutritivi agiscono quattro diversi fattori:

1.- L'alterazione dei minerali,che determina l' apporto di elementi nutritivi;

2.- L'atmosfera,che determina l' apporto di elementi nutritivi sia come materiale disciolto nell' acqua piovana sia come fallout di particelle solide.
Nel caso specifico dell' azoto, a questo apporto si deve aggiungere quello derivante dalla fissazione biologica dell' azoto atmosferico, resa possibile dall'intervento di microrganismi procarioti, simbionti e non simbionti presenti e attivi nel suolo.
Le piogge possono anche provocare la perdita di elementi nutritivi con le acque di drenaggio e fornire al suolo sostanze capaci di agire nell' alterazione dei minerali;

3.- Il dilavamento (per ruscellamento,infiltrazione, percolazione delle acque di drenaggio) che provoca perdite di soluti oppure - nel caso del ruscellamento - di particelle solide relativamente grossolane, con il loro contenuto di minerali potenzialmente capaci di fornire nutrienti, o di particelle argillose avvolte dai cationi scambiabili;

4.- La circolazione degli elementi nutritivi attraverso la vegetazione, la microflora,la microfauna e gli animali superiori.

L'azione dei diversi fattori si puo' riassumere in modo schematico come in a o, piu' dettagliatamente, come in b dello schema allegato.

1.- L' alterazione chimica dei minerali primari avviene con estrema lentezza ma costituisce pur sempre una fonte di macro, meso, microelementi anche nei suoli minerali in fase di avanzata evoluzione. Attualmente essa si svolge piu' facilmente e piu' celermente a causa dell' acidificazione ,di origine antropica, delle precipitazioni.
Perche' essa avvenga con una certa continuita' e' necessario l'intervento successivo di quattro distinti processi:la sequenza di reazioni che avviene all'interfacie solido-liquido; il movimento differenziale degli ioni attraverso la matrice solida; il trasporto degli ioni nel liquido in movimento; l'assorbimento degli elementi da parte delle radici.
Di fondamentale importanza e' il trasporto che avviene in funzione della velocita' a cui i reagenti ed i prodotti diffondono verso e dall' interfacie minerale/liquido, correlata, a sua volta, al gradiente di concentrazione degli ioni in questione,alla distanza di trasporto,alla facilita' con cui le molecole si muovono attraverso il liquido e all' area superficiale del contatto solido/liquido.
E' evidente peraltro che al fine del processo di alterazione sono determinanti anche le masse attive dei reagenti e dei prodotti che intervengono secondo la legge di azione di massa, nonche' la natura chimico-fisica del minerale che, in concomitanza con la quantita' di energia libera coinvolta nelle reazioni di alterazione e dello stato ossidazione del suolo (il Fe^{3+} e' meno solubile del Fe^{2+}), ne condiziona la stabilita'.
I reagenti sono, come e' noto, l'acqua, l'ossigeno, l'anidride carbonica, gli acidi provenienti dall' atmosfera o prodotti dal

metabolismo microbico e/o vegetale. Questi ultimi sono certamente i piu' importanti in quanto liberano idrogeno-ioni capaci di sostituire qualche catione nel cristallo, provocando cosi' il loro passaggio in soluzione.
Il progredire delle reazioni di alterazione dipende inoltre dalla velocita' a cui i reagenti e i prodotti possono diffondere nel mezzo liquido e quindi dal flusso dell'acqua del suolo che determina il rifornimento di reagenti ai siti di reazione e allontana i prodotti di reazione. Anche l' assorbimento degli elementi da parte delle radici delle piante, innalzando il gradiente di concentrazione, incrementa la velocita' di alterazione. Nella rizosfera si manifestano anche altri fenomeni che favoriscono ed accelerano l' alterazione dei minerali.Ad esempio l' apparato radicale assorbe cationi per scambio con idrogeno ioni e produce essudati contenenti acidi con proprieta' chelanti nonche' zuccheri e proteine che costituiscono fonti di nutrimento per i microrganismi a loro volta produttori di sostanze ad azione chelante.
La vegetazione influenza positivamente l' alterazione dei minerali anche per una via indiretta, legata alla presenza di sostanza organica , soprattutto quella umificata o in via di umificazione.Fondamentalmente essa interviene in tre modi: dissociando idrogeno-ioni, producendo CO2 che ha azione solvente nei confronti di alcuni minerali e sali e dando luogo a fenomeni di chelazione ad opera di acidi organici presenti nei tessuti vegetali e/o che si formano nel corso del suo metabolismo, con conseguente formazione, di prodotti solubili, traslocabili lungo il profilo o addirittura lisciviabili.

2.- L' acqua di pioggia contiene in soluzione elementi chimici, che, anche se presenti in piccola misura, possono costituire un apporto di elementi nutritivi o essere coinvolti nei processi di alterazione. Possono pervenire al suolo anche particelle solide per fallout secco oppure come particelle in sospensione nelle gocce di pioggia. Anzi in certi casi le particelle solide costituiscono il nucleo attorno a cui si formano le gocce di pioggia.
E' evidente che l' apporto di elementi nutritivi, estremamente basso in confronto alla dotazione intrinseca del suolo, ha un certo significato solo nel caso di terreni scarsamente dotati di elementi nutritivi.
La quantita' dei singoli elementi presenti nelle precipitazioni o nel fallout varia notevolmente nelle varie localita' in relazione alla distanza dal mare ,alla provenienza dei venti, all' andamento giornaliero del tempo e, soprattutto, a fonti locali di inquinamento.
Inoltre e' difficile generalizzare per il fatto che i dati riportati dalla letteratura non sempre sono paragonabili, in quanto diversi sono i sistemi di raccolta dei campioni, le tecniche analitiche, la natura degli ioni determinati, il materiale sottoposto ad analisi (solo particelle solide,s olo acqua di pioggia, oppure pioggia piu' solido). E' certo comunque che fosforo, sodio, potassio, calcio, magnesio sono spesso presenti insieme ad ammoniaca, cloruri, solfati e nitrati. Solfati e nitrati di origine antropica sono attualmente i costituenti dominanti dell' acqua di pioggia, il cui pH va da meno di 4 a piu' di 8. Sia l' abbassamento del pH che la presenza di ioni solfato e nitrato

sono fattori che favoriscono i processi di alterazione, la cui velocita' e', secondo alcuni AA, piu' che raddoppiata in questi ultimi tempi.
Come e' stato accennato in precedenza, l'atmosfera interviene nel sistema suolo - pianta fornendo un notevole input di azoto combinato in conseguenza del processo di fissazione biologica dell' azoto atmosferico resa possibile dall' intervento di agenti microbici presenti e attivi nel suolo. Non e' questa la sede per soffermarci sul meccanismo biochimico che sta alla base di tale processo, la cui importanza, nell' ambito della problematica che stiamo affrontando, non puo' peraltro essere trascurata. Siamo di fronte infatti, nel caso della classica simbiosi rizobi-leguminose ad apporti dell' ordine di 100 - 150 Kg/ha/anno di azoto. Molto meno consistenti sono, notoriamente, gli apporti dovuti all' attivita' dei batteri liberi. Cio' presumibilmente in relazione alla minor disponibilita' di composti organici capaci di fornire l' energia necessaria per la sintesi riduttiva ma anche alla minor efficienza che i microrganismi liberi hanno, in questo tipo di interazione, rispetto ai simbionti.

3.- Il bilancio degli elementi nutritivi del suolo non puo' evidentemente prescindere dal flusso dell' acqua che trasporta lungo e oltre il profilo i componenti piu' solubili di origine chimica, biologica e geochimica. Il loro dilavamento e' condizionato da tre variabili chiave: possibilita' di contatto substrato - acqua; tempo di contatto; velocita' delle reazioni chimiche ed enzimatiche. Queste, a loro volta, sono controllate: dalla capacita' di infiltrazione; dal tipo di precipitazione (intensita' e frequenza); dalle dimensioni e distribuzione dei pori; dalla topografia; dal trasporto dei reagenti e dei prodotti di reazione rispettivamente ai e dai siti di reazione.
Vi sono inoltre strette correlazioni tra precipitazioni, decomposizione della sostanza organica e dilavamento. E' noto ad esempio che forti precipitazioni non portano necessariamente ad elevati dilavamenti, in quanto provocando la diminuzione dell'areazione del suolo rallentano la decomposizione della sostanza organica portando alla formazione di uno strato torboso, caratterizzato da una bassa capacita' di infiltrazione.

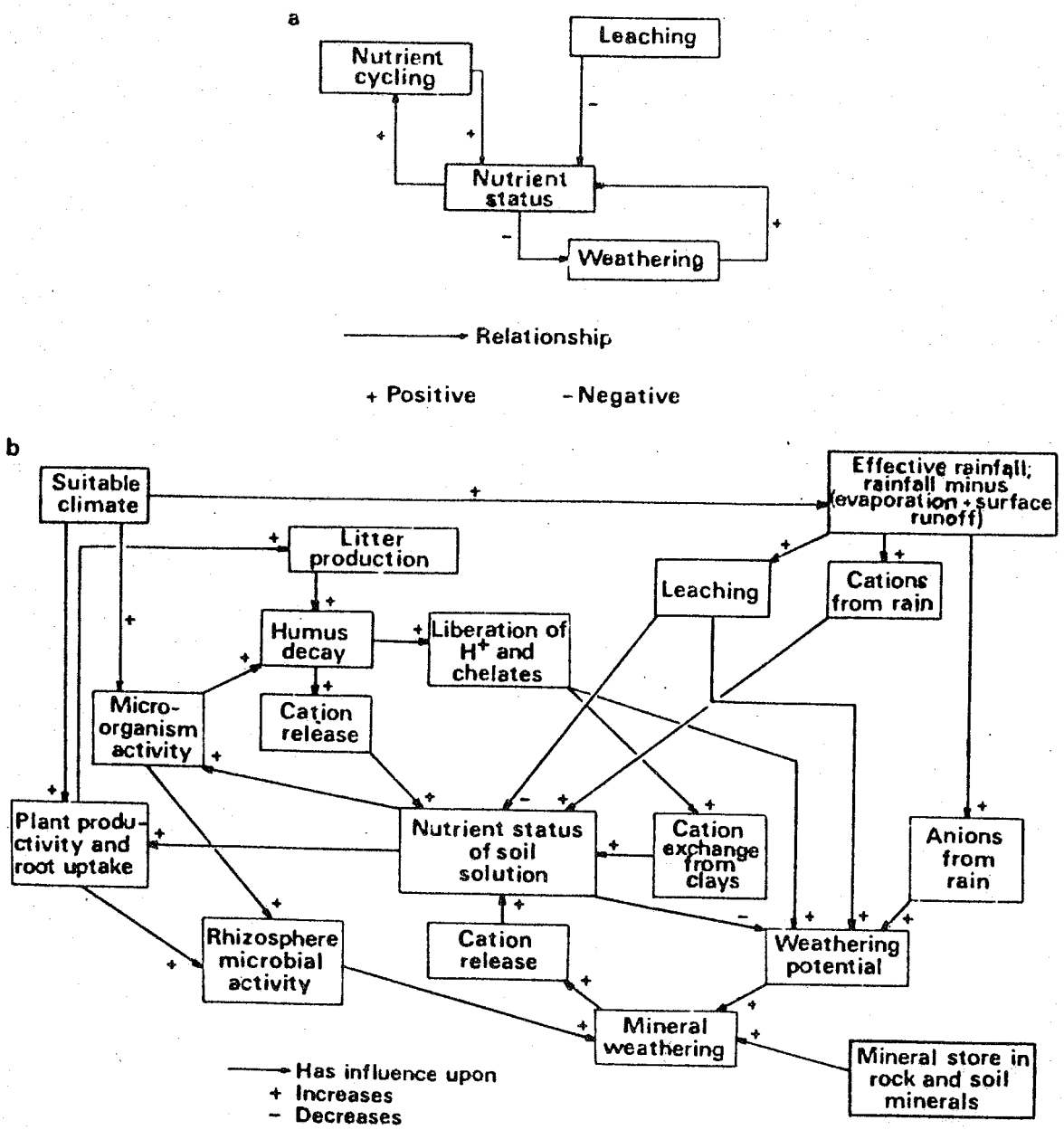
4.- La circolazione degli elementi nutritivi per via biologica avviene in tre modi diversi. Uno e' la ridistribuzione dei costituenti dagli strati profondi a quelli superficiali ad opera del biota, il secondo consiste nella la circolazione attraverso le piante superiori, il terzo coinvolge l'attivita' della microflora.
Nel primo caso si ha un movimento degli elementi in direzione opposta al dilavamento, nel secondo le perdite di elementi nutritivi dovute all' assorbimento radicale sono bilanciate in quanto essi ritornano al suolo con i residui vegetali. Questo, ovviamente, solo nei terreni naturali. Nei suoli in fase agropedica la situazione e' infatti nettamente diversa a causa dell' asportazione della coltura e conseguente allontanamento degli elementi nutritivi da essa assimilati. Mancando il loro naturale riciclo risulta quindi indispensabile la loro reintegrazione mediante concimazione.

La pianta puo' assorbire gli elementi in forma ionica per scambio diretto tra le radici e le particelle del suolo oppure, e questa e' la fonte principale, per assorbimento diretto degli ioni presenti in soluzione che vengono trasportati in vicinanza delle radici mediante due meccanismi: il flusso di massa e la diffusione. Il flusso di massa consiste nel trasporto dei soluti con il flusso convettivo dell'acqua dal suolo all'apparato radicale, trasporto regolato dalla velocita' del flusso di acqua, dal consumo di acqua della pianta e dalla concentrazione dei singoli ioni nella soluzione. La diffusione consiste invece nel trasporto degli ioni da una zona a concentrazione elevata ad una a minore concentrazione grazie a movimenti termici casuali.
L'azione della microflora sulla dinamica degli elementi nutritivi e' di notevole importanza; in modo particolare per l' azoto, meno per il fosforo, meno ancora per il potassio.Mentre infatti le piante superiori dipendono per la loro nutrizione azotata dall' attivita' microbica che consente la trasformazione dell' azoto organico, largamente preponderante nel suolo, nelle forme nitrica ed ammoniacale, le sole che esse possono assimilare, la disponibilita' del fosforo e' piu' condizionata dalla sua dinamica chimica che dall' attivita' microbica. Per il potassio i processi di organicazione e mineralizzazione praticamente non esistono e la sua disponibilita' e' regolata, sostanzialmente, dal comportamento delle argille che,in relazione alla loro struttura, possono legarlo in forma scambiabile oppure fissarlo in una forma piu' stabile, non scambiabile. L'attacco dei minerali primari ad opera di acidi organici e minerali di origine biologica incide molto meno sulla disponibilita' del potassio.
Circa i microelementi, il loro comportamento e' condizionato in parte dalla dinamica chimica,in parte da quella biologica nel senso che e' la sostanza organica che nel corso della sua evoluzione agisce sul loro destino sopratutto attraverso la produzione di sostanze chelanti.
Tracciato il quadro dei processi chimici che regolano la dinamica degli elementi nutritivi passiamo al problema della valutazione della fertilita' del terreno e del fabbisogno in fertilizzanti.
Come e' stato accennato in precedenza ,gli ioni presenti nella soluzione del suolo sono in equilibrio dinamico con gli ioni associati piu' o meno labilmente con la fase solida che costituisce quindi la riserva a breve termine della maggior parte degli elementi nutritivi e, con la sua superficie attiva, concorre a determinare la concentrazione ionica della soluzione del suolo. La frazione assimilabile comprende quindi non solo la quota in soluzione ma anche le forme legate al solido in attivo interscambio con la soluzione. Quando si voglia procedere alla valutazione per via chimica della quota assimilabile bisogna quindi, in primo luogo, stabilire quale delle diverse forme in cui un dato elemento si trova associato alla fase solida sia da considerarsi la riserva immediata e, secondariamente, scegliere il reagente piu' idoneo all' estrazione ed al dosaggio di tale forma. I valori critici di insufficienza, sufficienza, larga disponibilita' devono essere invece determinati mediante prove di vegetazione in vaso o in campo che consentano di correlare i dati chimici ottenuti analizzando il suolo con le rese produttive e/o la quantita' di elemento asportato dalla coltura.
Bisogna tener presente peraltro che il pool degli elementi nutri-

tivi in forma assimilabile non e' assolutamente sufficiente a definire lo stato di fertilita' di un suolo, in quanto esso e' in realta' il risultato dell' azione concomitante di una serie di fattori fisici, chimici e biologici.La valutazione delle quote assimilabili degli elementi nutritivi ha certamente il suo significato , ma deve essere inserito in un quadro analitico piu' ampio che consenta la caratterizzazione, la piu' precisa possibile, del suolo in questione. Cio' consentira' di correggere eventuali anomalie - ad esempio di reazione - condizionanti la dinamica chimica e biologica del suolo e quindi il comportamento dei singoli elementi nutritivi.
Anche per quanto concerne il computo delle dosi e delle modalita' ottimali di concimazione, la disponibilita' delle forme assimilabili degli elementi nutritivi e' solo uno dei molti fattori da prendere in considerazione. Oltre che l'analisi completa del suolo essi devono certamente comprendere, sulla base delle considerazioni sopra esposte circa la dinamica del pool degli elementi nutritivi, la quantita' di elemento asportato dalla coltura, gli apporti di altra origine nel corso del ciclo colturale, le eventuali perdite per lisciviazione e/o produzione di prodotti gassosi. Bisogna tener conto inoltre delle condizioni ambientali, climatiche e di giacitura, esposizione e drenaggio, della rotazione colturale e delle tecniche agronomiche adottate, della produttivita' potenziale,valutata in base alle produzioni ottenute negli anni precedenti, nonche' il comportamento nel suolo del concime chimico somministrato in relazione alla sua composizione ed alle caratteristiche del suolo.
Da quanto sopra risulta evidente che il post - analisi, come del resto l' impostazione dell' indagine, si prospetta di notevole complessita', cosicche' l' interpretazione di un certificato di analisi e la sua traduzione in termini operativi diventa sempre piu' impegnativa.
Fortunatamente esistono attualmente due strumenti che permettono di operare con efficacia e speditezza. Essi sono: l'automazione del settore analitico che consente l' effettuazione di un numero rilevante di analisi in tempi brevi, impensabili fino a qualche anno fa'; e l' applicazione dei sistemi informatici, che consentono di elaborare in maniera integrata i fattori ambientali, agronomici ed analitici di cui si e' detto e giungere cosi' alla quantificazione della soglia di sufficienza dei singoli elementi nutritivi specifica per quel determinato suolo, visto nella sua fisionomia fisico meccanica, chimica e biologica, in relazione alla sua storia agronomica oltre che alle condizioni ambientali in senso lato e su questa base formulare il fabbisogno in fertilizzanti.
Ovviamente, non entro nel merito degli aspetti strettamente analitici ne' tanto meno delle procedure computerizzate. Sulle metodologie analitiche seriali e non, e' gia' stata detto molto; dei sistemi computerizzati parleranno dopo di me altri relatori e con piena cognizione di causa.
Io voglio concludere con un invito: discutiamo, confrontiamo le varie idee, i risultati acquisiti, le proposte avanzate, ma, se vogliamo che il nostro lavoro abbia un reale significato che consenta la razionalizzazione della concimazione resa indispensabile da fattori di ordine ambientale, energetico, economico, dobbiamo uniformare tutto; dalle metodologie analitiche, all'e-

spressione dei risultati, alla loro interpretazione e gestione. Questo deve essere il nostro impegno molto gravoso, ma anche assolutamente necessario se vogliamo sopperire in modo adeguato alle richieste di un'agricoltura che deve difendere le produzioni senza prestare il fianco alle critiche di chi la considera ingiustamente come una delle principali cause di degrado dell'ambiente.

Soil and Vegetation Systems



Feedback relationships between the nutrient system factors. (a) Simple model. (b) Detailed model showing complex web of feedback relationships involved in cation balance.

da: S. T. Trudgill - Soil and Vegetation Systems

Verona 1988

CONVEGNO NAZIONALE
GIORNATE DI STUDIO SULL'ANALISI DEL SUOLO

LE ANALISI DI ROUTINE IN ITALIA E ALL'ESTERO

Pier Luigi GENEVINI

Istituto di Chimica Agraria - Università degli Studi di Milano

Riassunto

In confronto alle realtà europee ed a quelle di oltre oceano, viene fotografata la situazione nazionale per quanto riguarda la consistenza ed il tipo di attività dei laboratori pubblici e privati che effettuano analisi routinarie dei suoli coltivati. Vengono inoltre indicate le possibili risoluzioni affinchè il settore operi in modo più omogeneo e coordinato.

Summary

In this paper is pointed out, in relation with the european and over-seas reality, the national situation on the entity and the kind of atctivity of public and private soil analysis services. We pointed out the possibilities in order that all the laboratories work more homogeneously and, among them, with more coordination.

1. Introduzione

L'analisi chimica applicata ai suoli coltivati ha come scopo principale quello di saggiare il livello di fertilità chimica relativamente alla coltura che si intende impiantare e dalla quale dipende parte del reddito dell'agricoltore.
E' quindi un'operazione che ha come scopo quello di conoscere se ed in quale misura il substrato prescelto è in grado di limitare le potenzialità produttive del vegetale.
Dall'analisi chimica dipende inoltre, ed in gran parte, l'apporto di fertilizzanti, correttivi ed ammendanti, creandosi così la possibilità da parte del coltivatore di razionalizzare, ottimizzandola, tale voce di costo.
Appare inoltre utile ricordare che qualsiasi intervento sul terreno può avvenire solo tramite aggiunte e mai per sottrazioni (se si considerano i tempi brevi) e quindi vive la necessità di

una precisa quantificazione degli apporti pena lo sproporzionamento con altri elementi o componenti il terreno.

Per queste ed altre ragioni che più sotto verranno elencate, l'analisi del terreno si sta sempre più diffondendo quale operazione conoscitiva per meglio operare ai fini di una maggiore economicità dell'attività agricola.

2. Precedenti storici

L'analisi chimica del terreno non è sicuramente un'attività cui ci si è dedicati solo recentemente. A ben vedere, compatibilmente con le cognizioni chimiche e con il progredire della scienza del suolo e dell'agronomia, l'analisi del terreno ha sempre rivestito un ruolo non trascurabile nelle operazioni di pre-impianto. Naturalmente si è dapprima affermata solo in certe realtà produttive caratterizzate da elevati redditi: in tali situazioni però, ed è bene sottolinearlo, non è stato l'agricoltore che, disponendo di maggiori redditi in forza della particolare coltura e della richiesta di questa da parte del mercato, ha destinato una parte dei propri ricavi alla conoscenza dei propri terreni. E' stata l'industria di trasformazione dei prodotti agricoli che imponendo determinate caratteristiche aveva la necessità di conoscere il substrato per garantire l'attitudine alla trasformazione delle derrate e quindi assicurare la propria sopravvivenza e la possibilità di espandersi sul mercato.
Molti anni fa le analisi potevano anche essere effettuate oltre oceano da parte delle industrie di trasformazione, mentre, in genere, attualmente, sono condotte da privati. In tali situazioni, l'analisi chimica è finalizzata solo a quei parametri in grado di incidere sulla qualità del prodotto in vista della sua trasformazione industriale.
Esemplificativi possono essere i casi della coltura del pomodoro, del tabacco, del fagiolino e delle orticole protette. Nel primo caso riveste particolare importanza il dato dell'azoto ed il valore del suo rapporto con il fosforo ed il potassio. Nel tabacco gli elementi più in grado di incidere sulla qualità del vegetale sono senz'altro rappresentati dal magnesio, dal potassio e dall'azoto, mentre in tutte le altre colture è senz'altro la dotazione azotata il dato che riveste il maggior interesse.
A proposito delle determinazioni si vuole qui sottolineare come, ancor prima che l'analisi del suolo si sviluppasse in termini più generali, si era già evidenziato come non fosse sufficiente il dato relativo al singolo elemento, quanto, piuttosto, il valore del rapporto con altri elementi di fertilità in grado di incidere per sinergia o antagonismo, sulla trasformabilità del prodotto e quindi sul suo valore commerciale.
Questa unione tra produttori e trasformatori può trovare, sempre in termini storici, la conferma più evidente nel caso dei bieticoltori e dei tabacchicoltori in quanto da sempre e per primi sono stati i vegetali pagati su base qualitativa oltre che quantitativa. Il tabacco prodotto può essere attualmente pagato dalle 300 alle 800.000 lire a seconda di parametri estrinseci ed

intrinseci quali contenuto di nicotina, zuccheri e loro rapporto, catrame, etc; nel caso della bietola la quotazione viene formulata sulla base dello zucchero totale ma è probabile che in un prossimo futuro verrà pagata sulla base di quello estraibile o meglio del rapporto fra zucchero estraibile/zucchero totale.
Si tratta, com'è facile controllare, di parametri che sono in gran parte influenzabili dal tipo e dalle quantità di fertilizzante, e controllabili, almeno in buona misura, da parte del coltivatore. Sono inoltre parametri che si possono ottimizzare man mano che la conoscenza del biochimismo della pianta prosegue, realizzandosi così la possibilità, da parte del coltivatore, di adattarsi alle mutate esigenze del mercato.
In tali situazioni, pertanto, l'analisi del terreno diventa un mezzo insostituibile per garantire redditività all'impresa agricola ed è logico che in tale contesto la pratica di fare analizzare i terreni si sia rapidamente affermata quale insostituibile mezzo di produzione.
In tempi più recenti però si sta verificando che, anche nelle zone caratterizzate da agricoltura estensiva ma non per questo meno redditizia, l'analisi del terreno sta man mano prendendo piede anche se per motivi diversi da quelli sopra illustrati.
Tali motivi, benchè molteplici, possono, ritengo, essere riassunti nei seguenti punti:

1) L'agricoltura com'è noto, non è, pur nelle sue diverse tipologie, un'attività economica in senso stretto in quanto, per la maggior parte dei prodotti agricoli oltre al fixing viene aggiunta una quota non trascurabile quale integrazione comunitaria, quota che talvolta è maggiore del valore del fixing e che è diversa nei vari stati comunitari. Tutto ciò in forza del fatto che l'agricoltore "protegge" il bene primario rappresentato dalla "terra".

2) Il guadagno reale è quindi rappresentato in sostanza dall'entità del montante compensativo e dalle agevolazioni fiscali di cui necessariamente il settore agricolo deve fruire.

3) La domanda dei prodotti agricoli è caratterizzata da marcata stasi in forza, almeno a livello europeo, della stagnazione demografica e dall'assenza di conflitti. Ne consegue una generale eccedenza, dovuta anche al recupero di terre e al breeding, che, almeno in termini teorici, potrebbe essere risolta non coltivando a rotazione parte dei terreni o dirottando i prodotti verso zone del terzo mondo oppure, infine, bloccando i prezzi.
   Bisogna inoltre aggiungere che in regime di eccedenza il "fattore scelta" diventa elemento caratterizzante la domanda del prodotto in forza della ricerca della qualità, in una prima fase da parte del consumatore e quindi, per riverberazione, da parte del trasformatore.

L'agricoltore si trova in sostanza di fronte al difficile problema di migliorare ulteriormente la qualità abbattendo, parallelamente alle diminuite sovvenzioni, l'ammontare dei costi.
In merito all'abbattimento dei costi sembra opportuno ricordare che tra le varie voci di spesa (beneficio fondiario a parte),

quasi tutte sono destinate ad aumentare: quello della meccanizzazione, a meno di non estendere la media della attuale superficie aziendale; l'approvigionamento delle sementi; la manodopera; i fertilizzanti ed i chemicals in genere. L'unica possibilità è costituita dall'ottimizzazione delle fertilizzazioni che nasce dalla conoscenza del substrato, dalle reali necessità di antiparassitari, anticrittogamici ed erbicidi, dai nuovi tipi di lavorazioni del terreno e dall'impiego ragionato della risorsa acqua.

Per quanto sopra, l'agricoltore, per poter produrre qualità o se si preferisce produrre all'interno di canoni fissati dal trasformatore, deve spingere la razionalizzazione al massimo compatibilmente con l'avanzare delle conoscenze specifiche nella speranza di diminuire i costi e nell'ipotesi in cui, in un futuro, verrà pagata la qualità, di veder aumentare i prezzi.
Anche se in modo non codificato il pagamento su base qualitativa è peraltro una realtà oggettiva. Si pensi ad esempio al caso dei mais vitrei ad alcune proteaginose o cereali ove alcune varietà, di solito caratterizzate da migliore qualità, spuntano prezzi più elevati.
E' inoltre probabile che la tendenza attuale che vede in continua diminuzione l'entità in valore reale dei montanti compensativi, si vada sempre più affermando dal che deriva la necessità di diminuire i costi visto che il prezzo è subito dal produttore agricolo e quindi l'unico mezzo per aumentare il reddito o per mantenerlo almeno costante, è rappresentato dalla contrazione delle spese.
E' d'altra parte presumibile che le attuali produzioni di alcune specie cerealicole abbiano raggiunto il massimo biologico compatibilmente con la nostra situazione geografica il che, nel tempo, genererà una contrazione delle ricerche sull'ibridazione finalizzate solo alla produzione mentre rimarrà spazio alla "creazione" di nuovi ibridi per occupare altri ambienti o per essere caratterizzati da contenuti di sostanze migliori dal punto di vista nutrizionale anche se ciò avviene, in genere, a scapito della produzione di biomassa.
Non va infine trascurato un altro aspetto e cioè quello storico che può essere riassunto nel fatto che la scuola europea è sempre stata più incline ad approfondire le tecniche di concimazione (Rhothamstead a livello europeo e le scuole del Solari e del Bonsignori in Italia) e la selezione varietale, piuttosto che affrontare il problema delle scarse produzioni agendo sul patrimonio genetico.
Questa realtà è stata la molla per il nascere di laboratori che devono controllare la qualità dei prodotti e quindi sono passati per logica conseguenza o hanno iniziato la loro attività "selezionando" i substrati più opportuni suggerendo anche gli interventi più idonei.
Si sta fondamentalmente delineando una realtà che si è venuta a creare non già in forza della domanda diretta dell'agricoltore ma da intuizioni degli organismi politico-tecnici e dalla spinta dell'industria di trasformazione.
V'è da rimarcare che, come sempre, anche in questo caso l'agricoltore o meglio le associazioni che lo rappresentano, è stato oggetto passivo di scelte d'altri.

3. Chi esegue le analisi

L'esecuzione delle analisi è operazione cui attendono Enti e/o Associazioni sia pubbliche che private. In termini storici sono stati gli Enti Pubblici ed in particolare le Università a dedicarsi all'analisi routinaria dei terreni e questo per logica diramazione del lavoro di ricerca ed anche in forza di una domanda che quand'anche presente è sempre stata modesta. Da nessuna Università è stata mai proposta infatti la creazione di centri di analisi ed interpretazione è questo non già per carenza di competenze quanto, piuttosto, per i limiti istituzionali propri del sistema universitario italiano. In ogni caso l'attività analitica ha sempre rappresentato un corollario alle altre attività.
Il Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste invece potrebbe attendere a tale tipo di attività non foss'altro per il fatto che la stragrande maggioranza delle sperimentazioni agronomiche sui vegetali avviene nelle stazioni sperimentali e vi sarebbe, almeno in teoria, la possibilità di indagare sia a livello di pedon che di scelte varietali nonchè di rappresentare il più valido supporto per l'operatore ultimo che è l'agricoltore. In effetti, invece, il lavoro analitico è solo ad uso interno e quindi di fronte ad una potenzialità non trascurabile si rileva l'assenza dal settore specifico di un organo che istituzionalmente dovrebbe avere, e soprattutto, questa funzione.
Anche il Ministero della Pubblica Istruzione, attraverso gli Istituti Agrari, dovrebbe svolgere azione analitica e di consulenza agli agricoltori. In effetti tutti gli istituti operano in tal senso ma con dimensioni ed entità di lavoro che risultano inincidenti nello specifico settore.

Nell'ambito regionale solo quattro regioni si sono dotate in toto o in parte di laboratori per l'analisi dei suoli. In primis senz'altro l'Emilia-Romagna che risulta l'unica a coprire tutto il territorio regionale attraverso tre laboratori ed ha inoltre realizzato, a completamento, un servizio agronomico.
In ordine di importanza segue il Veneto che però finanzia il lavoro di analisi ma gestisce in proprio il servizio agronomico per conto degli agricoltori. In Lombardia solo il centro di Mantova svolge lavoro analitico, pedologico e cartografico senza che per questo vi sia un effettivo rapporto con gli agricoltori della zona se non fortemente finalizzato al settore lattiero caseario.
In Piemonte esiste un laboratorio regionale peraltro appena riattivato e sembrano operare solo una o due Provincie ed anche in questo caso senza una rete a carattere regionale.
Sembra inoltre che Toscana, Puglia, Liguria e Abruzzo abbiano in parte o intendano realizzare laboratori e reti di assistenza.

Nell'ambito delle Provincie esistono gli efficienti laboratori delle provincie autonome di Bolzano e di Trento rispettivamente nei centri di Leimburg e San Michele all'Adige.

Se comunque l'Ente pubblico deve - se l'attività è prevista a livello istituzionale - operare nel settore analitico, lo stesso

non si può dire per il privato sia esso persona fisica o giuridica.
In questo caso l'attività viene a soddisfare una precisa domanda o può essere intrapresa per consolidare un'immagine soprattutto per chi opera nel comparto agricolo.

Nel caso di privati questi possono essere chimici, agronomi o geologi; mentre nel caso delle società i laboratori di maggior nome sono quelli dell'Agrimont a Mestre, dell'Enichem a Ravenna, della Perfosfati Cerea a Cerea (Verona) e della SCAM di Modena.
Caso particolare è rappresentato dalla Federconsorzi che delega un unico laboratorio alla esecuzione-interpretazione delle analisi.

3.1 Quante analisi vengono effettuate

Sempre per poter tracciare un quadro il più completo possibile non si può che partire dal lavoro di Rossi [1] presentato al convegno SISS nel giugno 1975 relativamente alle metodiche impiegate nello studio del suolo.
Il lavoro riferisce in sostanza di un'indagine svolta a livello nazionale su chi opera nel settore analitico, quante analisi vengono effettuate, quali sono le metodiche seguite. Su 168 questionari inviati ad altrettanti laboratori solo 80 restituirono il questionario compilato e di questi solo 32 effettuavano analisi di terreno. Attribuendo, per ipotesi, tale valore alla reale entità dei laboratori del tempo, il numero di campioni analizzati per gli agricoltori era di circa 6.500 con un rapporto campioni/laboratorio . anno di circa 200; questo accadeva nel 1974 mentre 10 anni prima il rapporto era di circa la metà.
Sempre dall'analisi dei questionari risulta che nel 1974 solo azoto totale, fosforo assimilabile, potassio scambiabile, pH, tessitura, sostanza organica, calcare totale e attivo erano le determinazioni comuni a quasi tutti i laboratori, mentre solo il 40% circa analizzava parametri quali calcio e magnesio scambiabili, C.S.C. e cloruri, e solo il 20% analizzava il contenuto in metalli.
Un quadro quindi piuttosto deludente quello di 15 anni fa, caratterizzato da scarsa attività, sicura non redditività del lavoro analitico e da un numero di determinazioni appena sufficienti anche in confronto all'agricoltura del tempo.
Per poter avere un quadro dell'evoluzione della realtà analitica ci si deve spostare in tempi più recenti e fare riferimento all'analisi di Perelli [2]. L'analisi, effettuata sotto forma di questionario, ha consentito di avere un'idea abbastanza rappresentativa della evoluzione del settore. Innanzi tutto, rispetto a 15 anni prima, il numero delle analisi ha raggiunto ben più ampie dimensioni anche se queste sono ben poca cosa se confrontate con la realtà europea. Il numero di campioni analizzati risulta di circa 45.000/anno con il 50% concentrato in sette laboratori al nord ed uno al centro Italia.
Un'entità esatta della numerosità dei laboratori non si è potuta nemmeno avere da quest'indagine per il solito atteggiamento di

chi ricevendo i questionari ritiene siano solo invenzioni del solito buontempone che non ha altro cui dedicarsi. Ciò purtroppo implica la necessità di dover rifare i questionari, di aggiornare gli indirizzi, etc. affinchè attraverso l'opera del solito perdigiorno si possano avere le idee un po' più chiare non foss'altro per il fatto che, alla soglia degli anni 2000, non siamo in grado di contarci!
Contro una SAU di circa 17.000.000 di ettari ci si trova in sostanza di fronte ad un'analisi ogni 400 ettari ed il valore non cambia nella sostanza anche ammettendo di avere un'informazione solo parziale. Negli altri stati europei il rapporto è ben altra cosa: 1:10 in Germania, Austria e Svizzera; 1:15 in Olanda e 1:20 in Francia. Non so fino a che punto si potrà recuperare la situazione a tre anni dalla data fatidica del 1992.
Il carico per laboratorio risulta, in termini medi di 2500 campioni/anno, con oscillazioni notevoli che vanno da 100 a più 5.000 e con una distribuzione a macchie.
Può essere quindi interessante rilevare quali metodi vengono impiegati per le più importanti determinazioni. Per la tessitura la stragrande maggioranza adotta il metodo densitometrico; segue il metodo "alla pipetta" per il 20% dei casi e una minima percentuale va attribuita a metodi quali setacciatura ad umido o levigatori. Le classi dimensionali adottate sono ripartite equamente fra quanto indicato nei manuali SISS e UNICHIM. La classe dimensionale adottata diventa però del 90% a favore delle indicazioni UNICHIM se si valuta la ripartizione in termini ponderali.
Alla richiesta di indicare su un menu di 25 analisi, quali erano quelle sempre effettuate, quali su richiesta e, infine, quali mai effettuate, si sono avute le seguenti informazioni. Undici determinazioni rappresentano la base routinaria in termini medi con ampie fluttuazioni che vanno da 4 a 20 parametri. Rispetto a quindici anni prima la base si è quindi alzata di tre determinazioni. Le analisi su richiesta risultano anch'esse mediamente pari a 11 con estremi che vanno da 4 a 17. Le analisi che non vengono mai effettuate sono mediamente 2 con estremi da 0 a 9. Un solo laboratorio effettua routinariamente analisi enzimatiche e microbiologiche. Una situazione quindi estremamente eterogenea che ancorchè influenzata da specifiche situazioni territoriali risente della confusione esistente nel settore.
Le sorprese aumentano quando si analizzino le risposte in merito all'analisi degli elementi assimilabili. Nel caso del fosforo il 70% dei laboratori usa il metodo di Bray e Kurtz per i terreni acidi; la restante quota impiega il metodo di Olsen. Assenso assoluto per i terreni alcalini ove tutti impiegano il metodo di Olsen. Per i metalli assimilabili nei terreni acidi il 45% dei laboratori impiega quale estraente l'EDTA, il 25% il DTPA e la restante quota non analizza mai terreni acidi. Nel caso dei terreni alcalini l'85% impiega DTPA quale estraente e la quota residua EDTA.
Per quanto concerne calcio, magnesio e potassio scambiabili, tutti i laboratori impiegano acetato ammonico se il terreno ha pH<7; il 60% dei laboratori impiega cloruro di bario nel caso dei terreni alcalini, la quota residua impiega anche nel caso dei terreni basici acetato ammonico.

Su quanto estraibile dalle altre domande incluse nel questionario preferirei non dilungarmi; vorrei comunque sottolineare che quasi tutti i laboratori corredano di consigli di concimazione i risultati d'analisi sia attraverso software specifici sia attraverso l'opera di agronomi, che attraverso entrambi gli approcci.

Abbiamo in sostanza una situazione che dopo anni di latenza sta accelerando i passi ed è per questo che sarebbe auspicabile poter disporre di dati più rappresentativi così come appare necessaria un'opera di coordinamento a livello nazionale e di collaborazione fra i diversi addetti per poter operare in modo più maturo in vista di una più solida professionalità nel settore.

3.2 Le analisi del suolo nella realtà straniera

Nel resto dell'Europa esiste in tutti gli stati una rete di assistenza pubblica che si può condensare nella figura dell'"agronomo condotto" che in parte è pagato dagli agricoltori, li assiste tecnicamente ed è in grado di tradurre i risultati dell'analisi del suolo in pratiche agronomiche sempre più aggiornate.
Sempre in termini generali le strutture pubbliche che operano nel campo analitico sono in grado di competere con le analoghe strutture private per quanto riguarda velocità di esecuzione, attendibilità e costi. A solo titolo di esempio si citano le situazioni più significative.
Per esempio in Francia a fianco dei due grossi centri di Arras che opera per l'INRA e di Aspach les Bas che agisce per conto degli industriali del settore dei fertilizzanti (SCPA), esiste tutta una serie di laboratori privati che opera in modo coordinato e controllato. Solo i due grossi centri prima menzionati svolgono un carico di lavoro pari a circa 60,000 campioni/anno con circa 15 parametri analitici per ogni campione.
L'attività dei laboratori privati si può stimare di un ordine doppio di grandezza, dal che è facile intuire come la prassi di far eseguire le analisi del terreno sia, per quanto riguarda la Francia, pratica ampiamente consolidata. Ogni regione inoltre dispone di carte pedologiche e di carte d'uso dei suoli dal che deriva una profonda conoscenza dell'ambiente in cui opera il comparto agricolo.
In Germania esistono i due grossi centri di Monaco e di Hannover che analizzano circa 600.000 campioni/anno ma in genere, in forza della maggior uniformità dei suoli tedeschi su un numero minore di parametri: circa cinque. Sempre in Germania non va trascurata la presenza del centro "Buntehof" che opera per conto della K+S.
L'Olanda sembra essere la nazione meglio strutturata nello specifico settore e pertanto ritengo richieda una breve illustrazione. Il Ministero dell'Agricoltura agisce direttamente sulle due università, sugli Istituti di ricerca, sulle stazioni sperimentali, sull'assistenza tecnica che ha competenza provinciale e sui centri di coordinamento e divulgazione. Le Università ri-

sultano le sedi della ricerca pura mentre negli istituti di ricerca si opera per argomenti (Scienza del suolo, meccanica, patologia, etc); nelle stazioni sperimentali si opera sulle singole colture. Normali e frequentissimi sono gli scambi di persone fisiche tra gli istituti di ricerca e le stazioni sperimentali. In questa realtà opera il centro di privato di Oosterbeek che effettua circa 140.000 campioni di terreni e 40.000 di substrati con metodi e su tarature agronomiche elaborate tra le stazioni sperimentali e gli istituti di ricerca. Nell'ambito di questi solo il settore "serre" opera anche nel campo analitico per un carico di circa 60.000 substrati/anno. I centri di coordinamento e divulgazione attendono invece alla stesura di testi tecnici, alla realizzazione di corsi di aggiornamento, ai rapporti input/output ed a quelli esistenti tra ricerca e assistenza.
Nei Paesi dell'Est ed in Russia, in armonia con il sistema politico, l'assistenza è centralizzata ed è molto sviluppata la sperimentazione in campo.
Negli Stati Uniti, tutte le università pubbliche e private dotate di facoltà di agraria, hanno extension services che operano in relazione alle tarature agronomiche valide per il territorio di utenza. Ogni rapporto è a pagamento e l'agricoltore è completamente assistito.
I Paesi in via di sviluppo risultano tributari, per quanto riguarda il settore in esame, nei confronti di America, Francia e Olanda. La prima non fa che ripercorrere i propri schemi creando, sempre su base economica, centri di ricerca dai quali si irradia lo specifico settore di insegnamento e l'extension service relativo; il know-how così acquisito viene trasferito al Paese utente.
In Francia opera soprattutto l'Istitut d'Outremer che risulta finalizzato a tutto quanto concerne le colture tropicali.
L'Olanda, infine, è sicuramente la nazione che opera su base più scientifica e più avanzata. Esistono infatti delle metodologie generali di intervento e protocollo di lavoro per ogni coltura, stato e clima. La fonte di tutto ciò va ricondotta all'Università di Wageningen.
Dal confronto della nostra realtà con quelle d'oltralpe e d'oltremare risulta evidente come la situazione italiana sia caratterizzata da latitanza degli organo preposti alla conoscenza della risorsa suolo per quanto riguarda in particolare il settore della produzione vegetale e come esista un marcato scollamento tra i vari enti che operano nello stesso settore.

4. Conclusioni

Per concludere il quadro, che per certi tratti potrà apparire impietoso, del settore analitico finalizzato ai terreni coltivati, sembra opportuno proporre delle scelte che in sostanza sono obbligate:

1) E' sempre più pressante la necessità di sviluppare su tutto il territorio nazionale le tarature agronomiche adottando protocolli e metodi operativi unificati. Atteso infatti che

l'analisi chimica non fa che fornire un indice della dotazione di un elemento, si tratta di individuare per le diverse situazioni almeno gli indici relativi alle soglie di sufficienza. Si consideri inoltre che l'indice tiene automaticamente conto della fascia climatica, della media della dotazione idrica e delle altre caratteristiche chimiche dei terreni della zona.

2) Appare inoltre necessario lo sviluppo di una rete capillare di servizi di assistenza tecnica, magari arrivando alla figura dell'"agronomo condotto" che dovrà risultare anche adeguatamente preparato nel settore analitico. Tale realizzazione dovrebbe avvenire nell'ambito di una legge quadro nazionale, recepita dalle regioni e sviluppata in termini di insegnamento da parte delle università. A tal proposito anche l'ubicazione delle sedi di ricerca e/o insegnamento dovrà tener conto delle reali necessità nell'ambito territoriale. Qualsiasi azione relativa alla messa in opera di servizi viene infatti vanificata se manca chi riesce a tradurre e a riversare la propria esperienza direttamente sul campo. Solo la conoscenza capillare dell'indirizzo agronomico di una zona consente di tradurre il lavoro analitico in concreti vantaggi per il settore agricolo. Diversamente si tratterebbe di gravare continuamente sui costi sociali senza alcun ritorno economico. In tale tipo di ipotesi non sarebbe improponibile la creazione di qualsiasi sistema in grado di prevedere la corresponsabilizzazione economica da parte dell'agricoltore.

3) Le strutture di laboratorio devono essere presenti in tutte le Regioni in numero tale da garantire l'utenza e a dimensione tale da avere economia di scala per ridurre tempi e costi garantendo elevata affidabilità. La messa in opera di un laboratorio di tipo tradizionale non ha più alcuna ragione di esistere non foss'altro per l'elevato progresso raggiunto nel campo strumentale, per l'elevato costo del personale e per le possibilità di automazione ed informatizzazione oggi esistenti. Esiste in sostanza la possibilità tecnica di operare su piccole aliquote con grande affidabilità e riproducibilità così come dimostrano recenti esperienze attuate nell'ambito Unichim, per la normalizzazione dell'analisi dei suoli, i cui risultati sono in corso di pubblicazione.

4) Necessità di normalizzare le tecniche di campionamento e di poter disporre di standard di terreni la cui caratterizzazione chimica sia codificata su base statistica

5) Esistenza di una rete informatica comune che faccia capo ad un'unica banca dati ove vengano memorizzate tutte le analisi effettuate. Si pensi ad uno solo dei numerosi vantaggi ottenibili da tale tipo di configurazione: il controllo dell'ambiente per quanto riguarda, ad esempio, la dotazione di metalli o, se si preferisce, la dotazione di elementi o la reazione etc. Si consideri che tale tipo di controllo avrebbe costo zero con l'ulteriore vantaggio di poter continuamente fotografare e tenere sempre aggiornata la situazione nazionale. Ovviamente tutto ciò richiede l'unificazione delle

determinazioni routinarie e quella dei metodi, nonchè l'identificazione geografica del campione. A tale proposito vorrei segnalare che l'opera di unificazione è a buon punto e ritengo sia possibile arrivare tra breve ad un unico manuale sia per quanto riguarda i metodi manuali che quelli automatici.

6) Per la realizzazione di quanto sopra non si può che far capo al Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste il cui braccio operativo potrebbe essere rappresentato dalla SISS e dall'UNICHIM per quanto attiene i protocolli e solo dalla SISS per le tarature. La SISS potrebbe inoltre creare le unità operative e le carte d'uso. Anche quanto esposto ai punti 4 e 5 dovrebbe essere di competenza della sola SISS.

Bibliografia

[1] Rossi N. e Diegoli A. (1975): Metodiche impiegate nello studio del suolo. Relazione presentata al Convegno SISS di Torino il 5 giugno 1975.

[2] Perelli M. (1988): comunicazione personale

Verona 1988

Consalter Agostino, Clamor Luca, Giandon Paolo.
Centro Agrochimico dell'Ente di Sviluppo Agricolo del Veneto.

SITUAZIONE DEI LABORATORI PER ANALISI DI TERRENI E VEGETALI IN STRUTTURE REGIONALI E PROVINCIALI

Introduzione

Nel panorama agricolo italiano le Regioni hanno un ruolo importante nell'organizzazione dei servizi di sviluppo.
All'interno di questi servizi assumono un'importanza particolare i laboratori di analisi agrochimiche.
Alcune regioni lavorano gia` da anni in questo settore, altre stanno iniziando ora, ma da parte di tutte c'e` la volonta` di collaborare per migliorare la qualita` dei servizi forniti.
Allo scopo si e` costituito un "gruppo di lavoro" oltre che per far circolare le informazioni ed i risultati anche per un confronto operativo sulla qualita` del servizio.
Si e` partiti con una indagine, tramite un questionario, fra una decina di laboratori partecipanti. L'indagine da` una visione incompleta della situazione perche` vanno via via aggiungendosi altri laboratori regionali e provinciali informati dell'iniziativa.
Questo lavoro riporta un resoconto dell`indagine che comprende i primi 10 laboratori.

I laboratori

Nella figura 1 e` riportata la dislocazione geografica dei laboratori interessati dall'indagine. Essi sono:

Friuli Venezia Giulia - CRSA, Pozzuolo del Friuli;
Veneto - Centro Agrochimico ESAV, Castelfranco Veneto;
Trentino - Istituto Agrario S. Michele all'Adige;
Alto Adige - Laboratorio chimico per l'agricoltura, Laimburg;
Lombardia - Istituto Superiore Lattiero Caseario, Mantova;
Piemonte - Laboratorio agrochimico, Torino e Ceva;
Liguria - Laboratorio Analisi, Sarzana;
Emilia Romagna - Laboratori Analisi, Settefonti, Piacenza, Faenza;
Toscana - Centro Agrochimico ETSAF, Ospedaletto;
Puglia - Laboratorio Prov. Analisi Terreni, Foggia.

Ciascuno di questi laboratori ha compilato il questionario riguardante:

a) tipo e dimensione del servizio offerto;
b) organizzazione del servizio;
c) i metodi di analisi adottati;
d) la struttura del servizio di interpretazione e l'eventuale attivita` di sperimentazione eseguita dal laboratorio.

Tipo e dimensione del servizio offerto dai laboratori

Nella figura 2 si riporta una classificazione dei laboratori in base al tipo di utente.
Si puo` notare come ci sia una notevole diversita` fra i laboratori che deriva da una diversa strutturazione del servizio.

Figura 1 - Dislocazione dei laboratori regionali o provinciali sul territorio italiano.

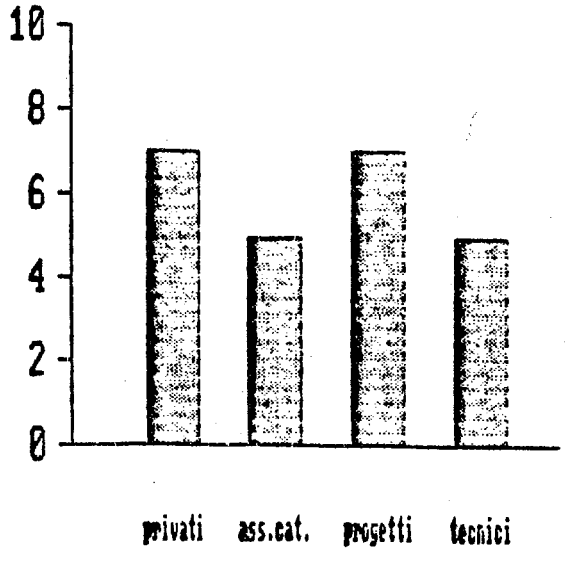


Figura 2 - Classificazione delle indicazioni fornite dai laboratori su quali sono i loro utenti.

Alcune regioni lavorano solo su progetti, locali, provinciali e regionali, mentre altre lavorano sia per privati - tecnici o associazioni di categoria - che per progetti propri di sperimentazione e verifica.

In figura 3 si da` un quadro del tempo da cui i laboratori sono operativi; alcuni ormai hanno una notevole esperienza, altri sono appena stati avviati. E` una realta` in continua crescita che puo` trarre dall'esperienza utili indicazioni per la ottimizzazione dei servizi di analisi.

La figura 4 riferisce la dimensione dei laboratori in base alle analisi che ogni anno vengono eseguite.

3 laboratori eseguono piu` di 1000 analisi del terreno ed altri 3 piu` di 500; sono cifre limitanti se si considerano le realta` internazionali all'avanguardia (Olanda), ma esprimono una tendenza positiva in termini di capacita` organizzativa di alcuni enti pubblici.

In questo senso anche i tempi di riconsegna dei referti analitici. Dalla figura 5 si puo` notare che 6 laboratori su 10 hanno tempi di consegna superiori ai 15 giorni. E` questa una caratteristica che puo` essere senza dubbio migliorata operando su un'organizzazione piu` agile e manageriale.

In figura 6 viene riportata la classificazione dei laboratori sulla base del numero di analisi gia` disponibili in archivio (data base). Nella maggior parte dei casi l`archivio e` costituito da un significativo numero di analisi, importante punto di partenza per eventuali indagini mirate sul territorio o per la costituzione di carte dell'uso del suolo.

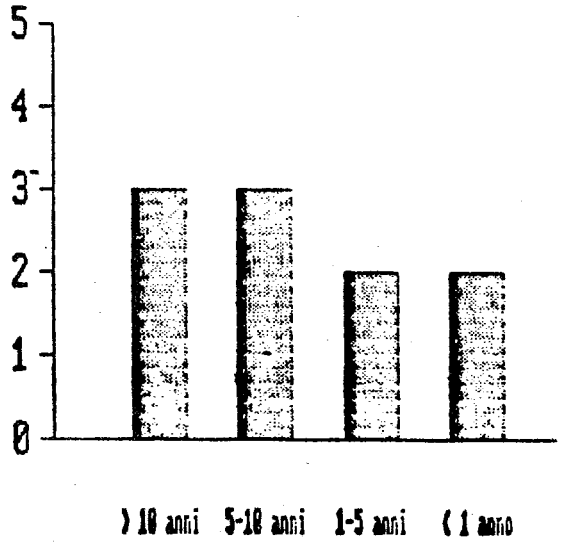


Figura 3 - Suddivisione in classi dei laboratori secondo gli anni di attivita'.

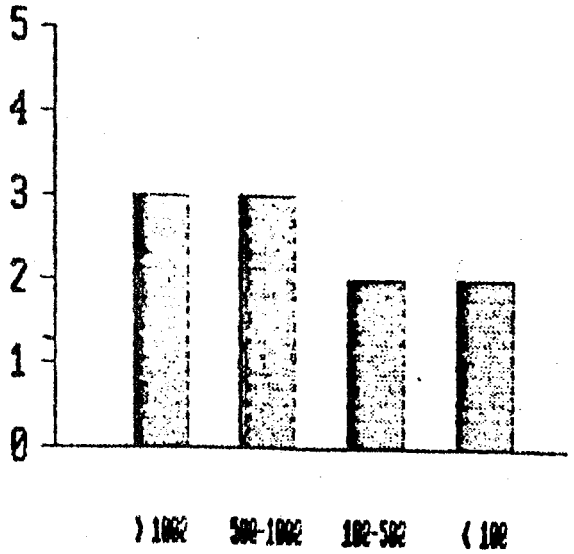


Figura 4 - Suddivisione in classi dei laboratori secondo il numero di analisi eseguite ogni anno.

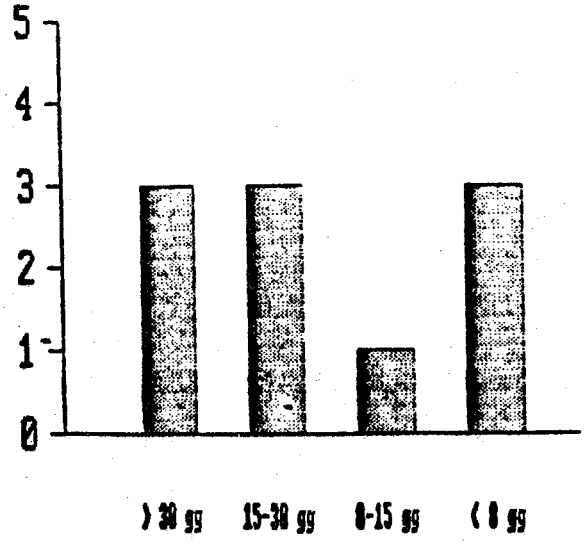


Figura 5 - Suddivisione in classi dei laboratori in base al numero di giorni necessari per la consegna dei referti analitici.

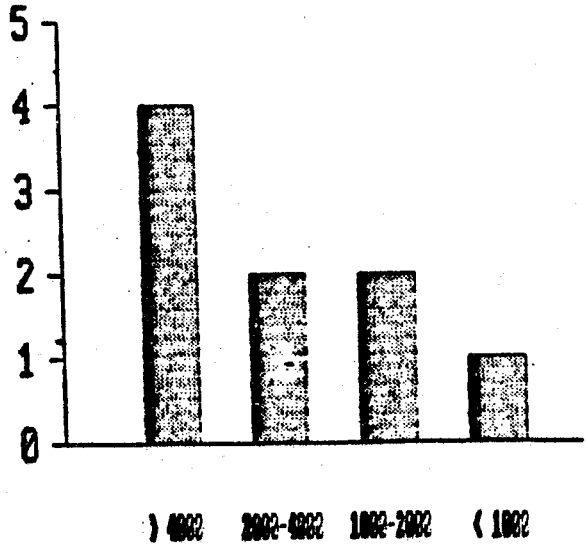


Figura 6 - Suddivisione in classi dei laboratori secondo il numero di analisi presenti nel loro archivio.

Nelle figure 7 ed 8 si riportano alcuni dati riguardanti il servizio di diagnostica fogliare. Un laboratorio esegue analisi fogliari in quantita` significativa; si tratta del Trentino in cui evidentemente la domanda per questo tipo di analisi e` molto elevata vista la notevole concentrazione di colture arboree che caratterizza l'agricoltura locale.

Metodi di analisi

Nella tabella 1 sono riportati i metodi analitici utilizzati nei laboratori di cui sopra.
C'e` uniformita` tra i vari laboratori, segno che il lavoro di unificazione portato avanti con il contributo dell'Unichim e della SISS sta dando i suoi frutti. In particolare per sostanza organica, CSC, e microelementi vengono usati gli stessi metodi, mentre per azoto e fosforo solo un laboratorio utilizza metodi diversi.

L'interpretazione delle analisi

In figura 9 si riporta una suddivisione dei laboratori in base agli strumenti utilizzati per eseguire l'interpretazione delle analisi. La maggior parte dei laboratori si avvale di mezzi diversificati puntando sulla formazione dei tecnici e sull'apporto di esperti.
Elevato e` il ricorso alla bibliografia; questa pero` da` indicazioni poco omogenee o comunque parziali sul problema dell'interpretazione e della concimazione.

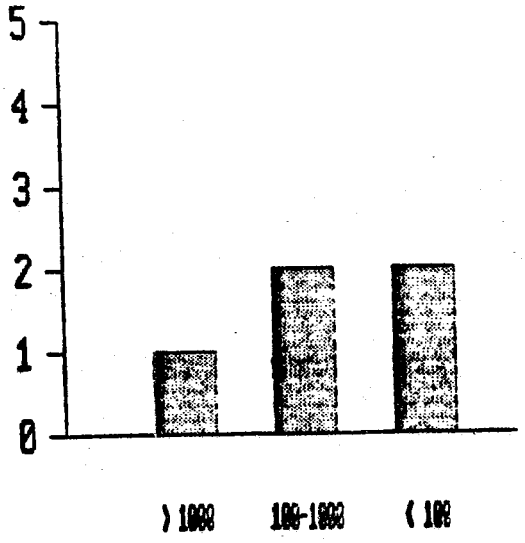


Figura 7 - Suddivisione in classi dei 5 laboratori che eseguono la diagnostica fogliare secondo il numero di analisi fogliari che possono eseguire all'anno.

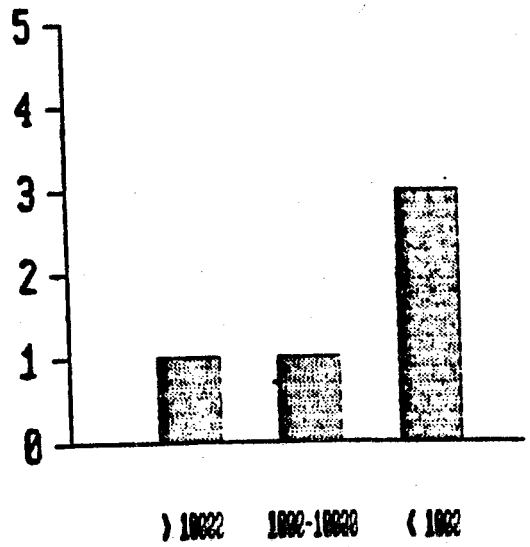


Figura 8 - Suddivisione in classi dei 5 laboratori che eseguono la diagnostica fogliare secondo il numero di analisi fogliari presenti nel loro archivio.

DETERMINAZIONE	METODO	N. LABORATORI
Tessitura	levigatore	1
	pipetta	4
	densimetro	5
Sostanza Organica	Walkley-Blak	10
C.S.C.	BaCl2	6
Azoto	Kijeldahl	9
	Devarda	1
Fosforo	Olsen	9
	Ca-lattato-acetato	1
Potassio	Acetato ammonico	7
	Cloruro di bario	2
	Ca-lattato-acetato	1
Microelementi	EDTA o DTPA	9

Tabella 1 - Metodi di analisi del terreno utilizzati dai laboratori e numero dei laboratori che li utilizzano.

Figura 9 - Suddivisione in classi dei laboratori secondo gli strumenti utilizzati per l'interpretazione.

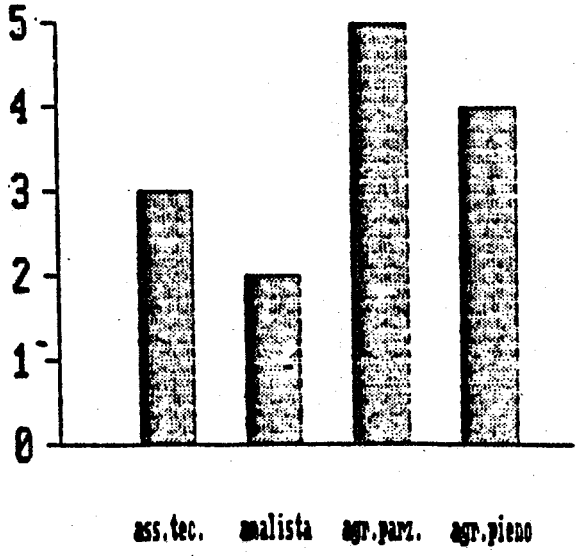


Figura 10 - Suddivisione dei laboratori secondo la figura professionale che esegue l'interpretazione delle analisi.

Nella figura 10 si puo` vedere invece a chi e` delegata l'interpretazione delle analisi. Emerge ancora l'attenzione riposta nell'assistenza tecnica.
Ridotto e` poi il numero di laboratori che affidano l'interpretazione agli analisti.
Elevato e` il numero di laboratori che contano sulla figura professionale piu` indicata, l'agronomo, per l'interpretazione delle analisi, pero` spesso ancora a tempo parziale.

La sperimentazione

In tabella 2 e` riportato l'elenco delle prove che i laboratori seguono piu` o meno direttamente. Il numero di prove sperimentali non sembra sufficiente per la taratura agronomica dei dati analitici e la definizione delle concimazioni ottimali.
E` un primo passo verso la programmazione di una sempre piu` estesa attivita` di sperimentazione.

Conclusioni

Anche se non emerge, da questa indagine, un servizio pubblico di analisi di perfetta efficienza, va comunque rilevata l'evoluzione positiva, anche nel ruolo, che si sta realizzando nei servizi di sviluppo agricoli.
Per questo e` importante un collegamento piu` stretto all'interno delle realta` regionali e degli enti pubblici in genere.
Importante e` ancora, in chiave trasparente e rispettando le competenze istituzionali, il rapporto con gli altri laboratori.

PROVE SPERIMENTALI

ALTO ADIGE Per ogni macroelemento 3 livelli x 3 ripetizioni.
Colture: fruttiferi, vite, prati.

FRIULI V.G. 3 livelli di N, P, K: 27 tesi x 3 ripetizioni; eseguita su mais da piu` di 6 anni.
Su melo da 3 anni 3 livelli di N x 3 ripetizioni.

LOMBARDIA Prove per individuare le soglie di sufficienza per NPK: 1 anno per l'azoto, 3-5 per fosforo e potassio.

	N	P	K
numero campi	3	3	6
numero tesi	6	6	6
numero ripetizioni	6	6	6
colture	bietola	mais medica	mais medica soia

VENETO 50 prove comparative seguiti da tecnici dell'AT.
Confronto tra concimazione tradizionale e consigliata.
Colture: mais, soia, bietola, vite, prato, ciliegio.
Durata: 3 anni.

EMILIA R. Sono in atto prove sperimentali per l'aggiustamento delle griglie per l'interpretazione delle analisi e la stesura del consiglio di concimazione.

Tabella 2 - Elenco delle regioni che eseguono prove sperimentali e tipo di prove in atto.

Si deve ricordare inoltre il ruolo informativo che queste strutture possono svolgere nei riguardi di tecnici ed operatori agricoli in tema di utilizzazione ed interpretazione delle analisi che vengono eseguite nel laboratorio. A questo proposito il Centro Agrochimico ha curato la stampa di un volume che raccoglie gli Atti di un corso, ripetuto ogni anno ormai da quattro anni, su "Analisi del terreno e diagnostica fogliare: interpretazione agronomica dei risultati".

Questa iniziativa rappresenta un tentativo di sondare e dare voce ad una realta` importante nel panorama agricolo nazionale. L'auspicio e` che possa condurre ad una fattiva collaborazione per una maggior qualificazione dei servizi di analisi.

L`evoluzione degli aspetti tecnici (analisi biochimiche e microbiologiche), che anche il nostro Centro sta seguendo, deve essere accompagnata da un'evoluzione degli aspetti organizzativi. Solo il confronto fra le diverse esperienze italiane puo` dare un impulso positivo a questa evoluzione.

FRIULI VENEZIA GIULIA

TRENTINO ALTO ADIGE

LOMBARDIA

PIEMONTE

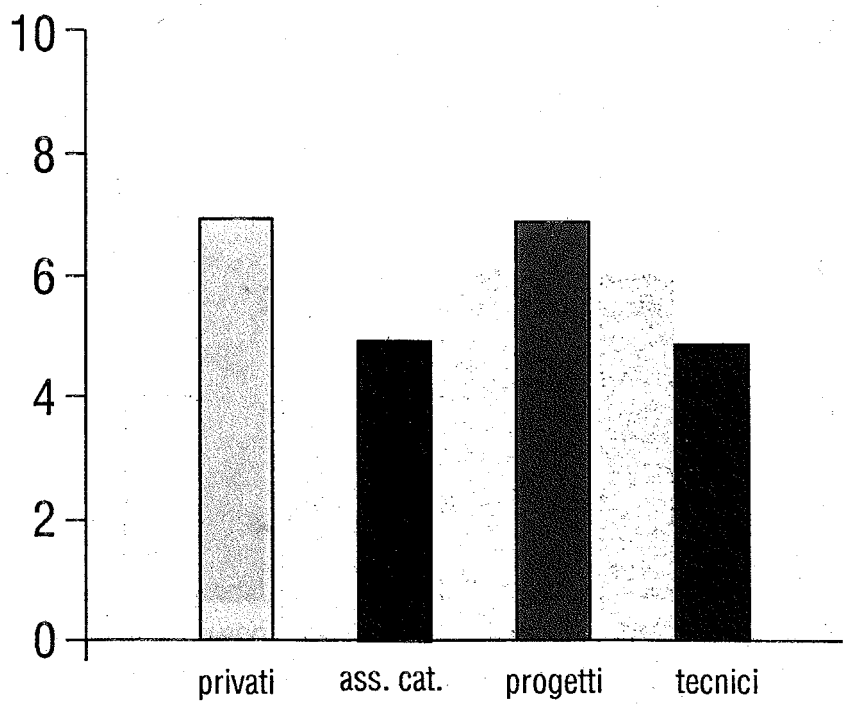
LIGURIA

EMILIA ROMAGNA

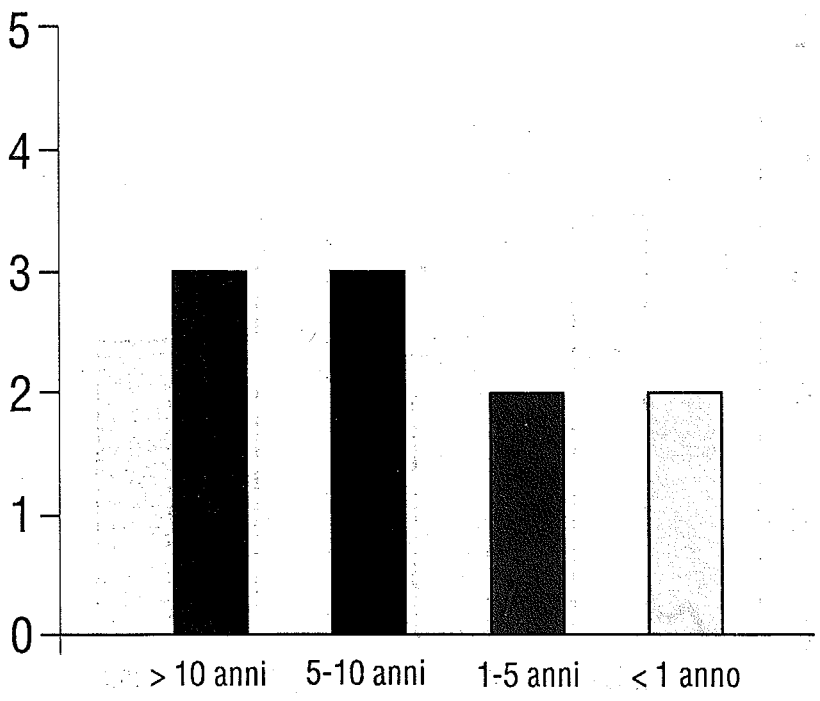
TOSCANA

PUGLIA (Foggia)

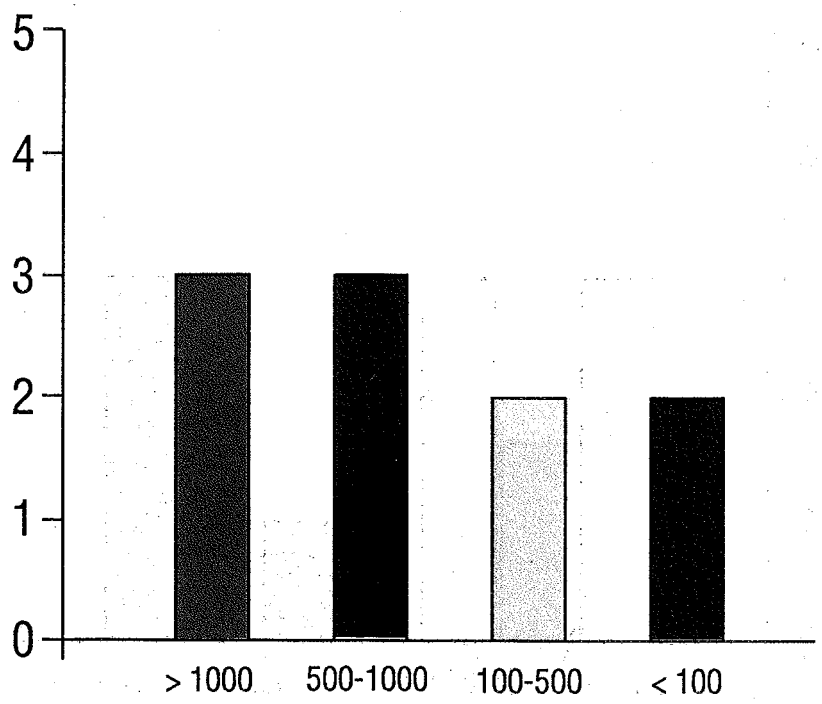
UTENTI DEI LABORATORI



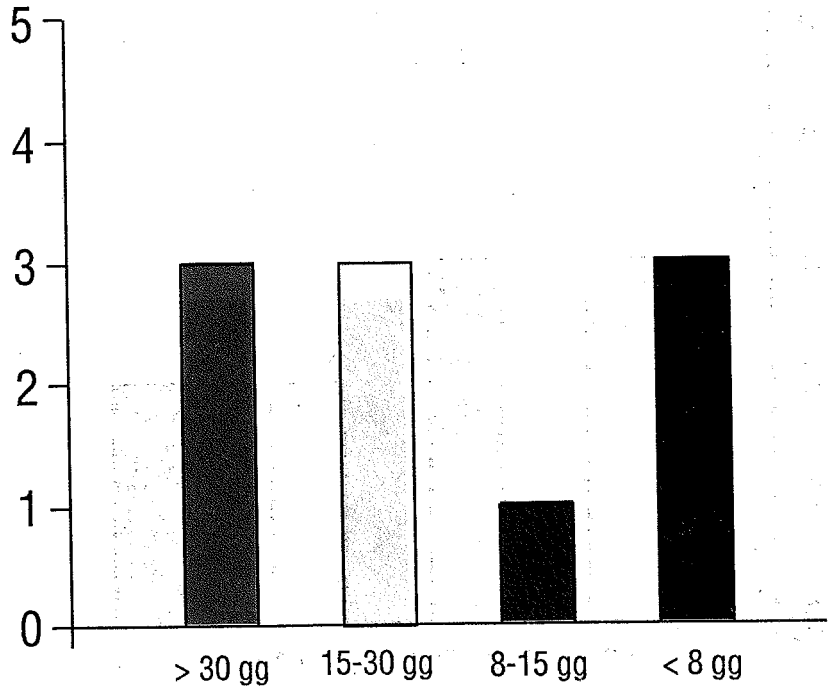
ANNI DI ATTIVITA' DEI LABORATORI



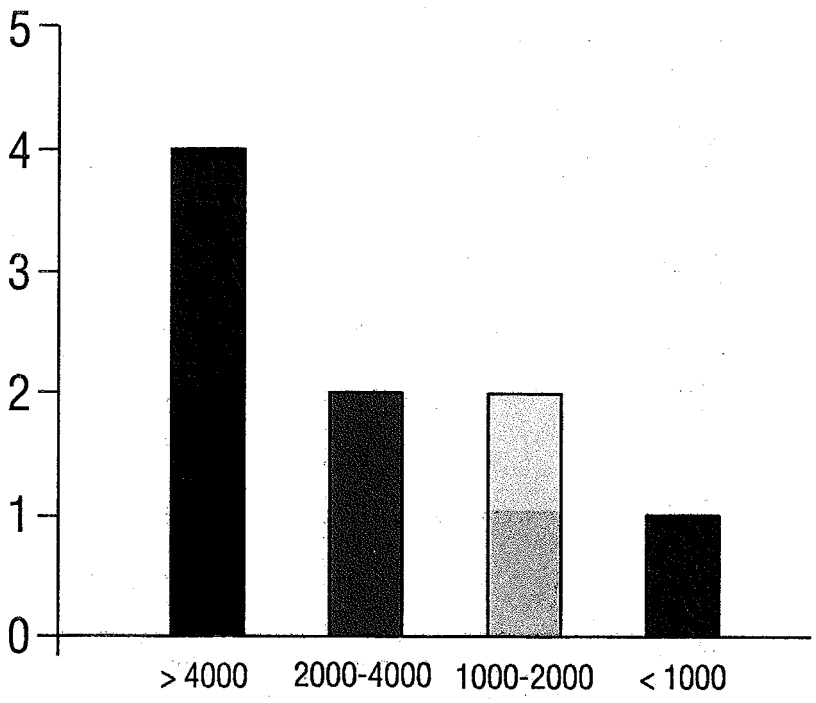
ANALISI DEL TERRENO: POTENZIALITA' ANNUA



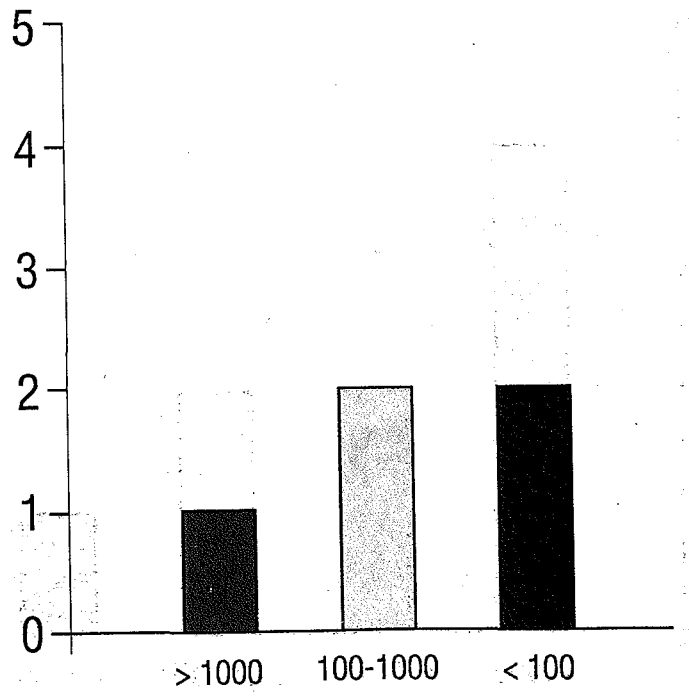
TEMPI DI CONSEGNA



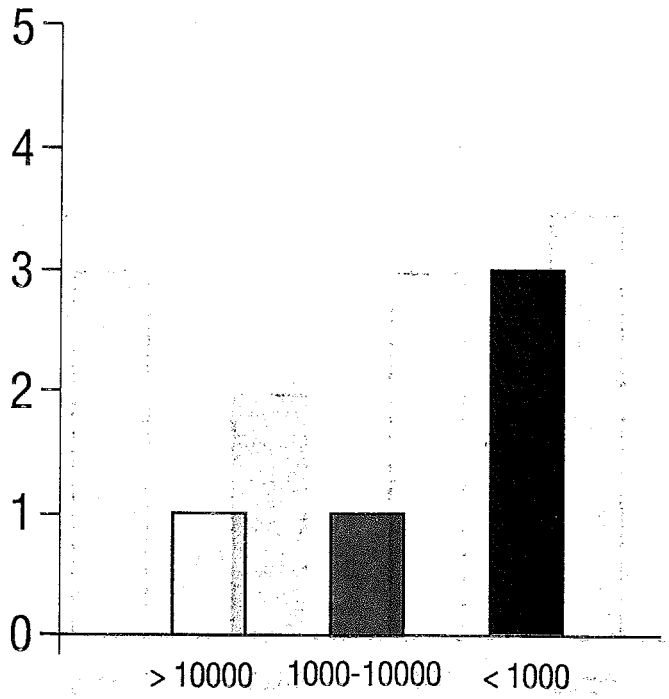
ANALISI DEL TERRENO IN ARCHIVIO



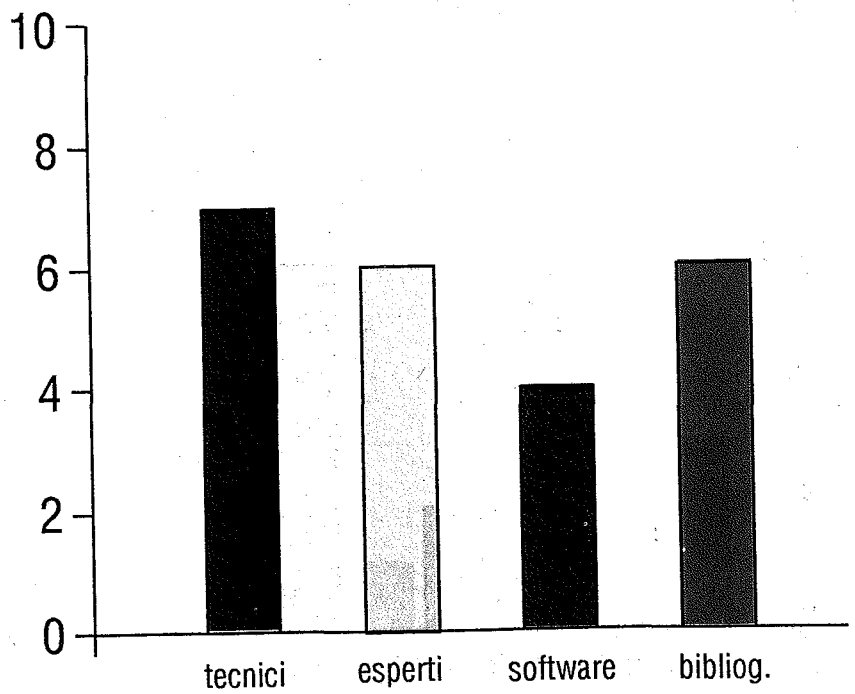
DIAGNOSTICA FOGLIARE: POTENZIALITA' ANNUA



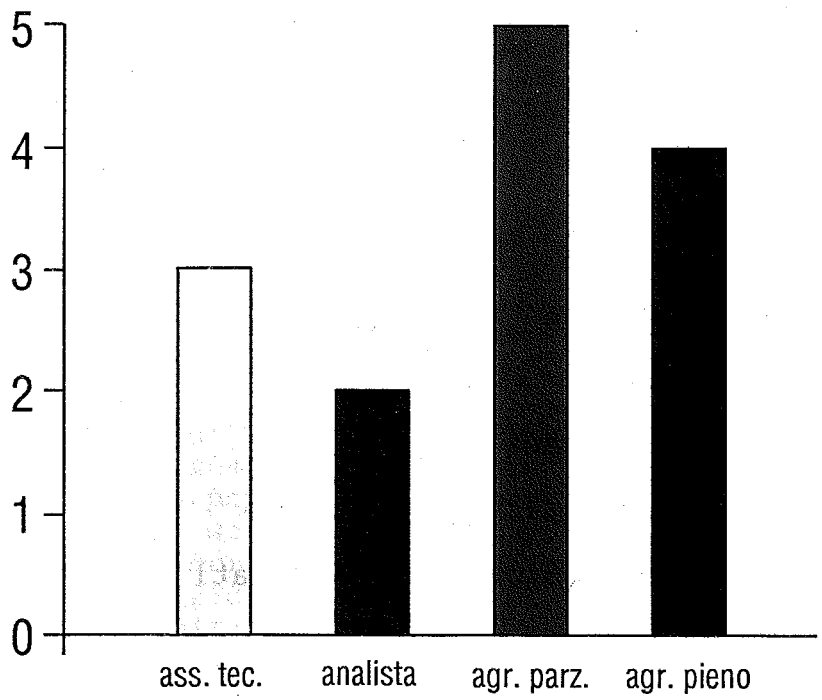
DIAGNOSTICA FOGLIARE: ANALISI IN ARCHIVIO



COME SI FA L'INTERPRETAZIONE



CHI ESEGUE L'INTERPRETAZIONE DELLE ANALISI



Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

CAMPIONAMENTO DEI SUOLI AGRARI : RAPPRESENTATIVITA' IN FUNZIONE DEI PARAMETRI DA DETERMINARE IN LABORATORIO

Dr. Renzo Maggiolo
Fabbrica Coop.va Perfosfati
via C.Battisti, 15 - 37053 Cerea (VR)

Dr. Mauro Schippa
Consorzio Emiliano Romagnolo Aziende Sperimentali
via G.Marconi, 3 - 40122 Bologna

1 - Introduzione

2 - Dimensione del Campione

2.1 materiali e metodi

2.2 discussione dei risultati

3 - Modalita' di campionamento

3.1 materiali e metodi

3.2 discussione dei risultati

4 - Conclusioni

- Riassunto:

Qualsiasi lavoro analitico si basa sull'assunto che il campione da sottoporre ad analisi debba risultare il piu' rappresentativo possibile della popolazione statistica che si vuole conoscere.

Con il presente lavoro si e' voluto approfondire la conoscenza sulla tematica del campionamento del terreno, per conoscerne analiticamente la sua fertilita' fisico-chimica, per la stesura dei piani di fertilizzazione, attraverso uno studio teorico e sperimentale sulla dimensione campionaria (numero di campioni da prelevare ed analizzare per avere un preciso intervallo fiduciale al livello di confidenza prescelto) e sulle modalita' di campionamento (sub-zone di prelievo e numero di sub-campioni per campione composto).

Nel trarre le conclusioni di tale lavoro si e' voluto considerare quale "affidabilita" ricercare dall'analisi del terreno, in funzione della susseguente fase di interpretazione agronomica per la stesura dei piani di fertilizzazione, per non rendere tale strumento diagnostico inutilizzabile o inefficace.

- ABSTRACT:

Any analitical work is based on the theoretical approach that the soil sample would be as rappresentative as the knowing statistic population.

This paper woud increase the knoledge of the sampling modality and dimension (number of samples and analyse for having a specific confidential range to predetermined confidential limit; sampling sub-zone and cores number). Furthermore it examins the chemical-phisical soil fertility and the fertilizer suggestion through the theoretical and experimental studies.

Finally, the sampling affidability supports the agronomic evaluation and the fertilizer suggestion for a best use of the soil analyses.

1. INTRODUZIONE

"L'obbiettivo di ogni campionamento di terreno e' di ottenere informazioni su quello specifico suolo. Il campione stesso e' spesso, se non sempre, l'intera massa del suolo di cui ci si interessa (Petersen e Calvin 1966)."

Partendo da questa definizione utile per introdurre la problematica che si trattera', si puo' comunque cercare di puntualizzare piu' dettagliatamente, con le considerazioni di seguito riportate, quello che si intende per suolo da campionare, al fine di conoscerne, su base analitica, le caratteristiche chimiche e chimico-fisiche , la dotazione in elementi della fertilita' per la stesura di specifici piani di fertilizzazione e le problematiche collegate con il campionamento stesso.

La porzione di terreno oggetto del nostro studio e' quella che soggiace periodicamente alle varie tecniche colturali e viene definita come " **Profilo Colturale**".
Esso in particolare riguarda lo strato piu' superficiale dell'orizzonte **"Ap"** , quello maggiormente esplorato dai capillizzi radicali e sede dei piu' importanti equilibri biochimici per la nutrizione minerale delle colture.

Una definizione generale che viene fornita del **Profilo Colturale e' quella che lo classifica come "la porzione piu' superficiale della crosta terrestre che, sottoposta all'azione degli agenti della pedogenesi, compresa l'azione dell'uomo, e' trasformata cosi' da renderla utilizzabile come substrato per la coltivazione delle piante agrarie".**

Nell'Orizzonte **Ap** si possono individuare in base allo stato fisico tre fasi: solida, liquida e gassosa; in base allo stato chimico una parte inorganica ed una organica ed in quest'ultima una viva ed una morta o inerte. Tali parti si ripartiscono e si tipizzano quali-quantitativamente in modo molto vario ed etereogeneo.

La variabilita' del suolo a livello territoriale e' quindi molto accentuata e la si riscontra talvolta anche in aree pedologicamente simili. Essa e' in genere piu' bassa per le caratteristiche chimico-fisiche piuttosto che per gli elementi della fertilita'.

E' da precisare che in funzione dell'azione antropica, soprattutto nei suoli intensamente coltivati, le zone di prelievo non possono essere semplicemente considerate equivalenti al **"polypedon"** della Soil Taxonomy. Infatti dovendo valutare la fertilita' fisico-chimica del suolo, ed in particolare la concentrazione in elementi della fertilita' (le quote cosidette assimilabili o scambiabili), si deve tener conto che, soprattutto in funzione dei piani di fertilizzazione attuati nel tempo, si e' modificata notevolmente la variabilita' originaria del terreno.

Partendo da questi presupposti, con indagini di carattere generale a livello aziendale, il suolo agrario potrebbe risultare suddivisibile in zone apparentemente omogenee. In vero le reali similitudini o disegualianze tra appezzamenti, relativamente alla fertilita' fisico-chimica del suolo, possono essere definite solo dopo un loro attento

esame analitico.

Per definire le reali disegualianze fra appezzamenti e' fondamentale un'idoneo e preciso lavoro di campionamento del suolo, cosi' da attuare un monitoraggio dell'andamento della fertilita' chimico-fisica del terreno.

La accuratezza del campionamento dovra' essere tanto maggiore quanto piu' risulti etereogenea la matrice da campionare, come in genere e'il caso del suolo agrario .

Con il campionamento e' necessario controllare la variabilita' di campo ed impiegare metodologie che siano rappresentative della fertilita' chimico-fisica del suolo e nello stesso tempo siano le piu' precise e ripetibili.

Infatti e' fondamentale, ai fini di una corretta interpretazione agronomica dei dati analitici che tipizzano la fertilita' chimico-fisica conoscere l'oscillazione che essi possono avere cosi' da poter utilizzare consapevolmente le griglie interpretative, le quali individuano delle classi di dotazione o concentrazione con limiti ben precisi.

Un piano di campionamento aziendale e la susseguente interpretazione dei dati analitici, ai fini della caratterizzazione della fertilita', deve seguire, ad avviso di chi scrive, alcuni criteri di carattere generale:

- individuazione delle zone di prelievo presunte omogenee per storia colturale e caratteristiche chimico-fisiche;

- scelta di metodiche analitiche che siano tarate agronomicamente;

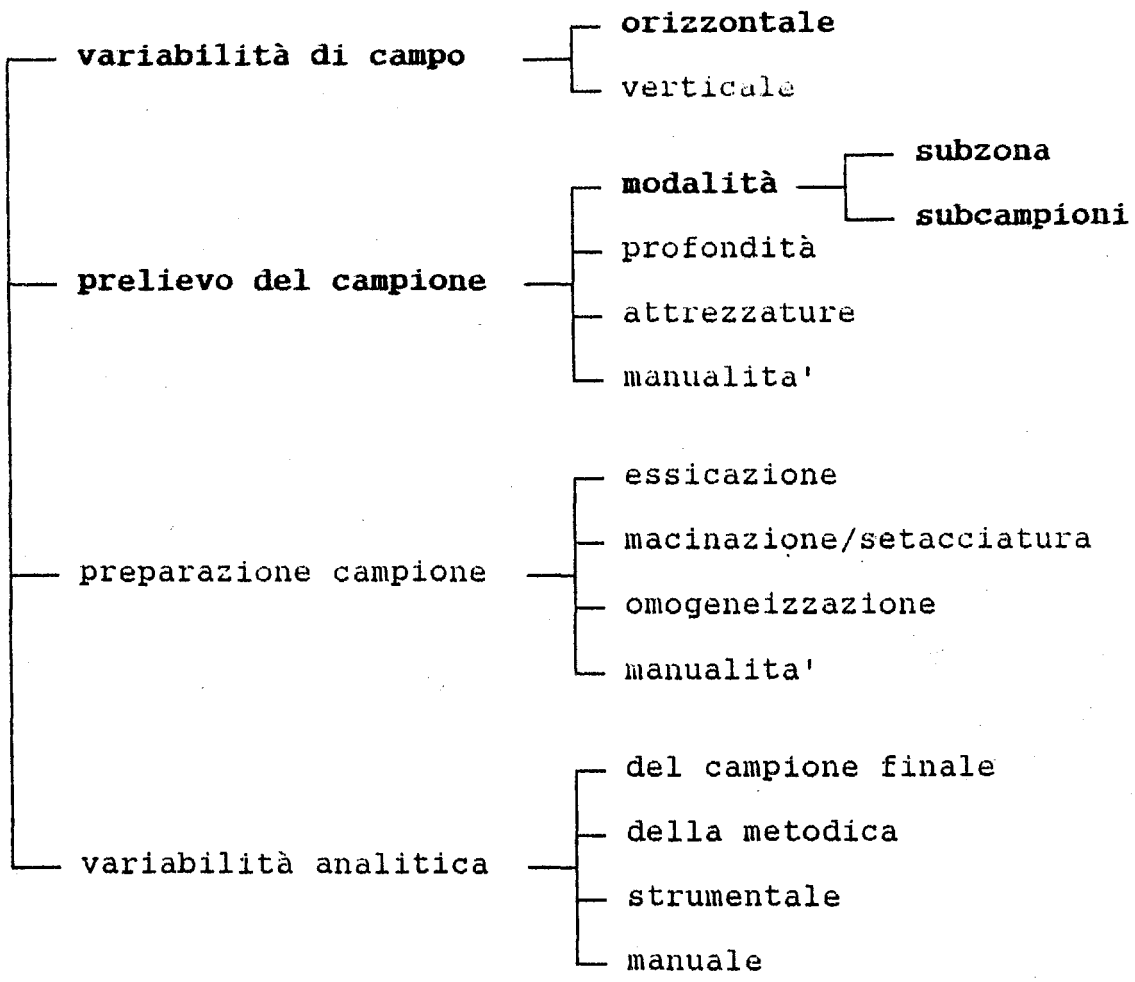
- definizione del numero di campioni da prelevare in funzione degli intervalli di concentrazione delle griglie interprative che si vogliono usare.

E' utile qui ricordare che, ai fini di una razionale concimazione, l'aspetto piu' importante da considerare e' il valore medio del parametro analitico cercato. Infatti nella normale tecnica colturale la concimazione per uno stesso appezzamento e' omogenea quali-quantitativamente. Eventuali piccole disomogeneita' di localizzazione possono verificarsi solo per una cattiva tecnica di distribuzione alla quale pero' in genere sopperisce la diffusione, piuttosto ampia, delle radici della pianta stessa. Di conseguenza, relativamente al volume di terreno interessato, la pianta e' condizionata dalla media delle dotazioni di ciascun elemento nutritivo piu' che dalla loro variabilita'. **Quindi uno degli obbiettivi principali del campionamento, ai fini di una razionalizzazione dell'apporto degli elementi nutritivi, e' quello di ottenere un campione, inteso come dimensione campionaria, la cui media sia piu' vicina possibile a quella della popolazione statistica campionata e i cui limiti di confidenza abbiano ampiezza coerente con il livello di precisione raggiungibile dall'interpretazione agronomica dei dati analitici nel loro complesso.**

Infine si ricorda che le cause di errore nell'analisi

del terreno possono essere distinte in piu' categorie che concorrono a formare l'errore finale nel dato analitico (fig.1).

Fig.1 - Rappresentazione schematica delle componenti di errore nel dato analitico.



La sommatoria delle diverse cause di errore forma l'errore di analisi, la cui componente preminente e' pero' derivante dall'errore di campionamento che , come si vedra' oltre, puo' essere anche consistente. La sua valutazione va fatta sempre su base statistica.

Prescindendo dalla manualita' dell'operatore, l'errore analitico e' dipendente dalla variabilita' di campo.

Del 100% di errore analitico globale viene generalmente attribuito alla variabilita' analitica il 15-20% ed il rimanente alle altre componenti, soprattutto alla fase di campionamento vero e proprio (Hauser 1973).

E' quindi evidente la necessita' di contenere il piu'

possibile l'errore di quest'ultima fase approfondendo in particolare le modalita' di prelievo.

Gli scopi principali di tale lavoro sono stati quelli di studiare quale poteva essere la dimensione campionaria piu' accettabile in rapporto ai range di oscillazione delle griglie interpretative piu' diffuse e confrontare le risposte ottenibili con modalita' di campionamento differenti. In particolare per quello che riguarda le modalita' si e' voluto verificare come differenti modi di intendere la sub-zona di prelievo incidevano sulla stima della fertilita' media del suolo e quale, di quelle prescelte, rappresentasse maggiormente la variabilita' del terreno ed inoltre come al variare del numero di sub-campioni componenti il campione composto variano le risposte analitiche cosi' da indagare sull'assunto teorico secondo cui "all'aumentare del numero di sub-campioni corrisponde una maggior precisione del dato analitico".

In relazione alla sub-zona di prelievo si sono volute raffrontare le risposte analitiche ottenibili sondando tutta la zona di prelievo, seguendo un percorso casuale al suo interno **(UPA : Unita' di Paesaggio Aziendale)**, con un campionamento attuato in una piccola area della zona di prelievo **(CCP : Campione Composto Puntiforme).**

2. DIMENSIONE DEL CAMPIONE

2.1 Materiali e Metodi

Per definire il numero ottimale di campioni (dimensione campionaria) che, ad un preciso livello di confidenza, permetta di avere una oscillazione intorno al dato analitico medio accettabile, si e' voluto operare con un'indagine su di un set di terreni estratti dai suoli analizzati dal Laboratorio della Fabbrica Cooperativa Perfosfati Cerea e successivamente sui campioni prelevati in tre Aziende Agrarie Sperimentali associate al C.E.R.A.S. (Consorzio Emilano Romagnolo Aziende Sperimentali).

Infatti, in via di prima approssimazione, si puo' ritenere che la deviazione standard, quindi i limiti fiduciali conseguenti, di grossi insiemi di dati analitici sia superiore a quella riscontrabile in un singolo terreno (Petersen e Calvin 1965) e pertanto la prima indagine e' partita dai dati analitici della **banca dati della Sezione Terreni della Coop. Perfosfati-Cerea** per poi verificare le risposte ottenute a livello di appezzamento nei suoli di **Aziende Agrarie Sperimentali associate al C.E.R.A.S.** .

Tutti i parametri analitici sono stati ricavati con le metodiche analitiche tratte dal **Manuale UNICHIM n.145**, utilizzando apparecchiature automatiche anziche' operazioni manuali, presso il Lab. Terreni della Fabbrica Coop. Perfosfati di Cerea (VR).

Dalla banca dati della Sezione terreni della medesima si sono selezionati i campioni secondo i seguenti criteri:

- campioni di terreno delle regioni del Nord e del Centro Italia riconducibili a suoli normalmente coltivati;

- esclusione dei campioni prelevati su prove parcellari, su terreni incolti o con provenienza ignota.

Dai parametri del set analitico di routine (tab.1), che generalmente viene eseguito sui campioni di terreno per la stesura dei piani di fertilizzazione, si sono estratti alcuni tra i piu' importanti per la valutazione della fertilita' fisico-chimica del terreno e che sono generalmente accettati dai modelli interpretativi piu' diffusi.

Tab.1 - Set analitico di routine impiegato dal Lab. Terreni della Fabbrica Coop. Perfosfati Cerea.
* = parametri scelti

PARAMETRI		PARAMETRI		
pH	*	**C.S.C.**		*
scheletro		sodio	scambiabile	
sabbia		**potassio**	**scambiabile**	*
limo		magnesio	scambiabile	
argilla		calcio	scambiabile	
conducibilita'		**fosforo**	**assimilabile**	*
sostanza organica	*	ferro	assimilabile	
azoto totale	*	manganese	assimilabile	
fosforo totale		zinco	assimilabile	
calcare totale		rame	assimilabile	
calcare attivo		boro	idrosolubile	

Nelle tabelle seguenti (tab.2 e 3) vengono riportati il numero di campioni selezionati e i principali parametri statistici relativi ad ogni determinazione analitica.

Tab.2 - Parametri analitici selezionati e dati statistici relativi - prima parte.

PARAMETRO	n.	min.	max.	media	varianza
pH	5432	4,39	9,0	7,385	1,0762
Sost.Org. %	5341	0,06	17,16	1,1261	0,9684
N tot. %.	5056	0,02	13,39	1,4562	0,5618
P ass. mg/Kg	3872	0,873	402,62	29,9998	618,6998
CSC meq/100g	4733	1,892	183,95	22,8570	185,1461
K sc. mg/Kg	3904	0,200	3814,25	175,8348	21357,0888

Tab.3 - Parametri analitici selezionati e dati statistici relativi - seconda parte.

PARAMETRO	dev.std.	e.s.m.	c.v.	lc.0,05	lc.0,01
pH	1,0374	0,0141	14,0475	0,0277	0,0362
Sost.Org. %	0,9841	0,0135	87,3919	0,0265	0,0347
N tot. %.	0,7496	0,0105	51,4738	0,0207	0,0271
P ass. mg/Kg	24,8737	0,3997	82,9127	0,7859	1,0293
CSC meq/100g	13,6068	0,1978	59,5303	0,3888	0,5093
K sc. mg/Kg	146,1406	2,3389	83,1125	4,5983	6,0227

Nelle tabelle seguenti sono riportate le distribuzioni di frequenza dei parametri analitici selezionati (tab.4,5,6,7,8,9).

Tab.4 -Distribuzione di frequenza del pH.

CLASSE	val. ass.	%	% cumulativo
< 5,5	510	9,39	9,39
5,5 ÷ 6,1	478	8,80	18,19
6,1 ÷ 6,8	337	6,20	24,39
6,8 ÷ 7,7	233	4,29	28,68
7,7 ÷ 8,0	2077	38,24	66,92
8,0 ÷ 8,6	1707	31,42	98,34
> 8,6	90	1,66	100,00

Tab.5 -Distribuzione di frequenza della sostanza organica(%).

CLASSE	val. ass.	%	% cumulativo
< 0,5	490	9,17	9,17
0,5 ÷ 1,0	2344	43,89	53,06
1,0 ÷ 1,5	1666	31,19	84,25
1,5 ÷ 2,0	516	9,66	93,91
2,0 ÷ 2,5	163	3,05	98,05
2,5 ÷ 3,0	58	1,09	98,05
3,0 ÷ 3,5	27	0,51	98,56
3,5 ÷ 4,0	12	0,22	98,78
4,0 ÷ 4,5	10	0,19	98,97
4,5 ÷ 5,0	5	0,09	99,06
5,0 ÷ 7,5	16	0,30	99,36
7,5 ÷ 10,0	23	0,43	99,79
> 10,0	11	0,21	100,00

Tab.6 -Distribuzione di frequenza dell'azoto totale (N%).

CLASSE	val. ass.	%	% cumulativo
< 0,5	70	1,38	1,38
0,5 ÷ 1,0	1104	21,84	23,22
1,0 ÷ 1,5	1948	38,53	61,75
1,5 ÷ 2,0	1246	24,64	86,39
2,0 ÷ 2,5	391	7,73	94,12
2,5 ÷ 3,0	141	2,79	96,91
3,0 ÷ 3,5	64	1,27	98,18
3,5 ÷ 4,0	34	0,67	98,85
4,0 ÷ 4,5	20	0,40	99,25
4,5 ÷ 5,0	19	0,38	99,63
5,0 ÷ 7,5	8	0,16	99,79
7,5 ÷ 10,0	7	0,13	99,92
> 10,0	4	0,08	100,00

Tab.7 -Distribuzione di frequenza del fosforo assimilabile (P mg/Kg).

CLASSE	val. ass.	%	% cumulativo
< 5	114	2,94	2,94
5 ÷ 10	421	10,87	13,81
10 ÷ 15	567	14,64	28,45
15 ÷ 20	515	13,30	41,75
20 ÷ 25	476	12,29	54,04
25 ÷ 30	355	9,17	63,21
30 ÷ 35	303	7,83	71,04
35 ÷ 40	192	4,96	76,00
40 ÷ 45	193	4,98	80,98
45 ÷ 50	149	3,85	84,83
50 ÷ 75	389	10,05	94,88
75 ÷ 100	128	3,31	98,19
> 100	70	1,81	100,00

BIBLIOGRAFIA

BROWN A. J., 1987.
Grapevine nutrient analysis - Service and basis for standard in Victoria. Atti del seminario "Vini nutrition", 31 luglio 1987 Mildura, Victoria, Australia. Australian Society of Viticulture and Oenology, Inc.

FAILLA O., ROMANO F., STRINGARI G., PORRO D., - 1988.
Organization and aims of S. Michele all'Adige leaf diagnostic Center Atti "VII International Colloqium on the control of plant nutrition", Nyborg, Danimarca 29 agosto - 2 settembre 1988

FAILLA O., SCIENZA A., STRINGARI G., 1988.
Apple and grapevine nutritional status in Trento district. Atti "VII International Colloqium on the control of plant nutrition", Nyborg, Danimarca 29 agosto - 2 settembre 1988.

FREGONI M., 1980.
Le carte nutrizionali dei vigneti italiani. Atti "V International Colloqium on the control of plant nutrition", Castelfranco Veneto (Treviso) Italia 25 - 30 agosto 1980. Volume II, 466 - 580.

LAGATU H., MAUME L., - 1927.
Notes sur les recherches relatives à one nouvelle méthode d'etude d'alimentation de la vigne. C.R.Acad. Agric. 13,437 - 442.

LALATTA F. - 1988.
Il Centro di studi sulla diagnostica fogliare di San Michele all'Adige. L'informatore agrario, 27, 63 - 64.

LEVY J.F. - 1967.
L'application du diagnostic foliaire à la determination des besoins alimentaires des vignes. Vignes et Vino, 157, 23 - 31.

LOUE' A., GAGNARA J., MORARD P., - 1984.
Vigne in "L'analyse vegetale dans le controle de l'Alimentation del plantes temperees et tropicales" di Martin-Prevel P., Gagnard. J., Gautier P., Technique et Documentation. Lavoisier - Parigi.

MARTIN P., GAGNARD J., GAUTIER P. - 1984.
Generalites in "L'analyse vegetale dans le control del l'alimentation del plantes tempereis et tropicales" di Martin P., Gagnard J., Gautier P. Technique et Documentation. Lavaisier - Parigi.

SCIENZA A., FAILLA O. - 1988.

Genetic potential in grapevine mineral nutrition: methological aspectes - Atti "Third International Symposium on Genetic aspect of plant nutrition". Plant a Soil (in stampa)

SCIENZA A., FAILLA O., 1988b.
Un decennio di applicazione della diagnostica fogliare della vite in Trentino. (in litteris).

TABELLA N° 1 - COMPOSIZIONE DELLA VARIABILITÀ, SECONDO IL MODELLO ANOVA, RILEVATA APPLICANDO LA DIAGNOSTICA FOGLIARE IN UN MODELLO VITICOLO SEMPLIFICATO (DA SCIENZA E FAILLA, 1988B).

FONTE DI VARIAZIONE	NUTRIENTE N	P	K	CA	MG
	QUOTE DI VARIABILITA' ATTRIBUITE %				
LOCALITA'	3.4	1.5	3.1	0.3	4.3
ANNATA	13.4	14.7	74.6	37.8	70.8
EPOCA PRELIEVO	82.5	82.8	6.6	60.5	21.2
VITIGNO	0.7	1.0	15.7	1.4	3.7

TABELLA N° 2 - DIFFERENZE VARIETALI DELLE DIAGNOSTICHE FOGLIARI (MEDIE ALLEGAGIONE E INVAIATURA) REGISTRATE IN 30 VIGNETI DELLA VAL D'ADIGE NEL 1987 (DA FAILLA ET AL., 1988).

VITIGNO	ELEMENTO NUTRITIVO % SS N	P	K	CA	MG
CHARDONNAY	2.15AB	0.24A	1.21B	2.57B	0.30A
SCHIAVA	2.13AB	0.18A	1.34B	2.42B	0.27A
TEROLDEGO	2.06A	0.21A	1.04A	2.71C	0.31A
MÜLLER THURGAU	2.33B	0.18A	1.23B	2.17A	0.27A

TABELLA N° 3 - INFLUENZA DEL PORTAINNESTO NELLA NUTRIZIONE DELLA "SCHIAVA". DIAGNOSTICHE FOGLIARI (MEDIE ALLEGAGIONE E INVAIATURA) RILEVATE NEL 1987 IN 12 VIGNETI DEL TRENTINO (DA FAILLA ET AL., 1988).

PORTAINNESTO	ELEMENTO NUTRITIVO % SS				
	N	P	K	CA	MG
TELEKI 5C	2.12A	0.19A	1.06A	2.64A	0.30A
KOBER 5BB	2.19A	0.18A	1.37B	2.50A	0.29A

TABELLA N° 4 - STATO NUTRIZIONALE DELLO "CHARDONNAY" RILEVATO NEL 1987 IN TRE DIVERSI AMBIENTI DEL TRENTINO. VALORI MEDI ALLEGAGIONE E INVAIATURA (DA FAILLA ET AL., 1988).

LOCALITA'	ELEMENTO NUTRITIVO % SS				
	N	P	K	CA	MG
VAL DELL'ADIGE	2.02A	0.22A	1.33A	2.49B	0.29A
VAL DEL SARCA	2.10A	0.19A	1.34A	2.72B	0.26A
VAL DI CEMBRA	2.32B	0.22	1.36A	2.01A	0.26A

TABELLA N° 5 - LIVELLI NUTRIZIONALI OTTIMALI SECONDO LEVY (1967)
DIAGNOSTICHE FOGLIARI MEDIE ALLEGAGIONE E INVAIATURA.

NUTRIENTE	% SS
AZOTO	2.50
FOSFORO	0.22
POTASSIO	1.30
MAGNESIO	0.25

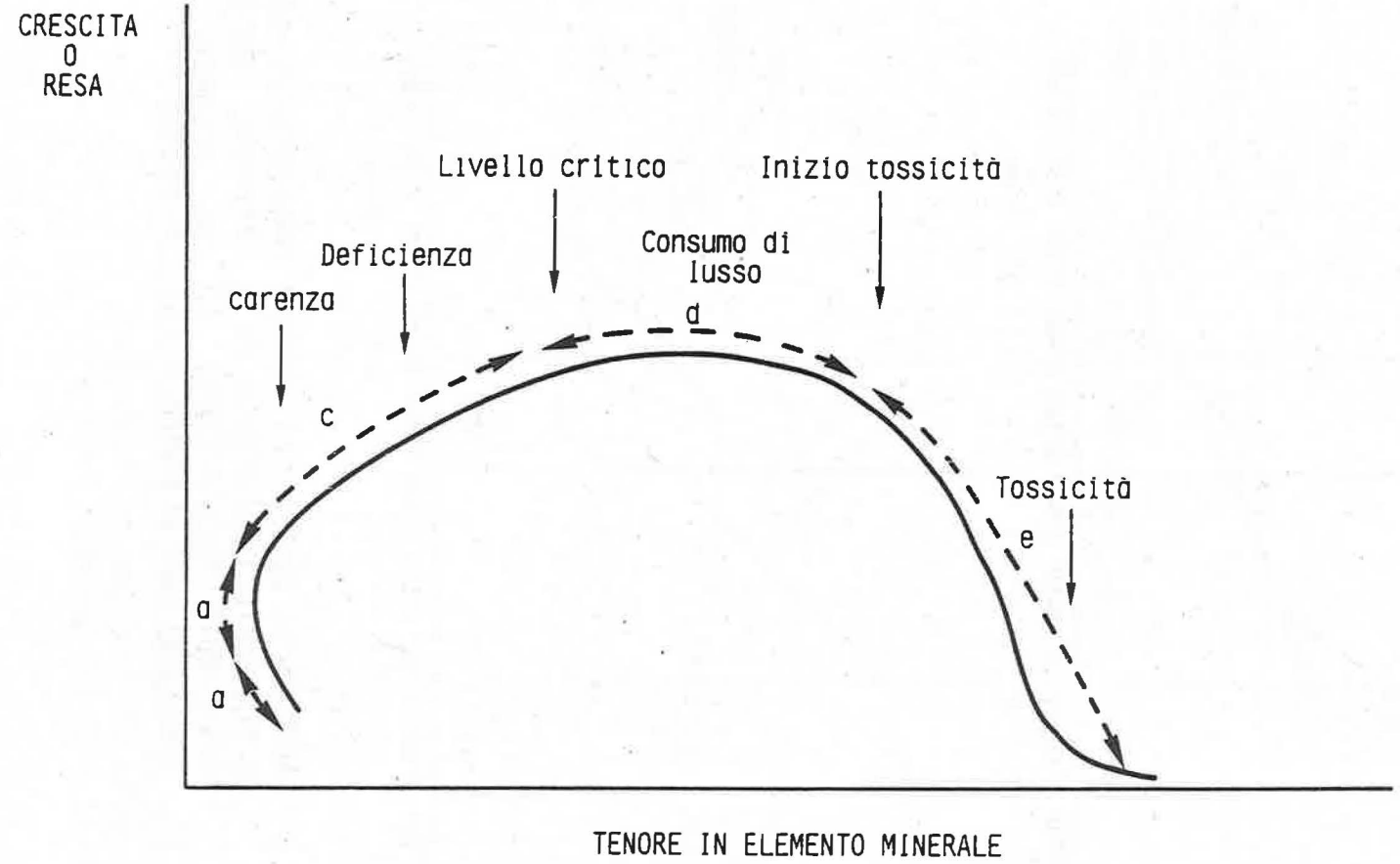


Fig. 1 - Modello di relazione fra il contenuto fogliare di un nutriente con la crescita e la produttività utilizzato nella interpretazione della diagnostica fogliare della vite. (da MARTIN-PREVEL et al. 1984)

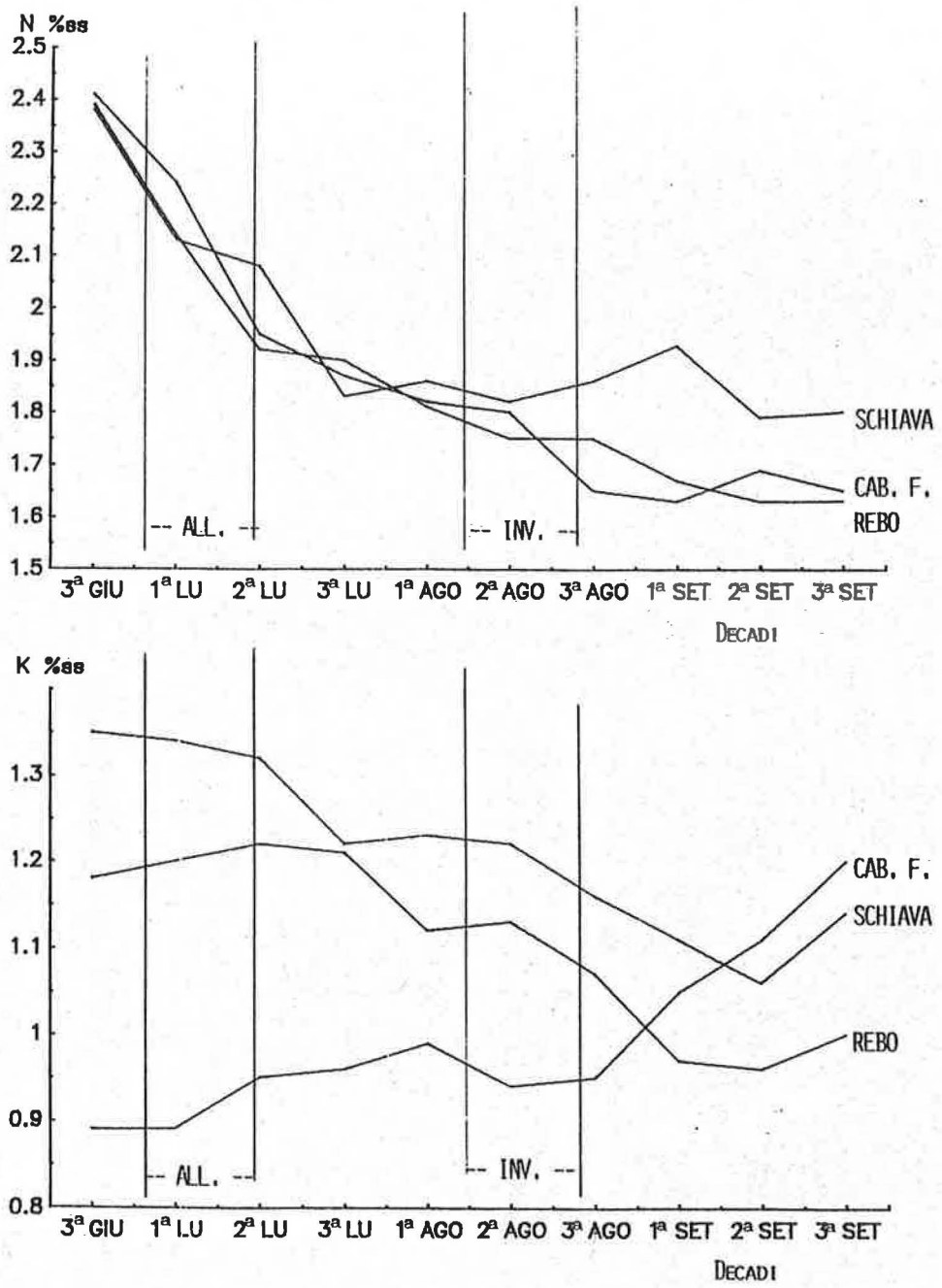


Fig. 2 - Andamento medio del tenore fogliare di azoto e potassio registrato in 3 vitigni durante otto anni (1977-1984) in un vitheto del Trentino (da SCIENZA e FAILLA 1988b).

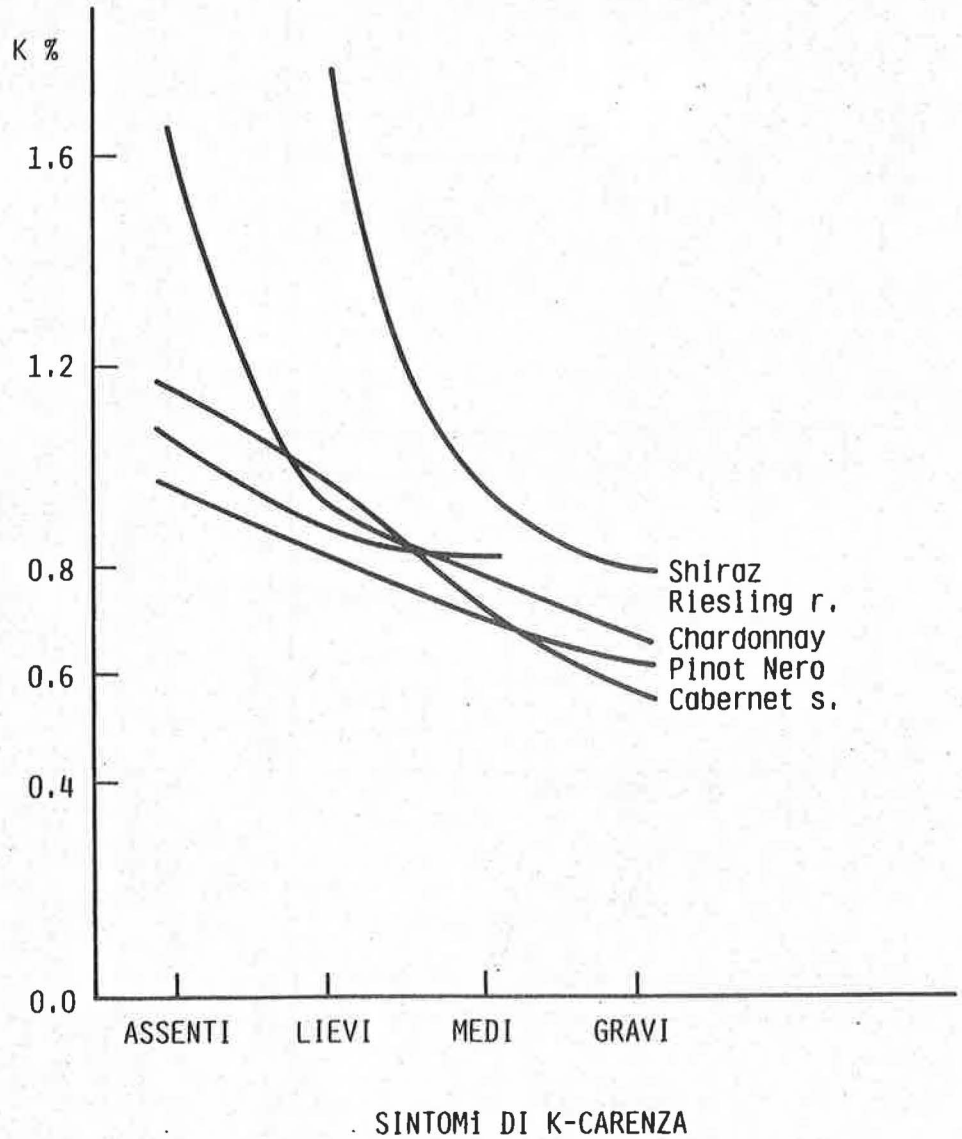


Fig. 3 - Concentrazione media di potassio in foglie di diverse varietà di vite con differenti gradi di sintomi di K - Carenza (da BROWN, 1987).

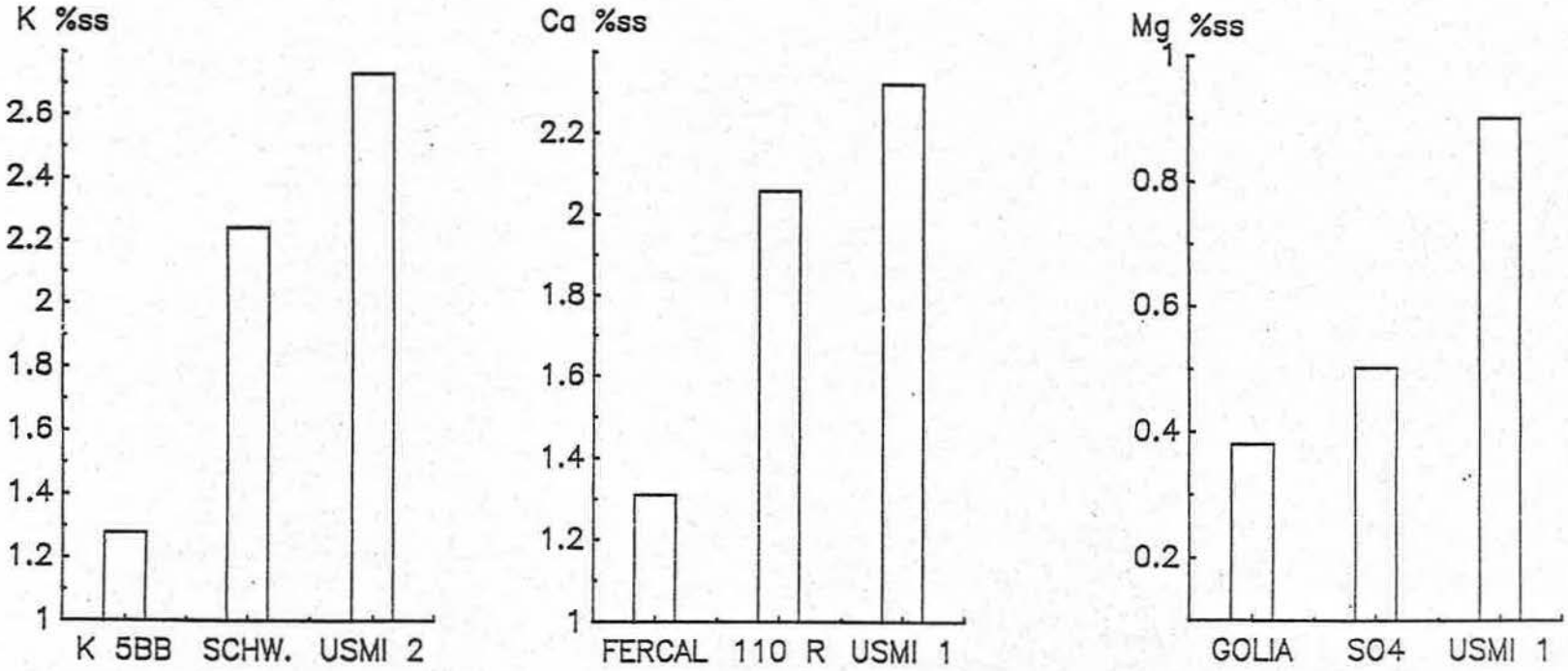


Fig. 4 - Tenori fogliari medi di potassio, calcio e magnesio riscontrati in viti "Chardonnay" e "Cabernet S." allevati in vaso in una prova di confronto nutrizionale fra portainnesti tradizionali e alcuni nuovi ottenimenti dell'Istituto di Coltivazioni Arboree di Milano (USMI 1 e USMI 2) (Rielaborato da SCIENZA e FAILLA, 1988).

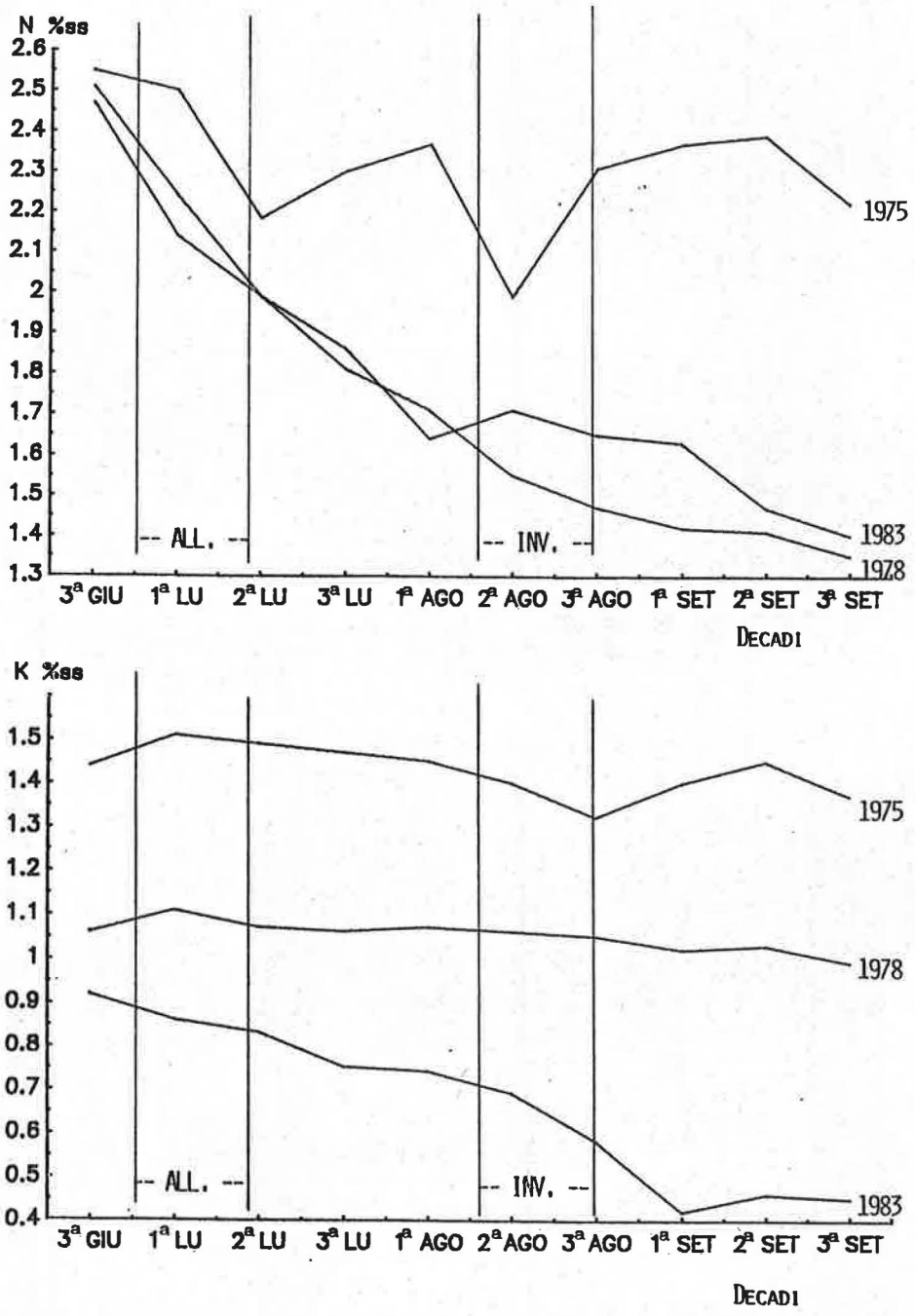


Fig. 5 - Differenze fra 3 annate nell'andamento stagionale del tenore di azoto e potassio fogliari (da SCIENZA e FAILLA, 1988b).

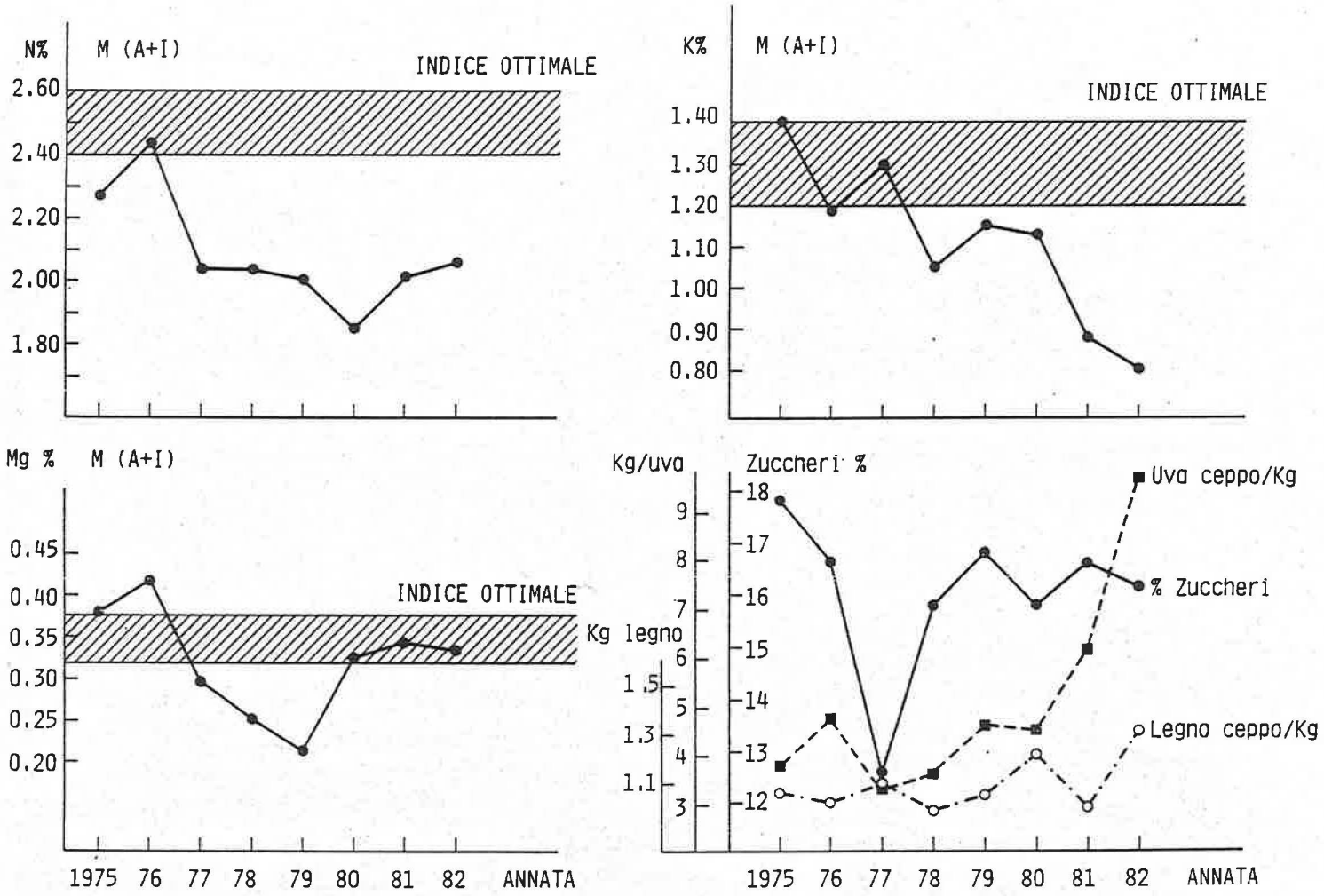


Fig. 6-7-8-9 - Valori medi del contenuto di azoto, potassio e magnesio (media allegagione e invaiatura), della produzione, del contenuto zuccherino e del legno di potatura registrati in un vigneto del Trentino dal 1975 al 1983. (da SCIENZA e FAILLA, 1988b).

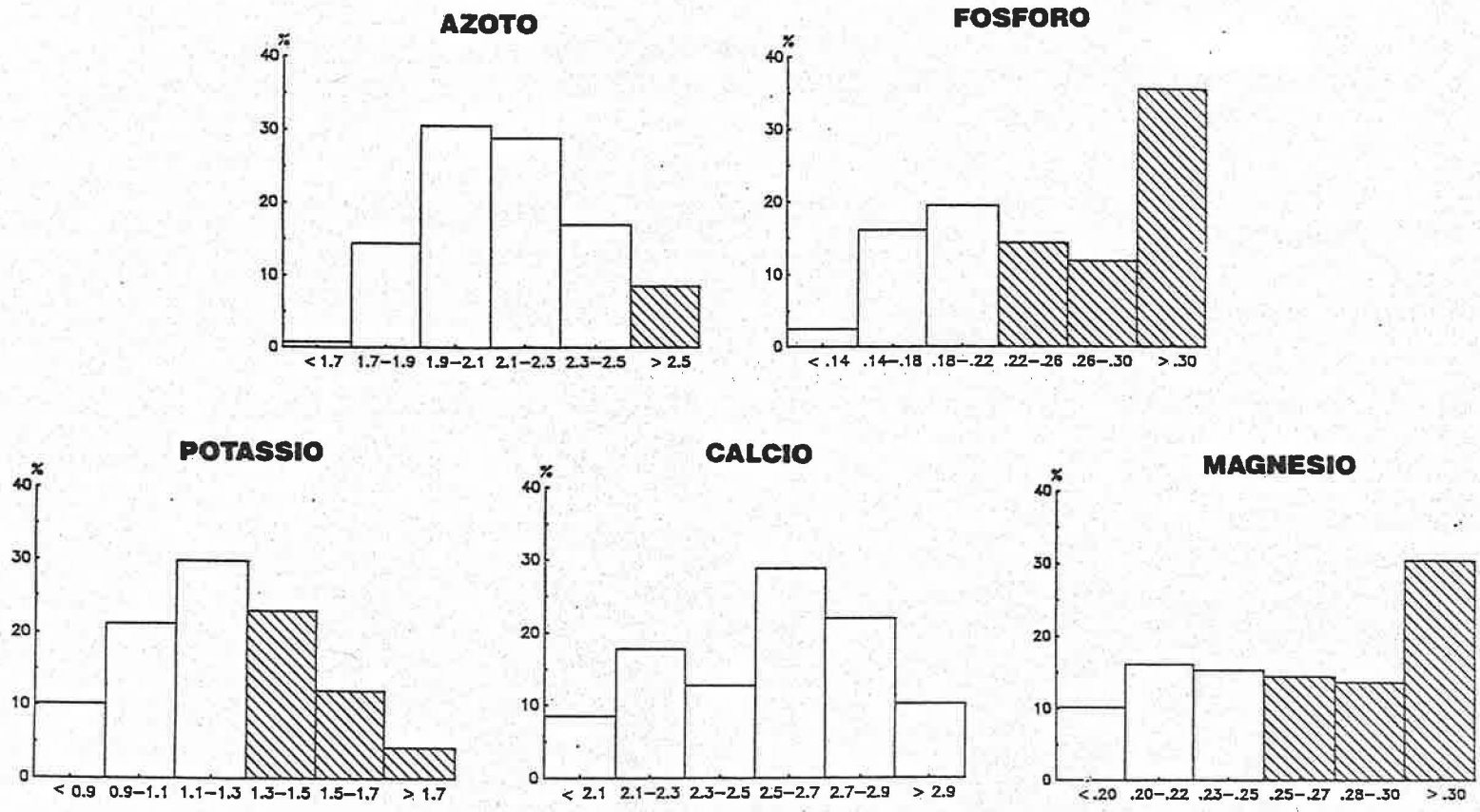
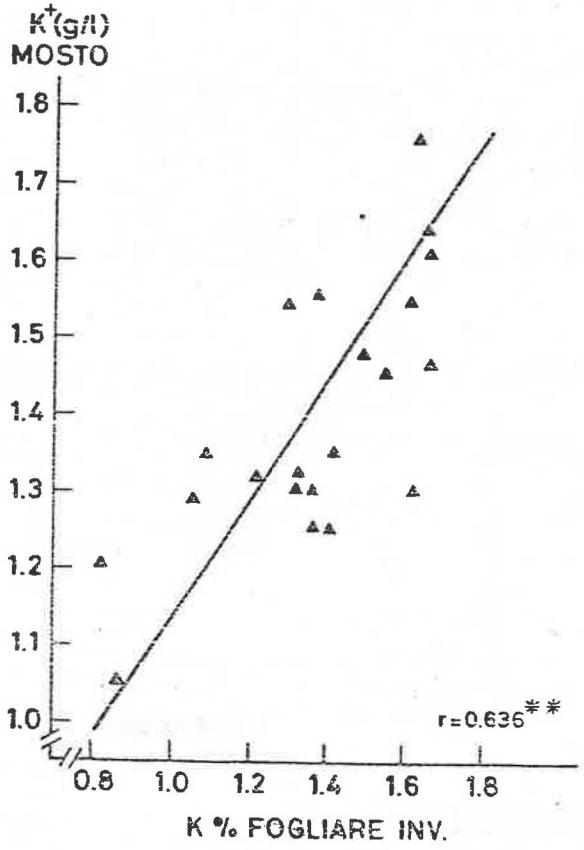


Fig. 10 - Distribuzione di frequenza dei livelli fogliari (media allegagione e invaiatura) rilevati in 117 vigneti del Trentino nel 1987.
Con il trattaggio sono evidenziati le classi di frequenza al di sopra del livello nutrizionale considerato ottimale da LEVY (1967) (da FAILLA et al., 1988).



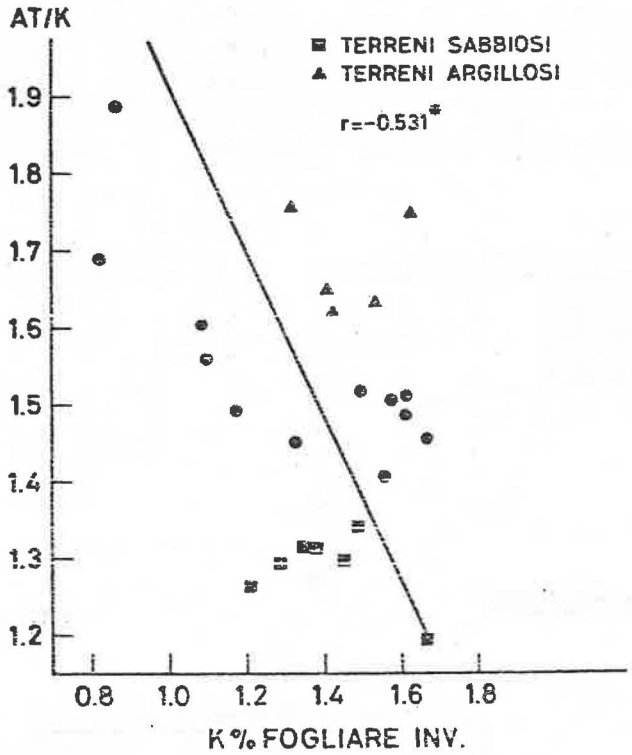


Fig. 11 - Relazione fra il tenore di potassio fogliare all'invaiatura e la concentrazione di potassio nel mosto.

Fig. 12 - Relazione fra il rapporto acido tartarico e potassio nel mosto e il tenore fogliare di potassio all'invaiatura.

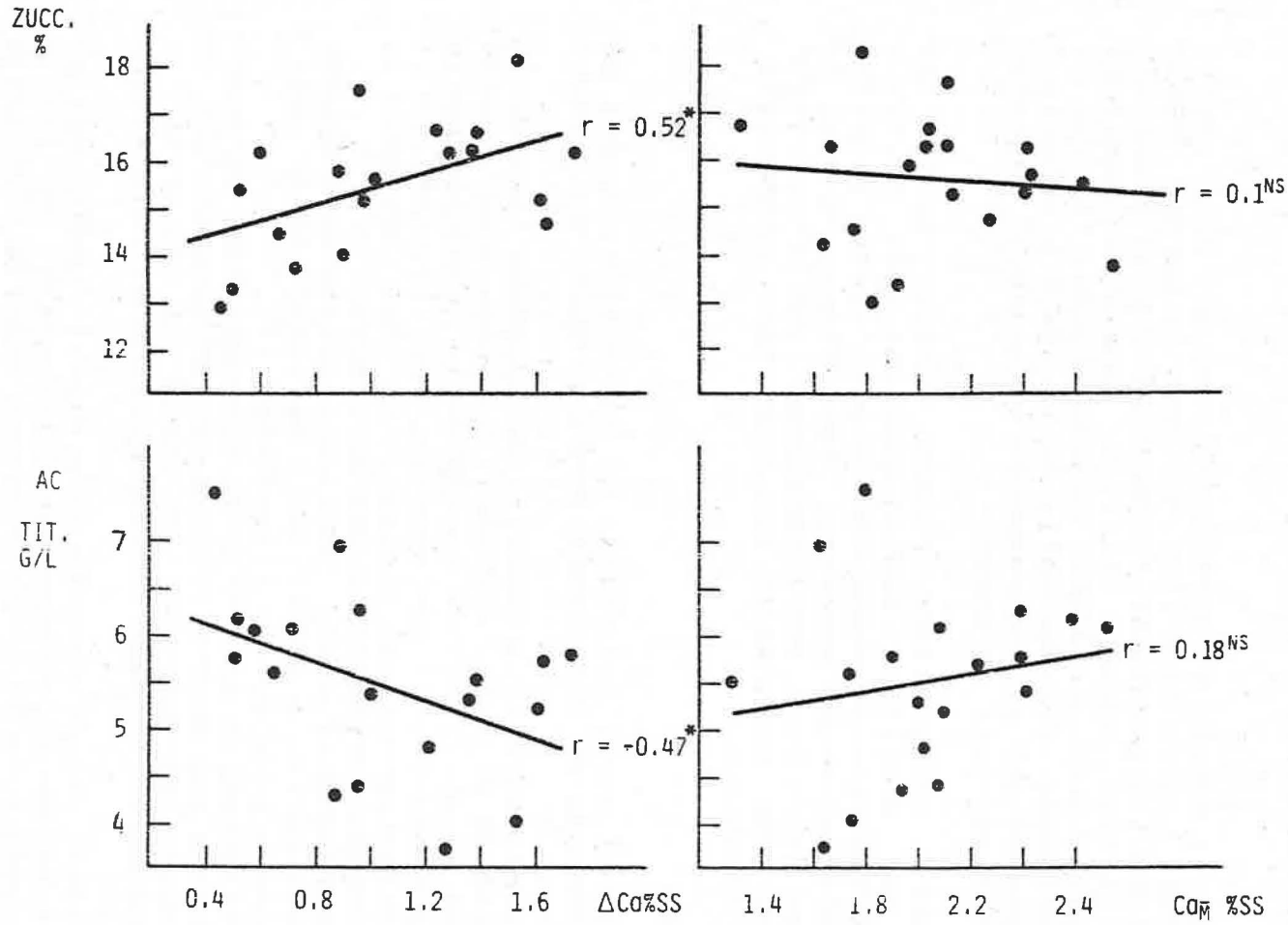


Fig. 13 - Relazione del contenuto in zuccheri e acidità totale in acido tartarico del mosto con il livello medio di calcio fogliare rilevato all'allegagione e all'invaiatura ($Ca_{\bar{M}}$) e la differenza di calcio fogliare (ΔCa) registrata fra i due rilievi (SCIENZA e FAILLA dati non pubblicati).

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

UNA APPLICAZIONE DI INTELLIGENZA ARTIFICIALE PER L'INTERPRETAZIONE DEI DATI ANALITICI E AGRONOMICI: AGRES (AGRiculture Expert System)

Attilio Pagano
EniChem Agricoltura
via Medici del Vascello 26, MILANO

RIASSUNTO
Viene descritto il metodo di interpretazione dei dati analitici e dei dati agronomici del sistema esperto AGRES (AGRiculture Expert System) per la concimazione di presemina del grano. Il sistema esperto utilizza regole agronomiche fornite da esperti della materia. Queste regole, basate su tabelle di riferimento ricavate dalla letteratura e su criteri euristici, consentono al programma di simulare il ragionamento interpretativo degli agronomi.

SUMMARY
We present AGRES (AGRiculture Expert System) method of interpretation of analitical and agronomical data for the pre-sowing fertilization of wheat. Our expert system utilizes agronomical rules given by experts. These rules, based on reference tables taken from the literature, and on heuristic criteria, allow the program to simulate the agronomists' interpretative reasoning.

1. INTRODUZIONE

Da più parti nel mondo agricolo, si raccolgono segnali di una crescente domanda di assistenza tecnica. Quale può esserne la ragione?

Oggi la azienda agraria è inserita nel sistema economico con una molteplicità di funzioni, quali la produzione quantitativa di beni primari, il controllo della qualità delle produzioni, la produttività per addetto, la flessibilità al variare dell'orientamento del mercato, e, non ultima, la fondamentale funzione di gestione del territorio.

Tutte queste funzioni vanno, inoltre, svolte nell'ambito di limiti imposti dalle caratteristiche morfologiche e pedologiche del terreno e da quelle climatiche.

Il quadro delle scelte operative è, come si vede, notevolmente complesso e può essere affrontato con successo se in aiuto del singolo imprenditore interviene un servizio in grado di coordinare le competenze specifiche di discipline diverse.

Diversi fattori hanno causato il protarsi negli ultimi anni di una situazione di sostanziale latitanza di un simile servizio. Tra questi la caratterizzazione familiare di molte imprese agricole e la politica di agevolazione all'impiego di mezzi di energia, macchine e prodotti chimici, sono state le piu' rilevanti nel favorire una abitudine all'impiego non razionale dei mezzi di produzione. Attualmente, però, si

registra una inversione di tendenza sotto la pressione di un diverso contesto di costi di approvvigionamento e di una crescente attenzione alle conseguenze ambientali dell'impiego dei prodotti chimici.

Soprattutto questa esigenza di riduzione dei costi colturali e di ottimizzazione dei mezzi tecnici può trovare impreparate gran parte delle aziende, che pertanto cercano nell'assistenza tecnica, pubblica o privata, un supporto alle scelte operative.

Prima di vedere come un servizio di assistenza può rispondere a queste domande, vediamo quali caratteristiche esso deve avere nel settore specifico dell'agricoltura.

La principale specificità appare essere la frammentazione e dispersione dell'utenza, e la concentrazione temporale della domanda. Il primo aspetto comporta per il servizio di assistenza tecnica un adeguamento logistico. Il secondo un dimensionamento della capacità operativa del servizio alla domanda di punta.

La caratterizzazione del servizio di assistenza tecnica per tempestività, affidabilità, diffusione e capacità operativa può essere fatta con una sensibile riduzione di costo economico con l'uso di tecnologie informatiche e di automazione. Ad esempio, l'automazione del Laboratorio Analisi Terreni e Vegetali di EniChem Agricoltura ha consentito una riduzione del costo delle analisi di circa il 30%. Questo fatto, unitamente ai vantaggi relativi alla confrontabilità delle analisi dovuta alla maggiore standardizzazione dei metodi, rappresenta un passo molto importante per una diffusione più ampia del ricorso alle analisi stesse da parte delle aziende agrarie.

Vi è anche un altro fattore che consiglia l'adozione dei mezzi informatici, ed è propriamente un fattore umano.

Quando gli agronomi devono affrontare in un breve tempo una gran quantità di casi, essi tendono a ripetere meccanicamente le medesime considerazioni basilari.

Proprio per evitare il rischio di una ripetizione banale di interpretazioni schematiche è necessario impegnarsi fortemente nella ricerca di uno strumento informatico in grado di simulare il più fedelmente possibile il procedimento di interpretazione degli esperti per liberarli dall'onere di un carico eccessivo di lavoro.

I programmi convenzionali, nonostante i grandi progressi compiuti a livello di hardware per velocizzarne l'esecuzione, e a livello di software per facilitarne la compilazione con l'uso di ambienti di sviluppo e linguaggi più sofisticati, seguono un percorso risolutivo prestabilito dal programmatore per ogni situazione che si può presentare. Questo percorso è costituito da una serie di passaggi ordinati secondo una precisa sequenza. Quando, però, la natura del problema è tale che si presentano più aspetti da affrontare contemporaneamente, e che coinvolgono decisioni basate su di una complessa interazione di più fattori che deve essere considerata come un insieme, questi programmi si comportano in modo non soddisfacente.

Per questo motivo, nell'ambito di ricerca dell'Intelligenza Artificiale, si sono sviluppati linguaggi e tecniche di programmazione che consentono una trattazione simbolica di

definite aree di conoscenza, stabilendo relazioni tra i simboli che non sono state esplicitate dal programmatore. Queste relazioni vengono fatte in base ad una serie di regole stabilite dagli esperti della materia da affrontare, e perciò tali programmi sono chiamati sistemi basati sulla conoscenza, o più comunemente, Sistemi Esperti.

2. ADEGUATEZZA DEI SISTEMI ESPERTI ALLA NATURA DEL PROBLEMA AGRONOMICO.

Il problema che deve essere risolto dagli agronomi e dagli altri specialisti del servizio di assistenza tecnica è quello di ottimizzare l'impiego dei mezzi tecnici in funzione della economicità delle attività agricole, delle limitazioni ambientali (terreno e clima), delle interazioni con l'ecosistema.

Affrontare tutti gli specifici aspetti di questo problema in un unico approccio, disegnando una architettura multidisciplinare del servizio, può essere un modo suggestivo di operare, ma rischia di essere anche estremamente astratto.

Più efficiente è restare aderenti allo stato reale delle conoscenze, dividendo il proprio intervento in moduli concepiti in modo da consentire un loro coordinamento funzionale.

In questa visione modulare del problema complessivo, ci è sembrato prioritario puntare l'attenzione sugli aspetti legati al miglioramento dell'efficienza delle concimazioni. Questo perchè il retroterra di conoscenze ed esperienze è sufficientemente maturo per garantire una notevole probabilità di successo dell'intervento di assistenza, e perchè la concimazione comporta entrambe le problematiche di riduzione dei costi colturali e dell'impatto delle attività agricole sull'ambiente.

In media le spese per la fertilizzazione corrispondono a circa il 30% del costo colturale e l'efficienza delle concimazioni spesso è dell'ordine del 50%.

Infatti, se consideriamo le asportazioni di azoto effettuate con la coltivazione del mais da granella, che è in Italia una delle colture erbacee più estese (circa 800'000 ha) e una delle più intensamente coltivate (circa 100 q/ha di produzione media), esse sono dell'ordine di 140-200 kg di azoto ogni 100 q di prodotto. Poichè il ritmo di utilizzazione da parte della coltura generalmente non coincide con il rilascio di azoto in forma assorbibile da parte dei concimi ordinari, le consuete dosi di concimazione praticate tendono a essere dimensionate fino a 300 e anche 400 kg di azoto per ettaro, causando una evidente scarsa efficienza delle concimazioni stesse.

Questo esempio indica l'ampiezza del campo di intervento e l'importanza di realizzare affidabili metodi di interpretazione delle analisi dei terreni e delle caratteristiche agronomiche in senso lato delle colture per ottimizzare l'impiego dei mezzi tecnici.

Per codificare il comportamento operativo di agronomi notevolmente esperti, risulta insoddisfacente il ricorso a programmi di tipo tradizionale, perchè il loro 'modus operandi' non è sempre rappresentabile con algoritmi definiti, ma si avvale anche di valutazioni probabilistiche non

esplicitate e di suggerimenti dettati dall'esperienza soggettiva.

Pertanto, risulta più appropriato aggiungere ai procedimenti logici più o meno certi (e un programma in linguaggio tradizionale difficilmente tiene conto di questo 'più o meno') e rilevabili dalla letteratura, anche i percorsi euristici del 'saper come fare' propri dell'esperienza.

Ciò viene realizzato con la tecnica di programmazione dei sistemi esperti che, potendo valutare contemporaneamente più condizioni, offrono, rispetto ai programmi tradizionali i seguenti vantaggi.

- Il programmatore non deve prevedere tutte le possibili relazioni tra gli elementi del problema, ma solo stabilire regole generali. E' il programma che realizza le relazioni in base alle regole e alle procedure del proprio motore inferenziale.

- L'ordine di scrittura delle regole non ha alcuna importanza perchè esse sono tutte allo stesso livello nella considerazione simultanea del programma, e sono le condizioni specifiche del caso in esame a determinare quali regole debbano essere applicate. Ciò facilita notevolmente le possibilità di sviluppo del programma.

Oltre alla complessità, un'altra caratteristica del problema è che esso è risolvibile da esperti, e quindi ci sono i presupposti di conoscenza per la realizzazione di un programma basato su regole.

3. L'AMBIENTE DI APPLICAZIONE

Nella realizzazione di un programma di supporto alle decisioni, non si può procedere senza conoscere la vastità e le modalità dell'applicazione prevista. Nel nostro caso, la decisione di realizzare un sistema esperto per l'interpretazione dei dati analitici e agronomici ha il significato di completare l'iniziativa in corso dal 1986 di integrazione della vendita dei prodotti per la fertilizzazione con un servizio rivolto alla ottimizzazione del loro impiego. Tale iniziativa, proposta con la Federazione Italiana dei Consorzi Agrari, è denominata Servizi Integrati per Coltura.

Nell'ambito di questi servizi, al fine di rapportare la produttività delle colture alla effettiva potenzialità dell'ambiente, per ogni singola unità colturale prima della semina viene fatta l'analisi del terreno e viene compilata la scheda informativa per la descrizione delle caratteristiche morfologiche e agronomiche dell'appezzamento.

Dopo l'emergenza, allo stadio di crescita opportuno per le diverse specie, vengono analizzati i vegetali e vengono raccolte altre informazioni agronomiche come la effettiva data di semina, l'investimento colturale, la presenza di ristagni idrici, ecc.

Tutte queste informazioni consentono agli agronomi del servizio di elaborare un giudizio di produttività dell'appezzamento e i conseguenti consigli colturali su concimazione e correzione.

Con il prototipo di sistema esperto che ora descriveremo, vedremo come siamo riusciti a riprodurre il procedimento interpretativo e diagnostico degli esperti relativamente al

problema della concimazione di presemina del grano.

In sintesi, lo schema del sistema è il seguente.

Il campione di terreno, composto da diversi subcampioni prelevati con il carotatore, è identificato dalla copia per il laboratorio della scheda informativa, e viene inviato al laboratorio, dove viene analizzato.

Il relativo bollettino di analisi viene trasmesso alla sede centrale del servizio, dove viene caricato nella Banca Dati.

Tutti i documenti in Banca Dati hanno come chiave comune un codice di identificazione territoriale che viene ricavato in base alla cartografia IGM 1:25'000. A questo punto può iniziare l'attività di elaborazione.

4. DESCRIZIONE DI AGRES (AGRiculture Expert System)

Nel 1987, l'unità Ricerca di EniChem Agricoltura ha giudicato che il problema si presta ad essere risolto con successo con la tecnica dei sistemi esperti e, pertanto, ha iniziato una attività di sviluppo di un sistema esperto per l'elaborazione dei consigli di concimazione (Fig. 1).

Lo sviluppo del prototipo di sistema esperto per i consigli di concimazione di presmina del grano attualmente disponibile presso l'unità Ricerca di EniChem Agricoltura si è svolto in 3 fasi.

La prima, finalizzata alla realizzazione di un 'dimostratore', aveva lo scopo di dimostrare la funzionalità del metodo di acquisizione della conoscenza degli esperti e del metodo di programmazione a regole.

La seconda, finalizzata alla realizzazione di un prototipo, aveva lo scopo di mettere a disposizione dei ricercatori uno strumento già sufficientemente articolato per intervenire in un campo abbastanza vario di situazioni reali per orientare la successiva fase di crescita del prototipo. Questo primo prototipo è stato impiegato per interpretare casi reali e controllabili con i Servizi Integrati per la Coltura grano del 1987/88, nelle zone di Alessandria e Bologna nel nord, e di Grosseto nel centro Italia.

La terza fase ha completato la definizione delle regole agronomiche. Il prototipo attuale è notevolmente cresciuto e comprende circa 400 regole agronomiche. La sua funzionalità verrà verificata con la prossima annata agraria su coltivazioni di grano di molte aree del nord, centro e sud Italia.

Il criterio generale che sta alla base del sistema esperto AGRES per i consigli di concimazione è valutare la produttività potenziale di un appezzamento e confrontarla con la disponibilità di elementi nutritivi del terreno, per giungere ad un indicazione delle quantità da apportare con la concimazione.

Poichè è evidente che sarebbe stato del tutto inutilizzabile un programma basato su regole che trattano fenomeni ignoti, sin dalle prime fasi del lavoro, è stata condotta un'indagine sulla disponibilità e reperibilità dei dati relativi alle seguenti aree tematiche.

Terreno: caratteristiche chimico-fisiche, topografiche, morfologiche generali

Iter colturale: precessioni e rese degli ultimi 3 - 5 anni, concimazioni organiche degli ultimi 3 anni, concimazioni minerali dell'anno precedente.

Produzioni di riferimento della zona: massime e minime produzioni unitarie varietali, produzioni unitarie medie della specie.

Dato che i dati sulle produzioni varietali delle diverse zone non sono disponibili in censimenti o indagini generali, si è dovuto procedere ad un'indagine diretta in campioni di aziende agrarie. Per le altre informazioni, si utilizzano i bollettini di analisi chimica (Fig. 2) e le schede informative aziendali (Fig. 3).

- Valutazione della produttività potenziale.

Sono stati individuati tre sottoproblemi: fertilità chimica, fertilità fisica e fertilità biologica.

La fertilità chimica non viene considerata come un fattore limitante in questa parte del programma (almeno per i macroelementi) perchè lo scopo del modulo concimazione è proprio quello di ottimizzare la disponibilità nutrizionale della coltura.

Fertilità fisica e fertilità biologica vengono invece valutate sulla base del bollettino di analisi fisico-chimica del terreno e delle informazioni della scheda agronomica, come coefficienti variabili tra 0 e 1 da confrontare con le produzioni ottimali delle diverse varietà coltivate zona per zona.

- Interpretazione del bollettino di analisi del terreno.

Diversi sistemi sono stati realizzati in base ai valori di dotazione dei terreni in elementi nutritivi. In genere essi considerano il dato analitico come valore assoluto, e non, come più correttamente dovrebbe essere, come indice dello stato nutrizionale.

Infatti i laboratori di analisi generalmente associano al valore di analisi un giudizio del tipo 'scarso', 'normale', 'molto', ecc., che deriva dal confronto del valore stesso con intervalli prestabiliti i cui limiti sono fissi e si riferiscono alla dotazione di ogni elemento indipendentemente dalle dotazioni di tutti gli altri.

Questo è un grave limite, perchè spesso all'agronomo risulta necessario valutare contemporaneamente più fattori.

Questa osservazione ci ha fatto impostare un sistema di valutazione della dotazione chimica del terreno che non si limita a confrontare il valore derivante dall'analisi con gli intervalli prestabiliti, ed ad attribuirlo ad una classe o l'altra, ma considera simultaneamente le diverse caratteristiche chimiche, fisiche e agronomiche del terreno. Inoltre, quando un elemento ricade in un intorno di più o meno il 10% del valore di separazione tra due classi si adotta il criterio della 'zona di confine', che in base a

condizioni concomitanti di altri parametri, specifiche per ogni elemento, decide in merito alla attribuzione alla classe di giudizio superiore o inferiore (Fig. 4).

Consideriamo, per esempio, il giudizio sulla dotazione del terreno in Potassio.

Il valore del Potassio è richiesto in INPUT all'utente, o prelevato direttamente dalla banca dati, come valore numerico, ottenuto con metodologie UNICHIM. Ad esso verrà attribuita in OUTPUT la relativa valutazione che dovrà cadere nel range: MOLTO-BASSO, BASSO, NORMALE, ALTO, MOLTO-ALTO.

La valutazione del Potassio richiede una precedente valutazione di pH e CSC, sulla cui base si individuano i range di valori all'interno dei quali andare a valutare la quantità di Potassio presente nel terreno. Nei casi in cui il valore cade in una "zona di confine", si va ad esaminare la tessitura del terreno applicando le seguenti due regole:

1 - Se la classe di tessitura a cui appartiene il terreno contiene SABBIOSO e/o FRANCO, si va alla classe di giudizio inferiore.

2 - Negli altri casi si va alla classe di giudizio superiore.

Al termine di questa valutazione che chiameremo CHIMICA, va valutato il rapporto Mg/K al fine di pervenire eventualmente ad un'altra valutazione che chiameremo AGRONOMICA, della quantità di Potassio scambiabile presente nel suolo. I criteri adottati sono i seguenti:

1 - Se il Potassio è ALTO o MOLTO-ALTO e il rapporto Magnesio/Potassio è ALTO o MOLTO-ALTO, allora porre il valore di K = NORMALE.

2 - Se il Potassio è NORMALE e il rapporto Magnesio/Potassio è ALTO o MOLTO-ALTO, allora porre il valore di K = BASSO.

3 - Se il Potassio è ALTO o MOLTO-ALTO e il rapporto Magnesio/Potassio è BASSO o MOLTO-BASSO, allora segnalare la NON APPLICABILITA' del Potassio nella formula di concimazione perchè eventuali applicazioni potrebbero determinare magnesio-carenza.

La valutazione agronomica del Potassio sarà quella che interverrà nella scelta del formulato.

Nel caso che la valutazione agronomica sia discordante da quella chimica è possibile interrogare AGRES sulle ragioni di tale discordanza.

Il giudizio di dotazione in Potassio viene anche sottoposto a verifica in base alle eventuali esigenze di correzione del pH con calcare. Infatti se il rapporto Calcio/Magnesio risulta ALTO o MOLTO-ALTO, l'eventuale intervento di correzione deve essere fatto con calcare DOLOMITICO. Poichè l'applicazione di calcare può essere fatta in parte o totalmente in presemina (a seconda delle quantità di calcare da distribuire e della tessitura del terreno) si deve tener conto anche della modalità di applicazione ai fini della previsione di produttività e dell'equilibrio nutrizionale.

Per quanto riguarda il Potassio se la distribuzione di calcare dolomitico cade nella fase di presemina allora il giudizio viene modificato secondo queste condizioni.

1 - se il Potassio è ALTO o MOLTO-ALTO, la valutazione viene portata a NORMALE.

2 - Se il Potassio è NORMALE, la valutazione viene portata a BASSO.

Questo esempio mostra la complessità del problema, e la adeguatezza della tecnica di programmazione a regole di produzione nell'ambito di un sistema esperto per semplificare la fase di rappresentazione della conoscenza.

- Interpretazione della scheda agronomica.

La scheda agronomica raccoglie informazioni sulla morfologia del terreno, e sulla precessione colturale.

Le informazioni relative alla descrizione morfologica del terreno concorrono alla determinazione di un coefficiente di produttività, che tiene conto del giudizio di SOSTANZA ORGANICA, TESSITURA, GIACITURA, DRENAGGIO e IRRIGABILITA'.

La valutazione di questi parametri considera la massima potenzialità produttiva del terreno ottenibile con la distribuzione ottimale dei fattori. Quindi, inferendo lo scartamento relativo delle reali caratteristiche del terreno di volta in volta esaminato, si determina il 'coefficiente terreno' che tiene conto anche delle caratteristiche generali dell'area geografica.

Con la valutazione della rotazione agraria cerchiamo di realizzare un primo approccio al problema della fertilità biologica del terreno, che in un suolo agrario è strettamente correlata con il tipo di successione colturale. Il sistema AGRES è istruito per confrontare l'indicazione delle colture dei 3 - 5 anni precedenti con le norme che l'esperienza dell'agronomo ritiene opportuno seguire. Dal grado di adeguatezza della successione indicata con queste norme si ricava il coefficiente di 'precessione'.

Ogni resa delle colture precedenti viene poi confrontata con la resa ottimale ottenuta nella stessa zona dalla stessa varietà, o in mancanza di questo dato di confronto, con la produzione media della specie.

Ognuno di questi rapporti viene combinato con gli altri con un trattamento statistico che tende ad escludere annate eccezionali, al fine di ottenere un unico valore che costituisce il coefficiente 'rese delle colture precedenti'.
In Fig. 5 viene riportato lo schema del processo interpretativo

- Elaborazione del consiglio di concimazione.

La combinazione dei tre coefficienti ('terreno', 'precessione' e 'resa delle colture precedenti') avviene in Agres in base a regole ricavate dalla esperienza degli agronomi, ovvero attribuendo maggiore peso ad uno o all'altro dei coefficienti a seconda delle circostanze e dello scostamento di ogni coefficiente da una sua propria 'soglia di soddisfazione' (Fig. 6).

Si tratta, in termini impropri ma esplicativi, di una applicazione pragmatica del criterio del fattore limitante rivolto alla individuazione del coefficiente di produttività complessivo non su base aritmetica ma euristica.

Per ogni particolare consiglio di concimazione, il coefficiente che risulta da queste elaborazioni viene confrontato

con il riferimento produttivo più preciso disponibile in Banca Dati (varietà o specie). Da ciò si ricava una previsione di produttività che viene corretta da un fattore di errore proporzionale alla 'rusticità' della varietà', espressa come il delta tra la produzione massima e minima registrata nella zona.

Questo valore rientra così in una classificazione della produttività che è peculiare di ogni coltura agraria, individuando la classe di produttività attesa.

AGRES a questo punto è programmato per considerare le dotazioni del terreno in elementi nutritivi, e in base alle caratteristiche di tessitura e di dotazione di sostanza organica emette il suo consiglio di concimazione, che può, a seconda delle diverse condizioni, indicare anche suggerimenti per eventuali interventi di correzione del pH e dei successivi interventi di concimazione di copertura.

AGRES è stato realizzato utilizzando l'ambiente di sviluppo VAX-OPS5 installato su MicroVax II/VMS.

Il programma è stato sviluppato dall'unità Ricerca di EniChem Agricoltura con la consulenza della Dott.sa Enrica Bargiacchi come esperta della materia agronomica e della Dott.sa Antonella Eandi della Digital Equipment come ingegnere della conoscenza.

Nel corso del prossimo anno, verrà estesa la base di conoscenza del programma per l'elaborazione dei consigli di concimazione di copertura del grano e di presemina delle principali colture primaverili.

BIBLIOGRAFIA

1 - AGRISOFTWARE 88, Catalogo italiano del software agricolo, 1988, Il Mulino.

2 - DOMINGUEZ A., RANTAKALLIO E., 1988, Selective fertilization using Expert System, Papers of the International Congress on Knowledge Based System in Agriculture, Frankfurt, June 1988.

3 - ISTITUTO SUPERIORE PER LA NUTRIZIONE DELLE PIANTE ROMA, 1985, Produttività potenziale e classificazione dei terreni, supplemento agli annali.

4 - LE CARFEC F., 1988, ZEA - Stock management for maize, Papers of the International Congress on Knowledge Based System in Agriculture, Frankfurt, June 1988.

5 - PAGANO A., 1988, Applicazioni informatiche nel servizio di assistenza tecnica di EniChem Agricoltura, Atti del convegno Informatica e Agricoltura, Firenze giugno 1988, in corso di pubblicazione.

6 - PERELLI M., 1985, Una nuova metodologia per l'interpretazione delle analisi del terreno e l'ottimizzazione della concimazione, L'Informatore Agrario.

7 - RICH E., 1983, Artificial Intelligence, Mc Grow-Hill.

8 - SCOWN S. J., 1985, The artificial intelligence experience: an introduction, Digital Equipment Corporation.

9 - TOMBESI L., 1985, La classificazionedei terreni ai fini applicativi e modelli di produttività, L'Informatore Agrario.

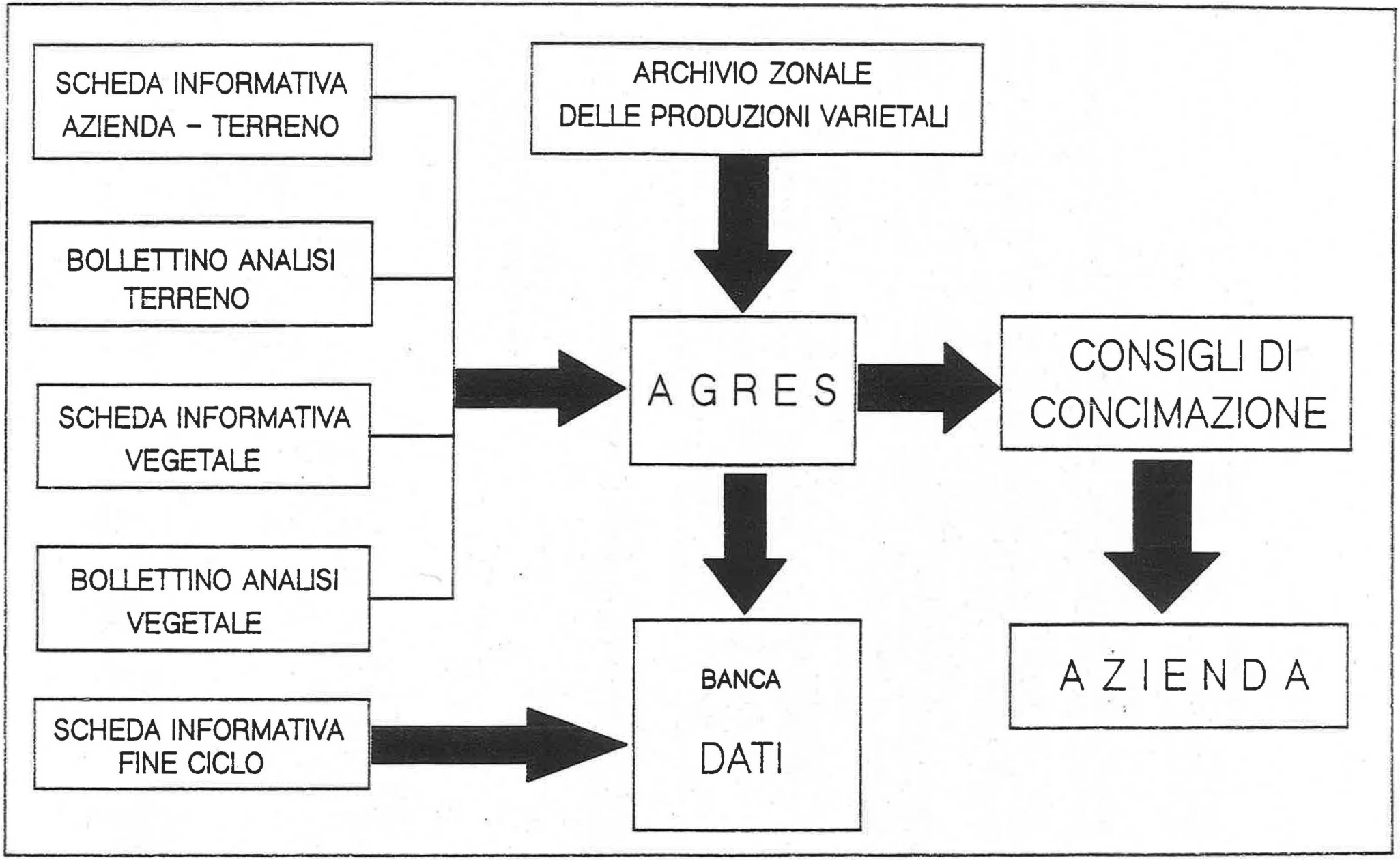


FIG 1 – SCHEMA GENERALE DEL SISTEMA ESPERTO AGRES

Enichem-Agricoltura
S E T T O R E R I C E R C A - M I L A N O
Stampa del 03/10/88

BOLLETTINO D: ANALISI Numero Analisi: 2001/88

Cod. Cliente: Rag. Soc.:
Azienda: Tel.:
Indirizzo: Località: PORTO FUORI
Provincia: RAVENNA
Richiesto da: Cons. Agr. Prov. di
Consigli di Concimazione: S Contratti per coltura: S

Cod. Campione: Date: arrivo 21/09/88 ; prelievo 19/09/88
Prelevato da: Id. Campione:
Materiale Campione: T e r r e n o

========== R I S U L T A T I A N A L I S I ==========

Descrizione Esame	Valore	Un. Misura	Metodica
TESSITURA :			Boujoucos
SABBIA	62	%	
LIMO	20	%	
ARGILLA	18	%	
pH	7.54		1:2.5 in acqua
C.S.C.	26.5	meq/100g	
CALCARE TOTALE	26.0	%	Gasvolumetria
CALCARE ATTIVO	9.5	%	Droineau-Gehu
SOSTANZA ORGANICA	1.42	%	Walkey-Black
AZOTO tot. (N)	0.68	per mille	Kjeldahl
FOSFORO ass. (P)	7	ppm	Olsen
POTASSIO scamb. (K)	81	ppm	BaCl2 + TEA
CALCIO scamb. (Ca)	2764	ppm	BaCl2 + TEA
ZOLFO (S)	405	ppm	Zolfo da Solfati
MAGNESIO scamb. (Mg)	489	ppm	BaCl2 + TEA
BORO sol.in acqua (B)	0.62	ppm	Wolf
FERRO ass. (Fe)	22.0	ppm	DTPA
RAME ass. (Cu)	2.5	ppm	DTPA
MANGANESE ass. (Mn)	8.0	ppm	DTPA
ZINCO ass. (Zn)	0.8	ppm	DTPA
SODIO scamb. (Na)	1200	ppm	BaCl2 + TEA

FIG 2 – BOLLETTINO DI ANALISI DEL TERRENO

EniChem Agricoltura Spa n° 3426

Via Medici del Vascello, 26 - 20138 Milano
Tel. 02/5201 - Telefax 52029291
Telex 310246 - Eni - I per JP089

DATA DI COMPILAZIONE E PRELIEVO DEL CAMPIONE _____

A INFORMAZIONI AZIENDALI

COD. CLIENTE _____ AZIENDA AGRARIA _____ di ha _____

INDIRIZZO DELL'AZIENDA: LOCALITÀ O VIA _____ nr _____

COMUNE _____ PROV. _____ TEL. _____/_____

RAGIONE SOCIALE _____ COD. FISCALE _____

RICHIEDENTE _____ CONTRATTO PER COLTURA SI ☐ NO ☐

☐ PROPRIETARIO ☐ COLTIVATORE DIRETTO ☐ DIRETTORE TECNICO ☐ ALTRI

SERVIZIO INTEGRATO PER LA COLTURA _____ VARIETÀ _____

B DESCRIZIONE DELL'APPEZZAMENTO

NUMERO O NOME DELLA PARCELLA _____

GIACITURA	FRANCO COLTIVAZIONE	DRENAGGIO	IRRIGABILE	LAVORAZIONI (1)
☐ Pianura	☐ Stimato	☐ Eccessivo ☐ Scarso	NO ☐	
☐ Collina	☐ Misurato	☐ Buono ☐ Artificiale		
☐ Montagna	cm _____	☐ Sufficiente ☐ _____	SI ☐	

È possibile l'irrigazione sulla coltura da seminare? NO ☐ SI ☐
Se SI definire le caratteristiche dell'impianto

SCORRIMENTO (n° interv./Anno) _____ PIOGGIA (mm/anno) _____ GOCCIA (l/ora) _____

C SUCCESSIONE COLTURALE

ANNO	COLTURA DI I RACCOLTO	VARIETÀ	RESA q/ha	COLTURA DI II RACCOLTO	VARIETÀ	RESA q/ha
- 1						
- 2						
- 3						
- 4						
- 5						

APPLICAZIONE DI CONCIMI ORGANICI E CORRETTIVI NEGLI ULTIMI 2 ANNI (2)			CONCIMAZIONE DELLA COLTURA PRECEDENTE			
CODICE	q/ha	mese / anno	CONCIME	FASE (3)	q/ha	MODO (4)

D DESCRIZIONE DEL CAMPIONE

Codice topografico del punto di prelievo: Foglio _____ Tavoletta _____ riga _____ colonna _____

Profondità del prelievo cm _____ Superficie interessata ha _____ n° analisi _____

☐ Mai analizzato prima
☐ Già analizzato da EniChem Agricoltura (indicare se disponibile n° di analisi _____)
☐ Analizzato da _____ il _____/_____/_____
☐ Allegato campione vegetale per analisi
☐ Analisi vegetale della coltura precedente

E PACCHETTO DI ANALISI RICHIESTE

☐ STANDARD (Tessitura, pH, CSC, Calc. tot., Calc. att., S.O., N, P, K, Ca, Mg)
☐ SPECIAL (Sali solubili, S, B, Fe, Cu, Mn, Zn, Na, Correttivi)
☐ TREND (pH, S.O., N, P, K)

COPIA PER IL RILEVATORE

COMPILARE IN STAMPATELLO

Le parti ombreggiate vanno compilate da Enichem Agricoltura

NOTE
(1) Vedi sul retro l'elenco delle lavorazioni e i codici.
(2) Vedi sul retro l'elenco dei concimi organici e dei correttivi e i codici
(3) Vedi sul retro l'elenco delle fasi di concimazione e i codici
(4) Vedi sul retro l'elenco delle modalità di concimazione e i codici

EniChem

FIG 3 – SCHEDA DI RILIEVO DEI DATI AZIENDALI

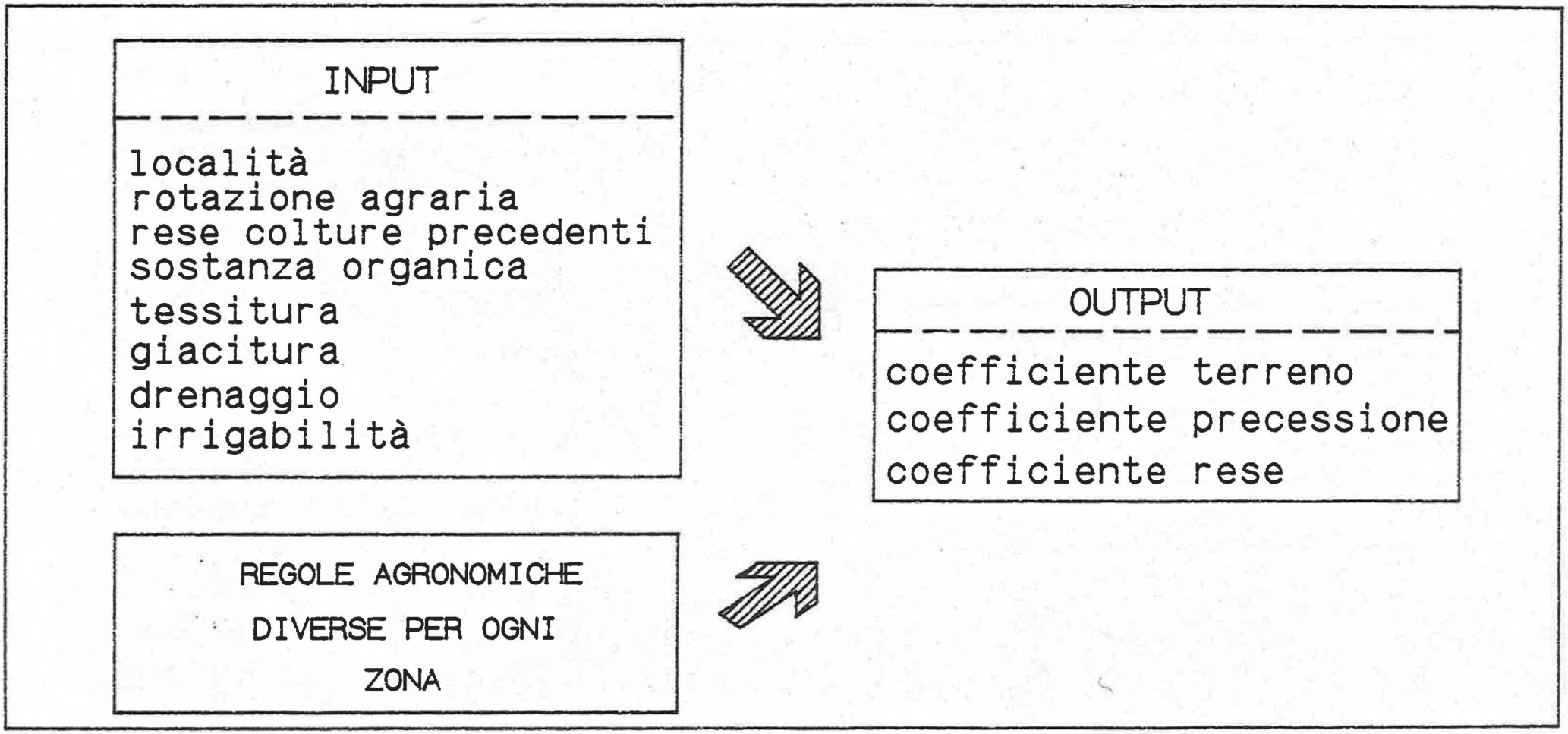


FIG 4 - SCHEMA DEL PROCESSO INTERPRETATIVO DELLA SCHEDA AGRONOMICA

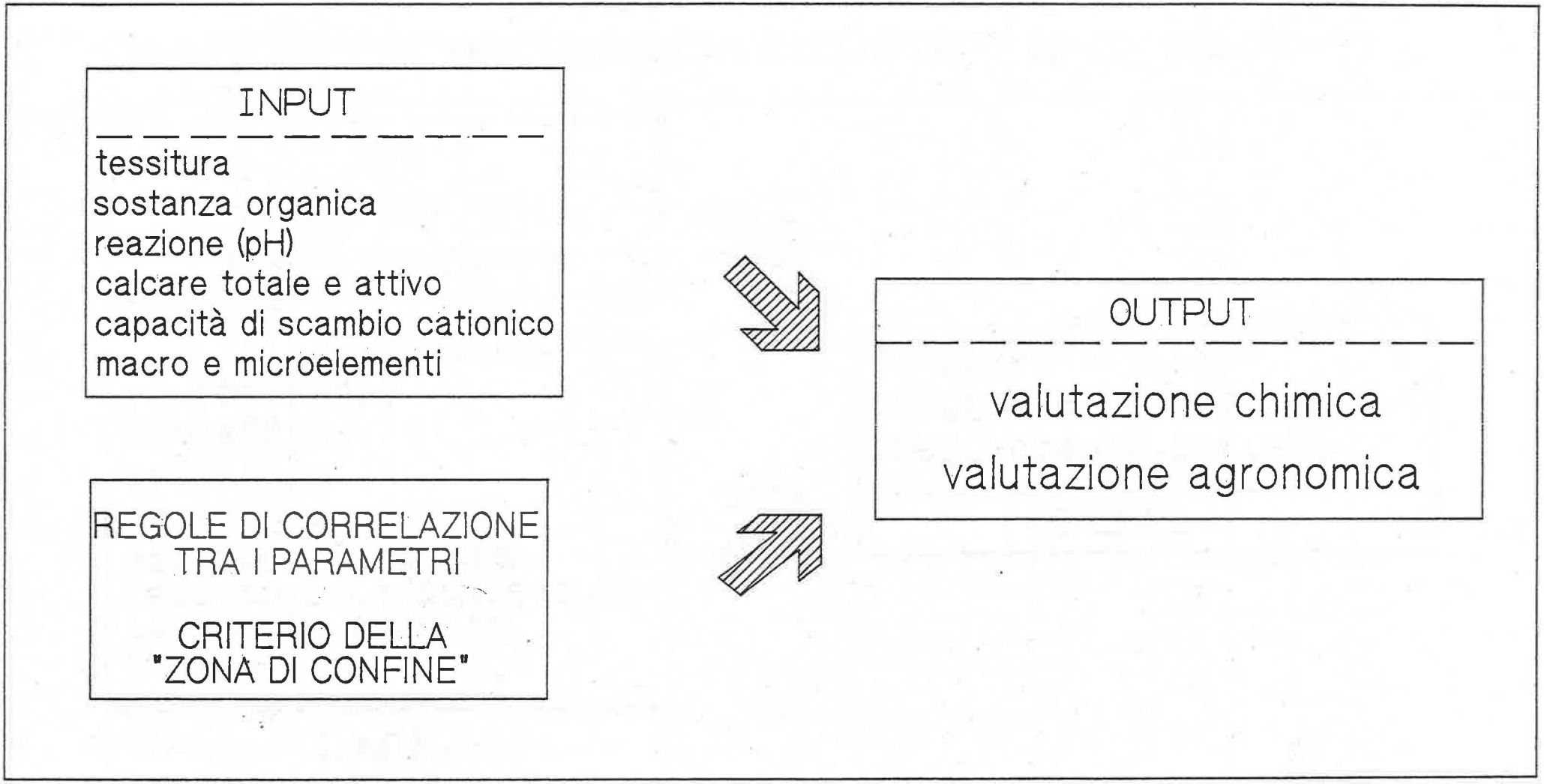


FIG 5 – SCHEMA DEL PROCESSO INTERPRETATIVO DELL'ANALISI DEL TERRENO

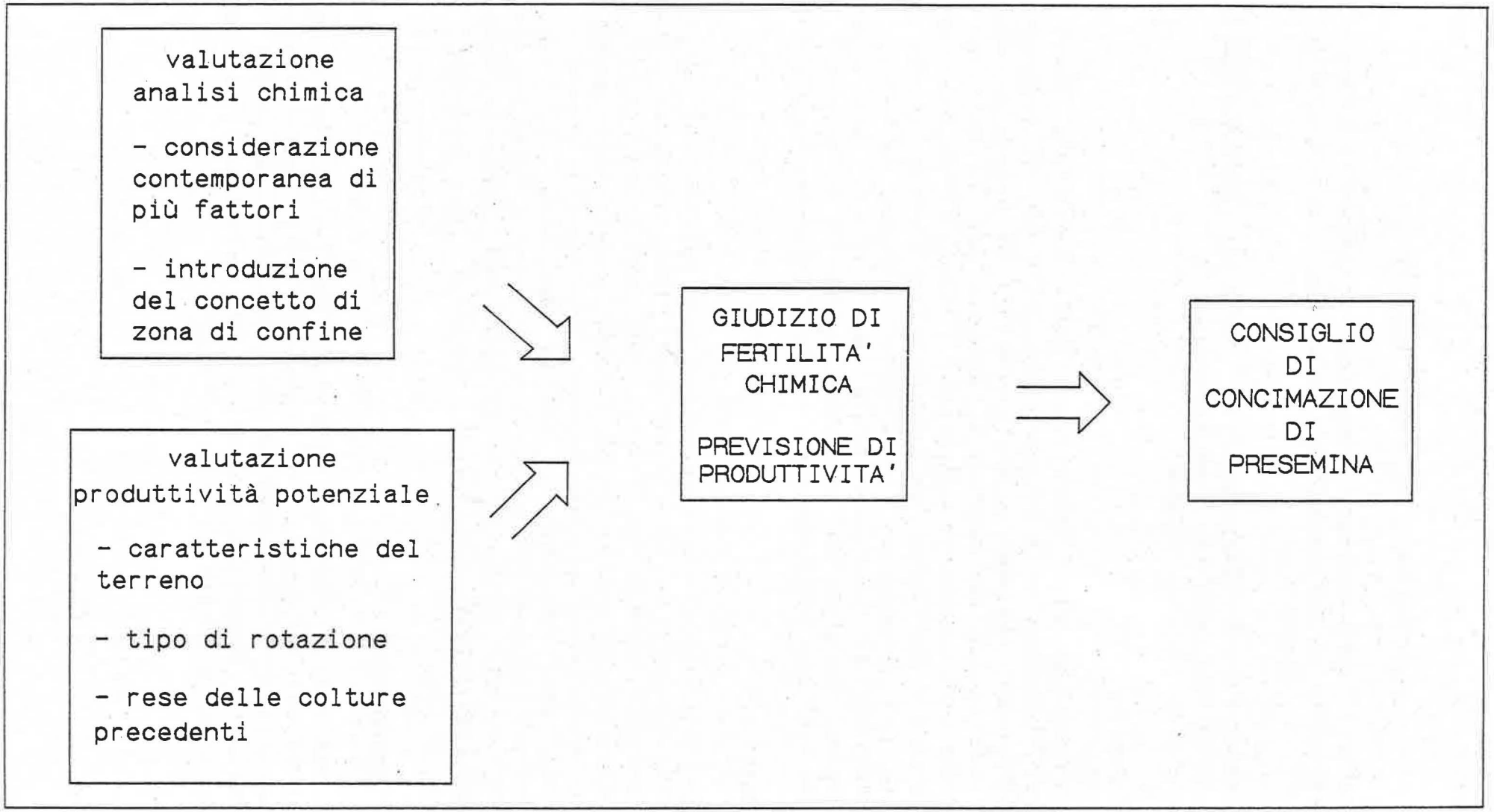


FIG 6 - SCHEMA PER L'ELABORAZIONE DEL CONSIGLIO DI CONCIMAZIONE

VERONA 1988

GIORNATE DI STUDIO SULL'ANALISI DEL SUOLO

ATTIVITA' DELL'ISTITUTO SUPERIORE LATTIERO CASEARIO DI MANTOVA PER LA DETERMINAZIONE DELLE SOGLIE DI SUFFICIENZA DI FOSFORO E POTASSIO.

AUTORI: DOTT. GIANNI MANUINI - DOTT.SSA LAURA GALASSI.
Istituto Superiore Lattiero Caseario
Via L.Pilla, 25/B - Mantova

RIASSUNTO

Su alcuni pedotipi individuati dalla Carta dei Suoli, è stata impostata una ricerca pluriennale che si propone di determinare, mediante prove parcellari di campo, le soglie di sufficienza di fosforo e potassio per le colture più diffuse nel territorio mantovano. I risultati ottenuti hanno dimostrato una forte influenza delle caratteristiche del suolo nel determinare le diverse risposte colturali. La diffusione di numerose prove su terreni, con modeste dotazioni iniziali di nutrienti, permette di ottenere nel breve periodo indicazioni di notevole interesse applicativo.

SUMMARY

A several years research plane was carried out on type soils, located on the "soil map". This research aims at determing, through plot-trial, the sufficiency levels of phosphorus and potassium in the most common crops grown in the countryside around Mantua. The results showed very strong soil characteristics in determing the various cultural answers. The diffusion of several trial on soil, with low initial quantities of nutrients, gives in a short time indication of great interest as regards the application.

1. INTRODUZIONE

Nel 1982, l'Istituto Superiore Lattiero Caseario aderì alla iniziativa promossa e finanziata dalla Amministrazione Provinciale, di procedere ad uno studio sistematico del territorio mantovano, al fine di realizzare la carta pedologica e quelle da essa derivate.

La carta dei suoli, strumento primario di informazione sul territorio, consente di esprimere in forma visiva i tipi e l'estensione dei suoli, fornisce elementi per giudicare le loro potenzialità e permette la individuazione di aree con caratteristiche ambientali, morfologiche e pedologiche differenti.

La carta pedologica inoltre, per mezzo della carta della fertilità chimica da essa derivata, evidenzia per una certa area la situazione generale dei vari elementi nutritivi, ma dà indicazioni incomplete relativamente alla dinamica degli stessi.

La disponibilità di quest'ultimi può dipendere dalla natura del suolo, ma molto spesso è fortemente influenzata da tutta una serie di fattori quali, gli avvicendamenti colturali, gli allevamenti di diverso tipo e intensità, le somministrazioni più o meno abbondanti di fertilizzanti minerali, i metodi di irrigazione, ecc.

Da parte degli operatori vi era peraltro una pressante richiesta di razionalizzare la concimazione sulla base di dati quanto più obiettivi possibili.

L'operatore agricolo infatti, anche allo stato attuale tende a fornire alle singole colture i macroelementi asportati su base empirica e senza tenere nel debito conto la natura del terreno e la disponibilità, nello strato occupato dalle radici, dei nutrienti.

D'altra parte l'analisi del terreno forniva indicazioni di massima, in quanto pur utilizzando le metodiche ormai accettate, per l'interpretazione dei dati analitici bisognava ricorrere a "griglie" stabilite in altri ambienti pedoclimatici, la cui applicazione non sempre fornisce risultati soddisfacienti.

Al fine di valutare le soglie di sufficienza per fosforo e potassio, ovvero i valori analitici oltre i quali le dosi di concimi fosfatici e potassici non danno più incrementi produttivi, si propose di realizzare prove in vaso e parcellari di campo, per le principali colture presenti nei sistemi colturali del mantovano.

La determinazione delle soglie di sufficienza, ripetuta nei diversi pedotipi individuati attraverso la carta dei suoli e per le diverse colture, permetterebbe di dare indicazioni più rispondenti per una corretta concimazione nell'ambito dell'azienda o dei singoli appezzamenti.

Per la realizzazione degli esperimenti, si ebbero però difficoltà economiche, sia per la mancanza di idonee strutture, sia per una capillare diffusione dei campi sperimentali parcellari nei diversi pedotipi.

Per cercare comunque di mettere a punto una metodologia sperimentale di campo, furono impostate e seguite diverse prove sperimentali, presso le aziende direttamente condotte dall'Istituto o ad esso affidate da Istituzioni Pubbliche.

La sperimentazione ebbe inzio nel 1983 ed è tuttora in corso.

Le specie utilizzate nelle prove sono state:

- Frumento
- Orzo
- Mais
- Soia
- Erba medica
- Festuca arundinacea

Gli ambienti nei quali si è potuto lavorare sono i seguenti:

- Az. "Le Cerchie"	MANTOVA	ISLC
- Az. "Bigattera"	MANTOVA	AMM.PROV.
- Az. "Fenilnovo"	VIADANA	IPAS

Le caratteristiche dei suoli sui quali si sono svolte le prove sono:

Az. "Le Cerchie"

Il suolo in esame viene definito secondo la classificazione americana (Soil Taxonomy) come Calcixerollic Xerochrept famiglia fine, loamy.

Questo significa che si tratta di suoli minerali con orizzonte B di alterazione, al di sotto dello strato superficiale, interessato dalle lavorazioni.

ANALISI DEL PROFILO

	S%	L%	A%	pH	$CaCO_3$%	S.O.%	C%	C.S.C.
0- 35 cm	38	30	32	8,1	15	1,6	0,9	34,3
35- 48 cm	38	28	34	8,2	10	1,2	0,7	34,3
48- 60 cm	42	30	28	8,3	38	1,0	0,6	26,2
60- 80 cm	35	37	28	8,4	50	0,5	0,3	28,7
80- 86 cm	32	42	26	8,4	55	0,5	0,3	27,5
86-120 cm	16	50	34	8,4	58	0,7	0,4	16,2
120-150 cm	20	72	8	8,4	45	0,5	0,3	26,8

Le caratteristiche fisico-chimiche sono così riassumibili: si tratta di suoli profondi a tessitura franco-argillosa.

Il pH è subalcalino ed il contenuto in calcare totale è elevato anche negli orizzonti superficiali, per arrivare al substrato estremamente calcareo.

Il calcare attivo tuttavia, non presenta valori preoccupanti per le colture erbacee più coltivate in zona.

La dotazione di sostanza organica è normale nello strato arato e poi decresce regolarmente lungo il profilo.

Il drenaggio è normale, in quanto le screziature, segno di umidità e idromorfia, compaiono nel profilo al di sotto degli 80 cm. di profondità.

Non si rileva la presenza di una falda entro il suolo.

AZ. "BIGATTERA"

Anche questo suolo è stato classificato come Calcixerollic Xerochrept famiglia fine loamy.

ANALISI DEL PROFILO

	S%	L%	A%	pH	$CaCO_3$%	S.O.%	C%
0- 40 cm	33	39	28	8,2	17	1,4	0,8
40- 80 cm	37	35	28	8,2	18	0,8	0,5
80- 98 cm	25	47	28	8,3	40	0,7	0,4
98- 128 cm	22	48	30	8,3	56	0,4	0,2
128- 159 cm	55	39	6	8,4	32	0,1	0,05

Per quanto riguarda le caratteristiche fisico-chimiche, rimangono valide le osservazioni fatte per l'Az. "Le Cerchie".

Lo studio effettuato per la realizzazione della carta delle capacità d'uso del territorio considerato, permette di affermare che i suoli dei campi sperimentali delle Aziende "Le Cerchie" e "Bigattera", sono adatti ad una vasta gamma di colture e non richiedono particolari pratiche di conservazione del suolo.

Complessivamente si presentano quindi come ottimi terreni per l'agricoltura.

AZ."FENILNOVO"

Nell'azienda considerata insistono terreni del tipo Vertic Xerofluvent famiglia fine loamy.

Trattasi di suoli poco evoluti di origine alluvionale, con elevato contenuto di argilla che causa crepacciature estive e rigonfiamento nel periodo autunno-inverno.

Tale situazione implica chiaramente difficoltà nelle lavorazioni meccaniche.

ANALISI DEL PROFILO

		S%	L%	A%	pH	$CaCO_3$%	S.O.%	C%
0- 45	cm	38	36	26	8	5,5	1,8	0,9
45- 70	cm	32	46	22	8,3	10	0,8	0,9
70- 90	cm	19	47	34	8,3	10	1,4	0,7
90-110	cm	16	30	54	8,3	6	1,6	1,1
110-125	cm	19	25	56	8,3	11	1,1	0,7
> 125	cm	16	30	54	8,4	9	1,2	0,7

Caratteristiche fisico-chimiche: risultano suoli molto profondi, a tessitura tendenzialmente franca nella parte superficiale e argillosa nella parte sottostante.

Il pH è sub-alcalino ed il contenuto in calcare totale è moderato.

La dotazione in sostanza organica risulta elevata lungo tutto il profilo.

Questi suoli sono ritenuti di seconda classe (carta della capacità d'uso), in base alle limitazioni dovute alla tessitura argillosa e al drenaggio moderato.

METODOLOGIE SPERIMENTALI IMPIEGATE

All'inizio di ogni prova, sono stati prelevati i campioni di terreno nelle singole parcelle.

Ogni campione risultava composto da quattro sottocampioni ottenuti mediante trivellazione manuale a due profondità: 0-20 e 20-35 cm. circa.

Su tali campioni si sono determinati, previa essicazione e macinatura, i valori della sostanza organica, del fosforo assimilabile, del potassio scambiabile e su alcuni di loro la capacità di scambio cationico.

La seguente metodologia, è stata quindi ripetuta annualmente dopo ogni coltura, al fine di seguire la dinamica nel suolo degli elementi fosforo e potassio in funzione delle dosi di concime apportato.

Alla raccolta, per ogni parcella è stata pesata la produzione tal quale, espressa quindi in produzione di sostanza secca per ettaro, mediante la determinazione della umidità su un campione rappresentativo del prodotto parcellare, conservato poi per le successive analisi del vegetale.

Relativamente alle metodiche impiegate per le analisi di laboratorio, si è operato nel seguente modo:

ANALISI SUOLO

- Metodo Olsen per la determinazione del fosforo assimilabile
- Medodo con ammonio acetato per la determinazione del potassio scambiabile
- Metodo Lotti per la determinazione della sostanza organica

ANALISI VEGETALE

- Metodi di analisi per la valutazione degli alimenti di impiego zootecnico

S C H E M I S P E R I M E N T A L I

FRUMENTO (Azienda "Bigattera")

Impiegando come unica varietà la cultivar "Chiarano", sono state condottte in esperimenti separati le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti.

La dotazione media inziale di fosforo assimilabile e potassio scambiabile del suolo, è risultata rispettivamente di 60 ppm e 350 ppm.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo disegno sperimentale a blocchi randomizzati (6 livelli X 6 ripetizioni) con parcelle aventi superficie totale pari a 22 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLI	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	80
3	160	160
4	240	240
5	320	320
6	400	400

CONCIMAZIONE DI FONDO:

Campo fosforo - 120 unità /Ha di K2O
Campo potassio - 80 unità/Ha di P2O5

In entrambi gli appezzamenti, sono state distribuite 120 unità/Ha/anno di azoto frazionate in due interventi di copertura.

La prova ha previsto la monosuccessione per quattro anni della coltura

ORZO (Azienda "Bigattera")

Sono state condotte in esperimenti separati, le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti, utilizzando come varietà la cultivar "Barberousse".

La dotazione media iniziale di fosforo assimilabile e potassio scambiabile del suolo, è risultata rispettivamente di 57 ppm e 360 ppm.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo disegno sperimentale a blocchi randomizzati (6 livelli X 6 ripetizioni) con parcelle aventi superficie totale pari a 22 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLI	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	80
3	160	160
4	240	240
5	320	320
6	400	400

CONCIMAZIONE DI FONDO:

Campo fosforo - 120 unità/Ha di K2O
Campo potassio - 80 unità/Ha di P2O5

In entrambi gli appezzamenti, sono state distribuite 70 unità/Ha/anno di azoto, in unico intervento di copertura.

La prova ha previsto la monosuccessione per quattro anni della coltura.

FRUMENTO (Azienda "Fenilnovo")

Sulle stesse parcelle, sono state condotte in combinazione fattoriale le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crecenti, impiegando come varietà la cultivar "Mec".

La dotazione media iniziale del suolo, è risultata rispettivamente di 28 ppm per il fosforo assimilabile e 110 ppm per il potassio scambiabile.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo schema fattoriale (2 fattori X 4 livelli ciascuno X 5 ripetizioni), con parcelle aventi superficie totale pari a 20 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLI	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	100
3	160	200
4	240	300

CONCIMAZIONE DI FONDO: sono state distribuite complessivamente 150 unità/Ha/anno di azoto, frazionate in due interventi di copertura.
La prova ha previsto la monosuccessione per due anni della coltura.

ORZO (Azienda "Fenilnovo")

Sono state condotte in combinazione fattoriale le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti.

La varietà impiegata è stata la cultivar "Barberousse".

La dotazione media iniziale del suolo in nutrienti, è risultata di 28 ppm per il fosforo assimilabile e 110 ppm per il potassio scambiabile.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo schema fattoriale (2 fattori X 4 livelli ciascuno X 5 ripetizioni), con parcelle aventi superificie totale pari a 20 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLI	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	100
3	160	200
4	240	300

CONCIMAZIONE DI FONDO: sono state distribuite complessivamente 70 unità/Ha/anno di azoto, frazionate in due interventi di copertura.

La prova ha previsto la monosuccessione per due anni della coltura.

ERBA MEDICA (Azienda "Le Cerchie")

Sono state condotte in esperimenti separati, le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti.

Per la prova è stata impiegata la cultivar "Delta".

La dotazione media iniziale del suolo in nutrienti, è risultata di 72 ppm per il fosforo assimilabile e 327 ppm per il potassio scambiabile.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo disegno sperimentale a blocchi randomizzati (6 livelli X 6 ripetizioni) su parcelle aventi superficie totale pari a 24 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLO	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	80
3	160	160
4	240	240
5	320	320
6	400	400

CONCIMAZIONE DI FONDO: non è stata effettuata alcuna concimazione di fondo.

La prova ha avuto durata triennale.

FESTUCA ARUNDINACEA (Azienda "Le Cerchie")

Sono state condotte in esperimenti separati le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti.

Per la prova è stata impiega la cultivar "Manade".

La dotazione media iniziale del suolo in nutrienti, è risultata di 75 ppm per il fosforo assimilabile e 340 ppm per il potassio scambiabile.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo disegno sperimentale a blocchi randomizzati (6 livelli X 6 ripetizioni) su parcelle aventi superficie totale pari a 24 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLO	DOSI P2O5(Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	80	80
3	160	160
4	240	240
5	320	320
6	400	400

CONCIMAZIONE DI FONDO: non è stata effettuata alcuna concimazione di fondo.
Sono state distribuite complessivamente 150 unità/Ha/anno di azoto, frazionate in più interventi di copertura.
La prova ha avuto durata triennale.

MAIS (Azienda "Bigattera")

Sono state condotte in esperimenti separati, le prove di concimazione fosfatica e potassica in dosi crescenti.

Per entrambe le prove, si sono impiegati due ibridi a differente classe di maturità (classe 600 e classe 500).

La dotazione media iniziale di fosforo assimilabile e potassio scambiabile del suolo, è risultata rispettivamente di 60 ppm e 165 ppm.

SCHEMA SPERIMENTALE (P e K): prova impostata secondo disegno sperimentale a parcelle suddivise (6 livelli X 2 ibridi X 6 ripetizioni) con sub-parcelle aventi superficie totale pari a 18 mq.

CONCIMAZIONE DIFFERENZIATA:

LIVELLI	DOSI P2O5 (Kg/Ha)	DOSI K2O(Kg/Ha)
1	0	0
2	50	80
3	100	160
4	150	240
5	200	320
6	250	400

CONCIMAZIONE DI FONDO:

Campo fosforo - 150 unità/Ha di K2O
Campo potassio - 100 unità/Ha di P2O5

In entrambi gli appezzamenti, sono state distribuite 270 unità/Ha/anno di azoto.

La prova ha previsto la monosuccessione per cinque anni della coltura ed è tuttora in corso.

OSSERVAZIONI GENERALI

La ricerca delle soglie per le diverse colture, comporta tempi piuttosto lunghi.

Quando si lavora in terreni particolarmente poveri, due o tre anni di sperimentazione dovrebbero essere in genere sufficienti ad individuare l'intervallo di fosforo assimilabile e potassio scambiabile sopra il quale non si hanno risposte.

In terreni molto dotati, bisogna attendere diversi anni (4-6) prima che le aliquote disponibili dei nutrienti si abbassino fino ai valori soglia.

E' stato questo uno dei principali problemi emersi nella gestione degli esperimenti, cioè quello di trovarsi spesso in presenza di suoli a dotazione molto elevate di fosforo e potassio assimilabili.

Come noto, le monosuccessioni sono possibili solo con determinate specie (mais), avendo cura comunque di controllare le infestazioni di malerbe.

Per altri cereali, come orzo e frumento, la continua ripetizione porta ad un sensibile incremento degli attacchi parassitari, in particolare di mal del piede.

Nel nostro caso, questi sono stati particolarmente intensi e non potendo introdurre nuove variabili come ad esempio l'impiego di varietà più resistenti, si è stati costretti ad interrompere la sperimentazione nei terreni in cui si era iniziata.

ORZO E FRUMENTO

I risultati conclusivi di un triennio relativo alle prove orzo e frumento condotte nell'Azienda "Bigattera", non hanno evidenziato risposte produttive rispetto al testimone non concimato (fig. 1,2,3,4).

Pertanto per orzo e frumento resta confermato per il momento, che valori superiori a 40 ppm di P205 e 250 ppm di K20, assimilabili, si debbano considerare di livello superiore alla soglia.

Per le medesime colture, la sperimentazione effettuata presso l'Azienda "Fenilnovo", dove il terreno sulla base delle analisi relative all'orizzonte 0-40 cm presentava valori iniziali in fosforo e potassio assimilabili rispettivamente di 28 ppm e 110 ppm, considerati in letteratura modesti, gli apporti di fertilizzante non hanno

permesso di evidenziare differenze significative rispetto ai testimoni(fig. 5,6,7,8).

Per quanto riguarda l'elemento potassio, si è voluto indagare su un simile comportamento e un'analisi più approfondita che prendeva in considerazione il profilo pedologico del campo sperimentale, evidenziava una discontinuità di alluvioni: la superiore (fino a 70 cm.) a tessitura tendenzialmente franca con una buona percentuale di sabbia, la sottostante più argillosa.

La differenza di litologia si ripercuote sulla dotazione in potassio scambiabile, la cui dinamica nel suolo dipende essenzialmente dalla presenza di colloidi argillosi a reticolo espandibile (Tab. A)

Evidentemente però, dato che gli apparati radicali dei due cereali vernini possono arrivare alle profondità indicate solo alla fine della levata, quando le esigenze di potassio sono quasi nulle, si deve supporre che le quantità disponibili siano ancora sufficienti.

Purtroppo, la sperimentazione sullo stesso terreno si è dovuta interrompere a causa come detto, del diffondersi di malattie.

Il biennio di sperimentazione, seguiva infatti una monosuccessione di frumento ripetuta per tre anni.

PROFONDITA'	K2O ppm	P2O5 ppm
0- 45 cm	110	23
45- 70 cm	98	18
70- 90 cm	173	13
90-110 cm	170	5
110-125 cm	-	-

Tab. A - distribuzione degli elementi nutritivi fosforo e potassio lungo il profilo pedologico Vertic Xerofluvent (Az. "Fenilnovo")

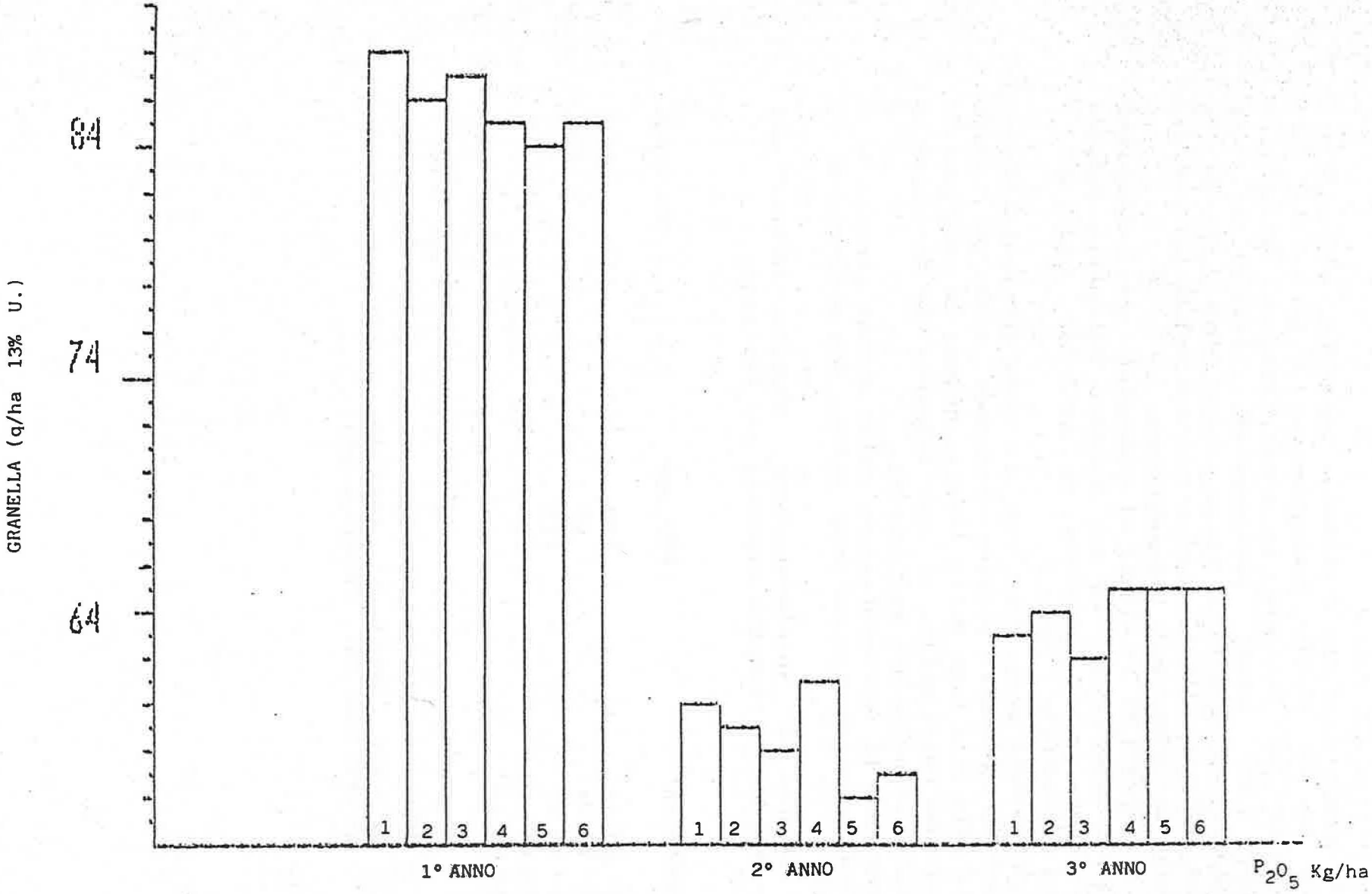


Fig. 1 - Orzo prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Risultati del triennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione .

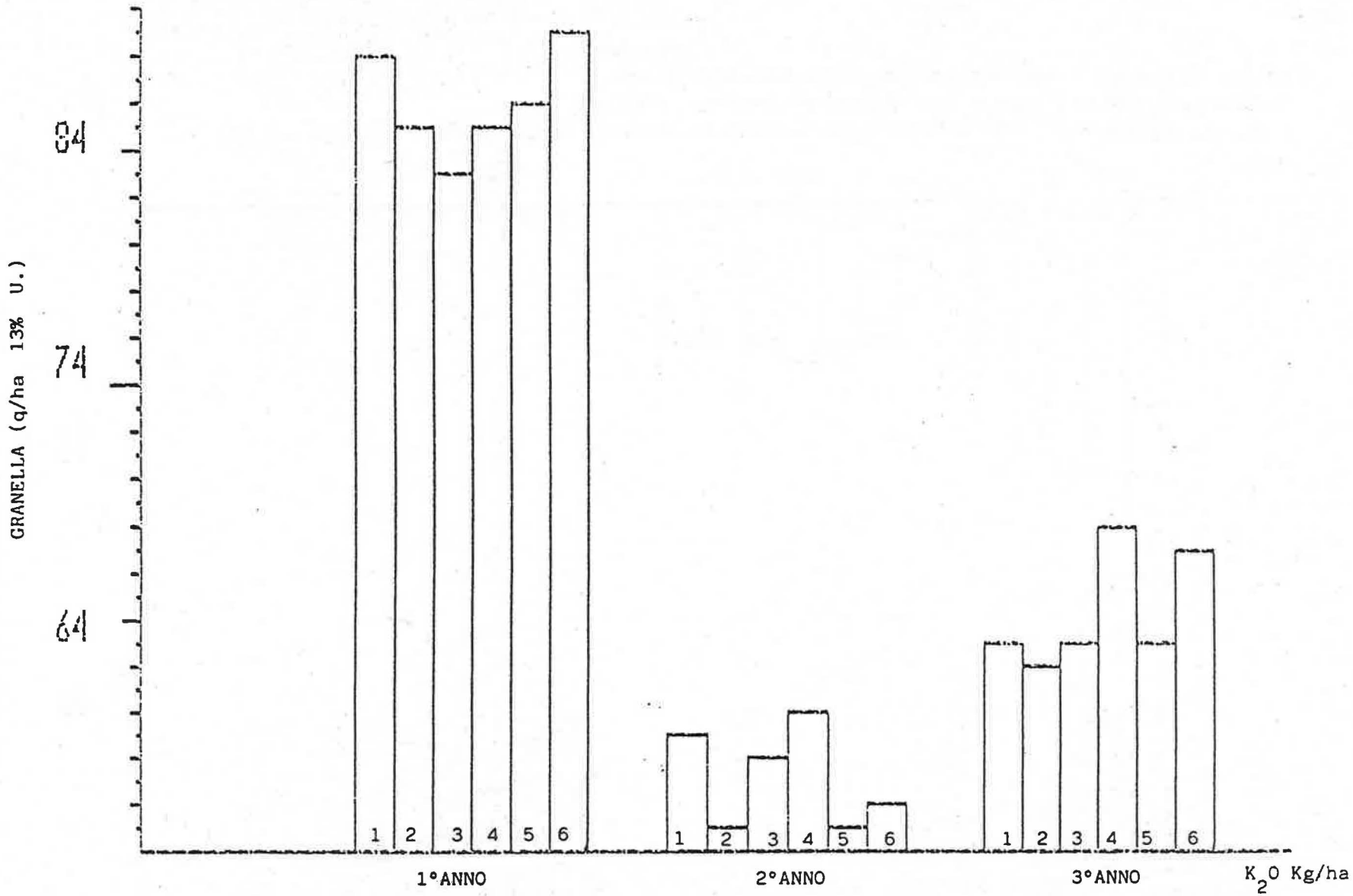


Fig.2 - Orzo prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Risultati del triennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

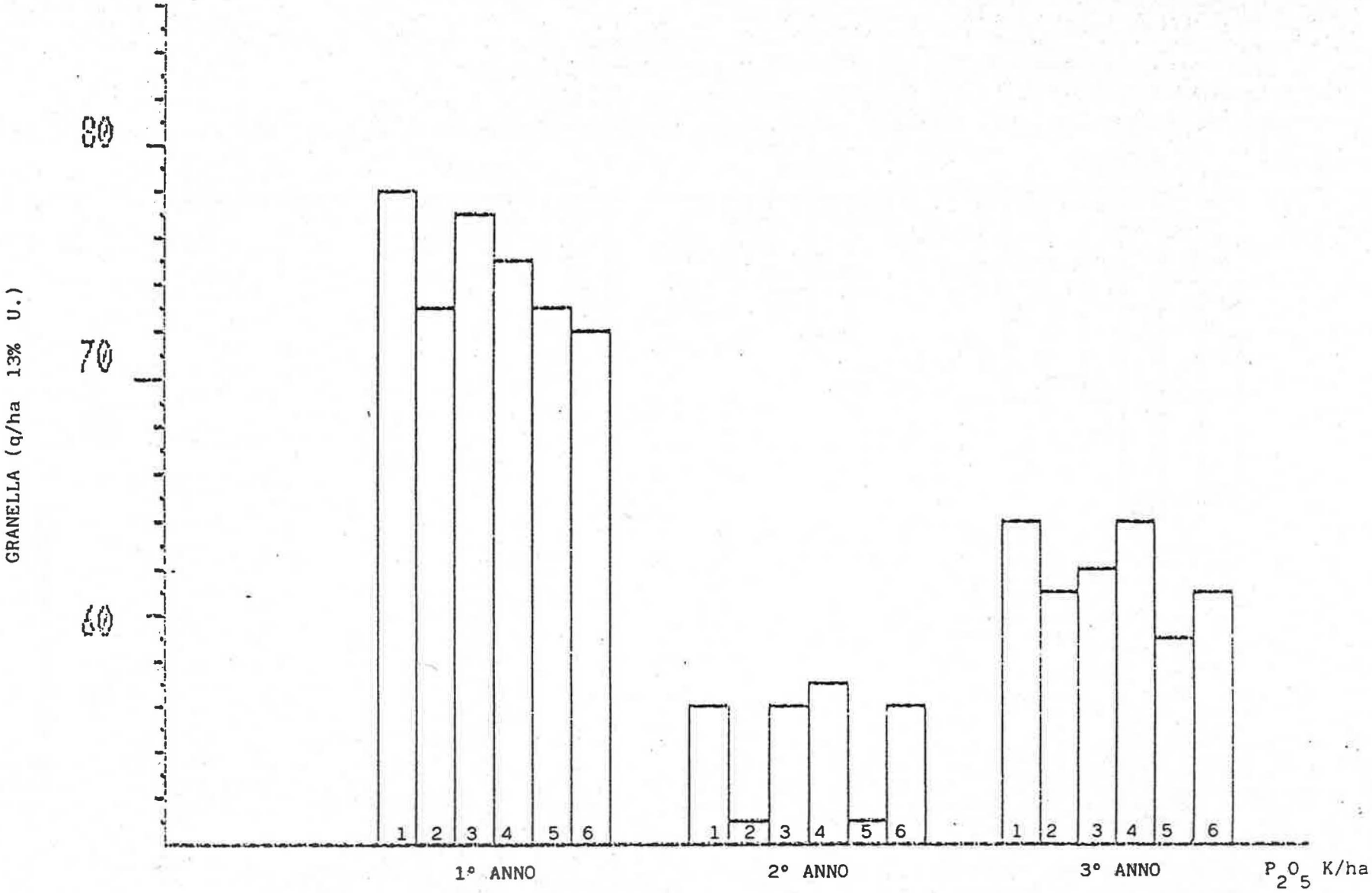


Fig.3 - Frumento prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Risultati del triennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

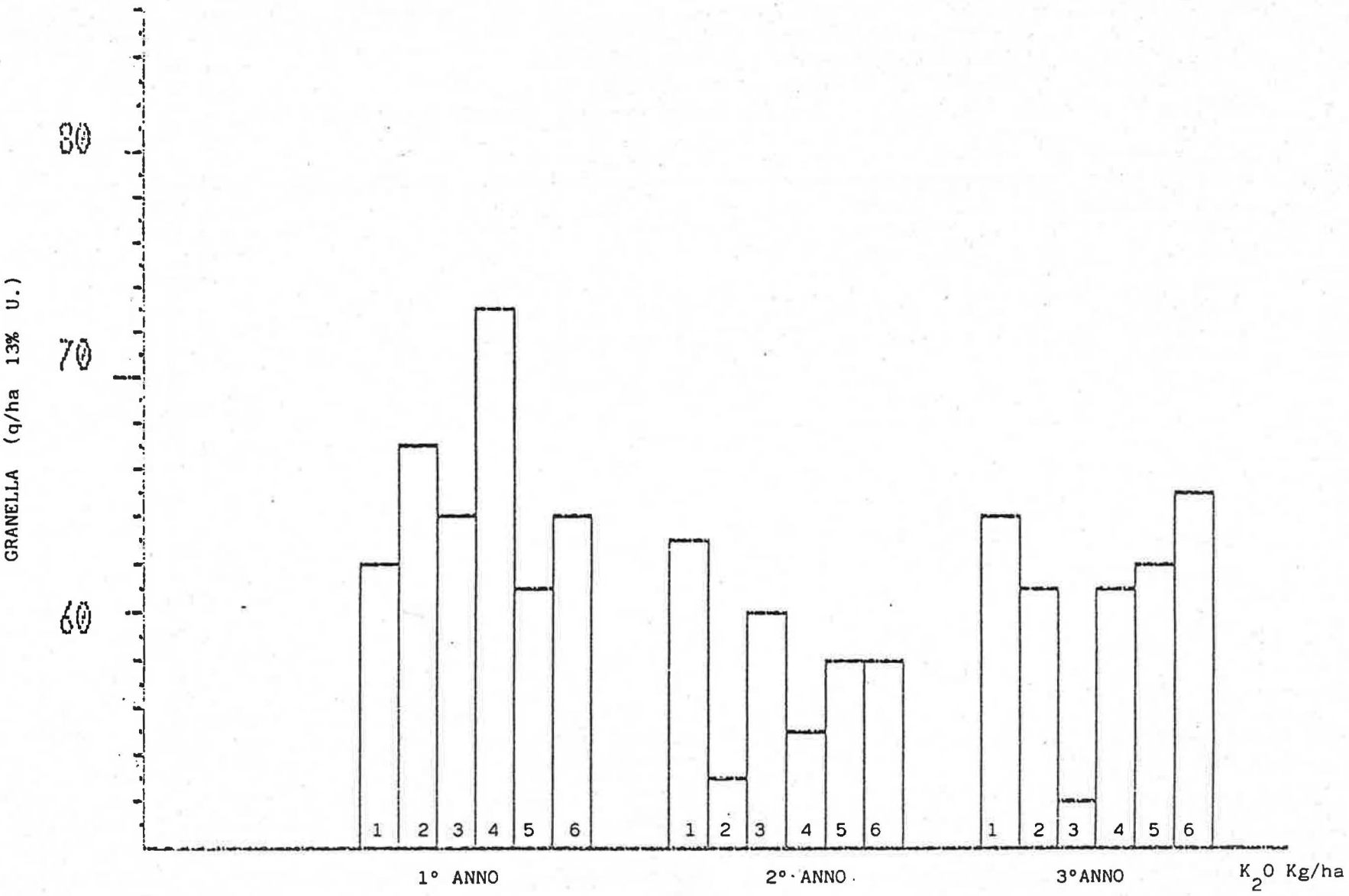


Fig. 4 - Frumento prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Risultati del triennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

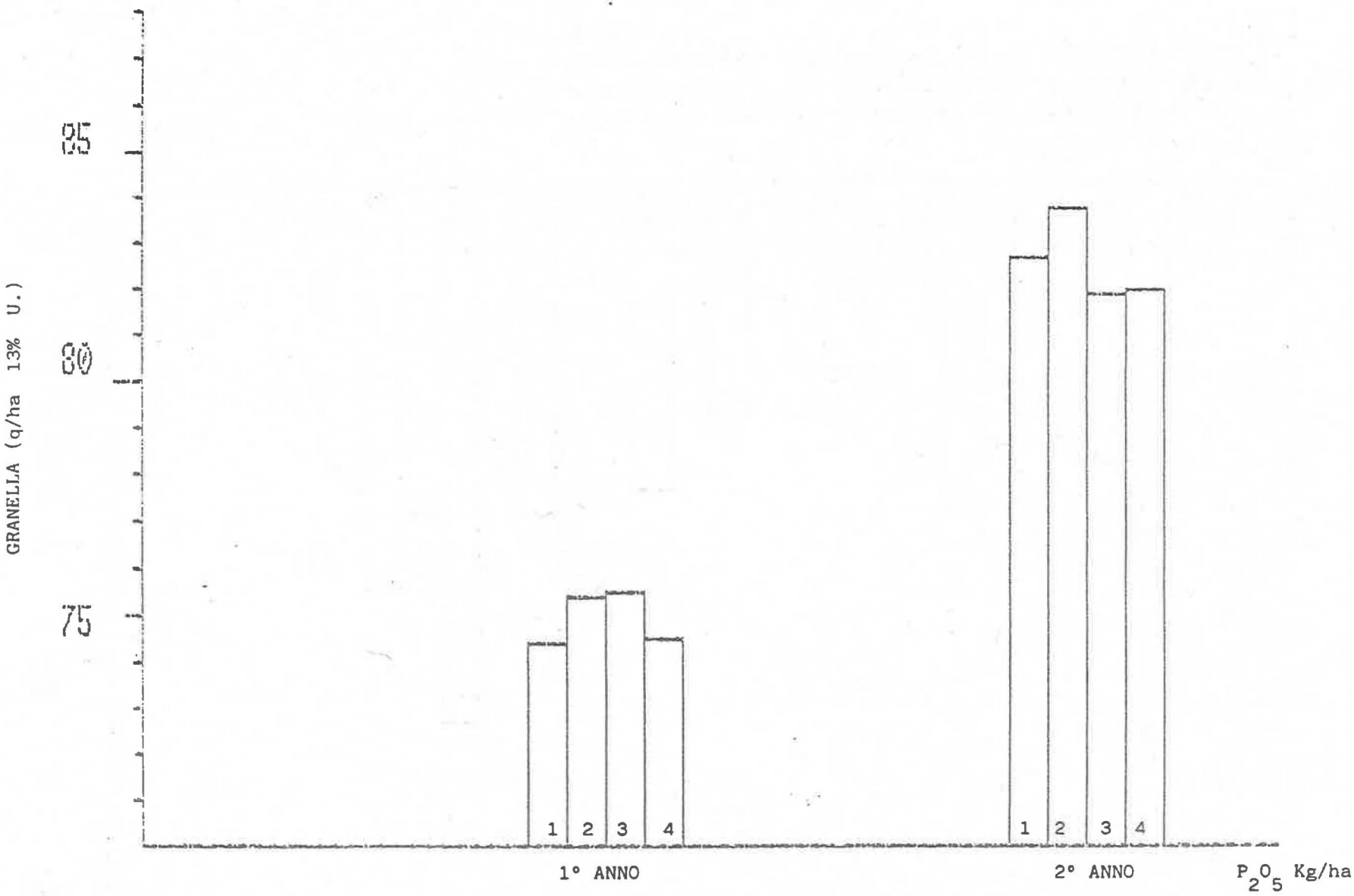


Fig.5 - Orzo prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Risultati del biennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

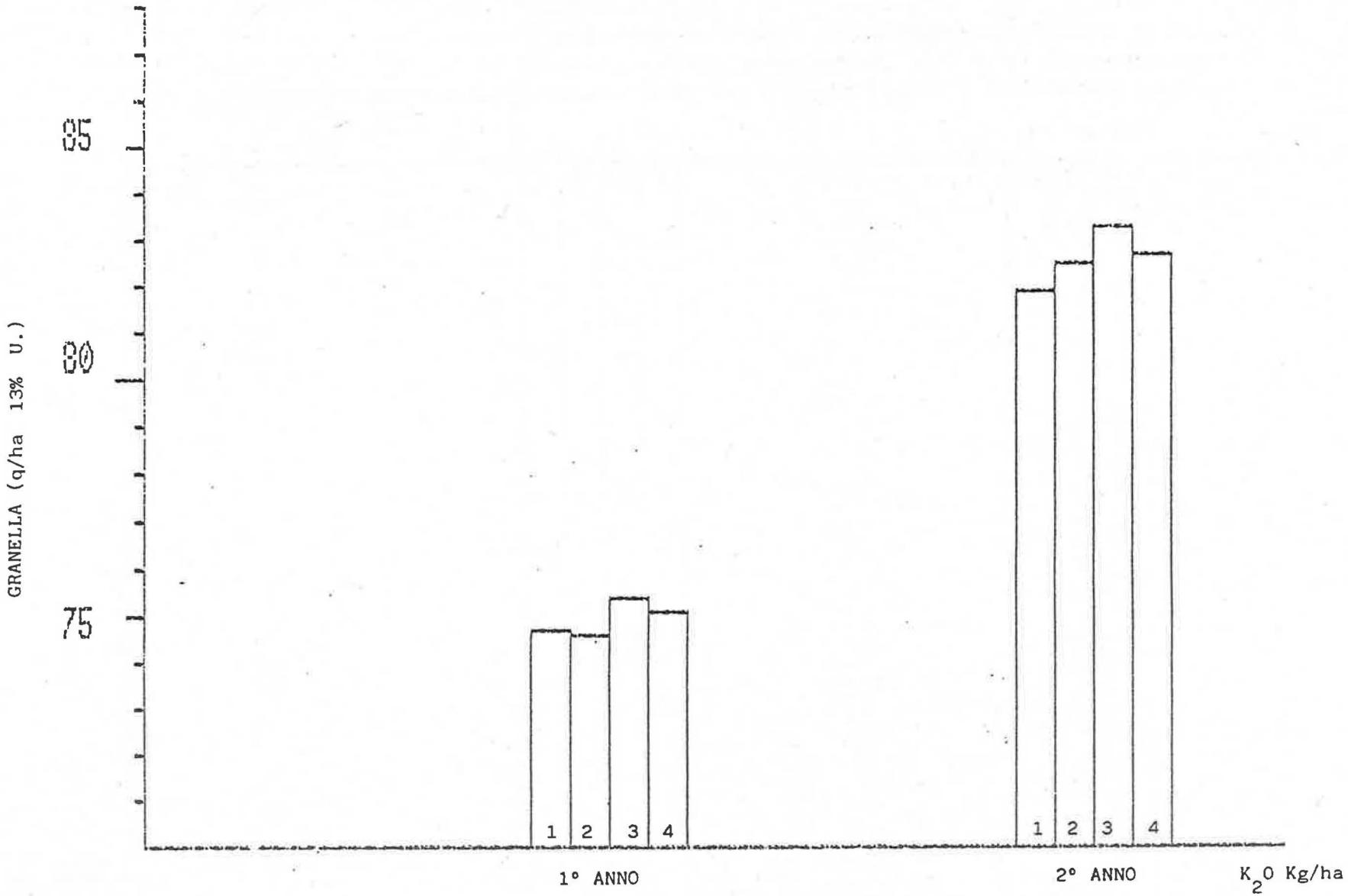


Fig.6 - Orzo prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Risultati del biennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

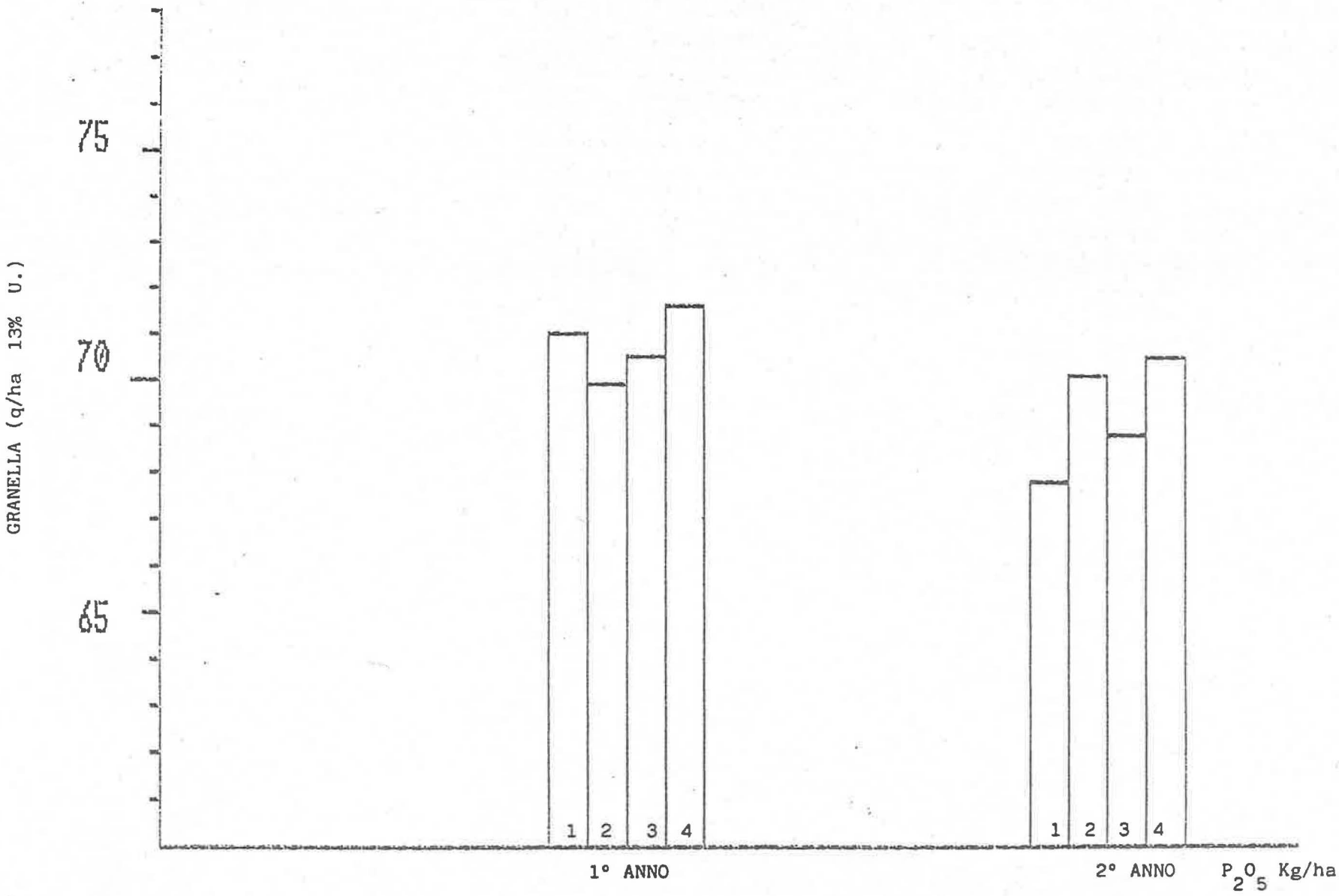


Fig.7 - Frumento prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Risultati del biennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

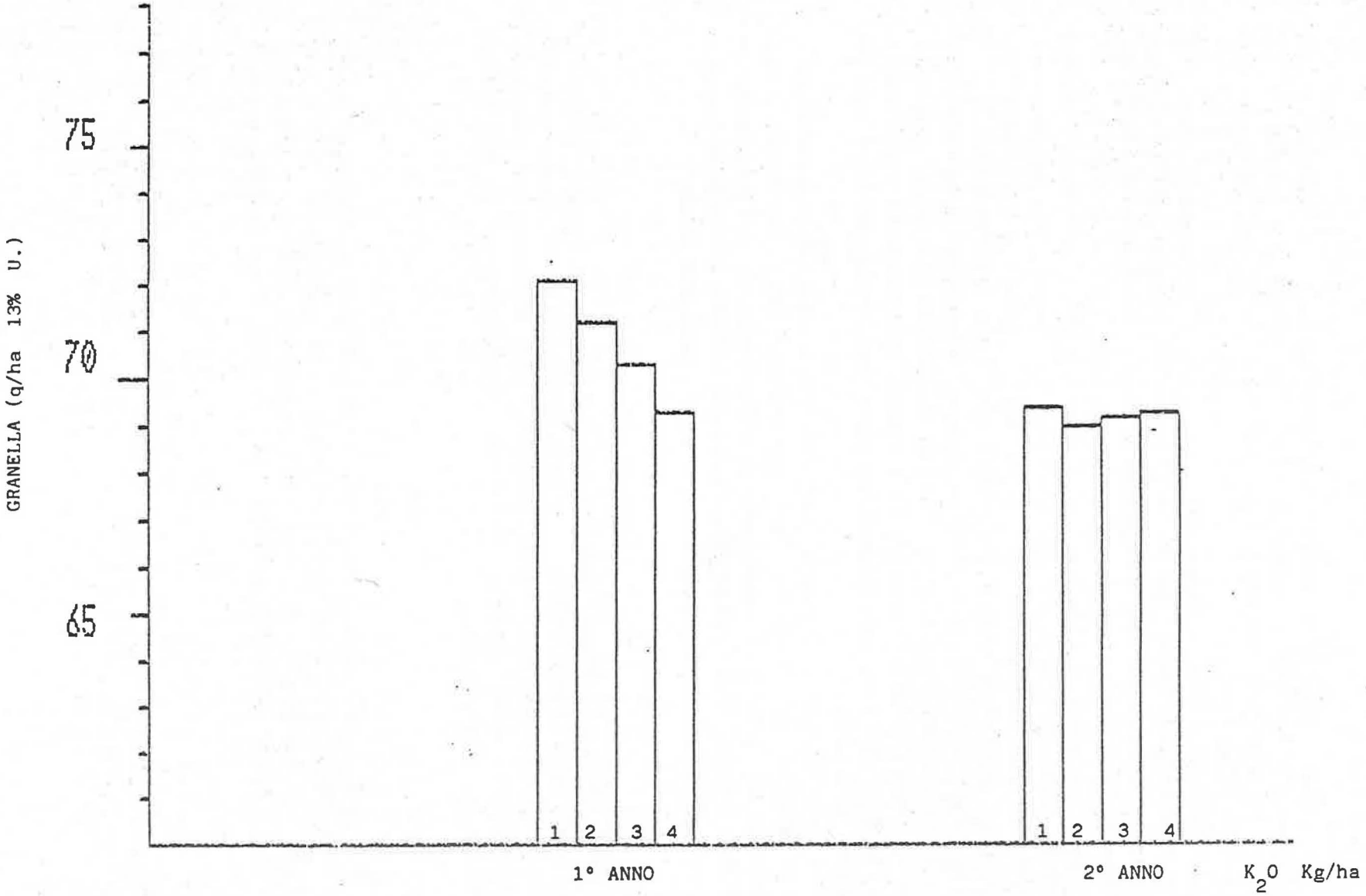


Fig.8 - Frumento prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Risultati del biennio di sperimentazione. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

ERBA MEDICA E FESTUCA ARUNDINACEA

Le prove di concimazione fosfatica e potassica per entrambe le colture, sono state impostate e condotte in terreni molto ben dotati, sia in fosforo (70 ppm) che in potassio (330 ppm).

L'Azienda "Le Cerchie" per le proprie finalità sperimentali, dispone di un allevamento zootecnico da latte e quindi frequenti ed abbondanti sono le distribuzioni di letame e liquame nei diversi appezzamenti.

Tale realtà, risulta peraltro molto diffusa nelle aziende zootecniche del mantovano, le quali dispongono di notevoli quantitativi di concimi organici, ricchi di materiale fertilizzante, derivati dai loro allevamenti.

L'elaborazione statistica dei risultati produttivi riportati nelle fig. 10,11,12,13, ha messo in luce come la concimazione fosfo-potassica a dosi crescenti non abbia determinato differenze significative nelle produzioni delle singole colture.

Si può quindi ritenere che la dotazione delle aliquote assimilabili di fosforo e potassio nel terreno, sia realmente in grado di soddisfare i fabbisogni delle piante e che, in simili casi, la concimazione fosfo-potassica possa essere eliminata per alcuni anni e/o permanentemente.

MAIS

La sperimentazione, giunta al quinto anno consecutivo di realizzazione (1983/1987) è stata impostata su appezzamenti caratterizzati da una dotazione inziale elevata di fosforo assimilabile (60 ppm), ma più contenuta in potassio scambiabile (165 ppm).

PROVA FOSFORO:

In figura 14, sono riportati i risultati produttivi medi del quinquennio, ordinati secondo le diverse tesi ed espressi in quintali di sostanza secca/ettaro di prodotto, raccolto come pianta intera allo stato di maturazione cerosa.

L'analisi dei dati, non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra le tesi.

Nelle parcelle non concimate, il livello medio di fosforo assimilabile raggiunto è risultato di 30 ppm e quindi in relazione all'andamento produttivo, le quantità di fosforo nel suolo risultano ancora sufficienti per le esigenze della coltura.

PROVA POTASSIO

Le produzioni di sostanza secca/ha sono apparse invece influenzate dalle diverse dosi di potassio somministrate in prova (fig. 15), le quali hanno determinato differenze altamente significative.

L'andamento riportato in figura evidenzia un decremento produttivo in corrispondenza delle dosi più elevate di concime potassico, mentre il livello correlativo a 160 unità/ettaro ha registrato le maggiori produzioni.

Al seguente livello di concimazione, ha fatto riscontro nel terreno una dotazione media di potassio scambiabile pari a 160 ppm.

Si può quindi affermare, per il momento, che il valore analitico del suolo corrispondente a 160-170 ppm di potassio scambiabile, coincide con la soglia di sufficienza.

Per corretti piani di concimazione relativi al tipo di suolo considerato, quantità di concime che prevedono l'apporto di 160 unità/ettaro di potassio, sono da ritenersi sufficienti non solo ai fini produttivi, ma anche al mantenimento delle aliquote di potassio scambiabile nel suolo.

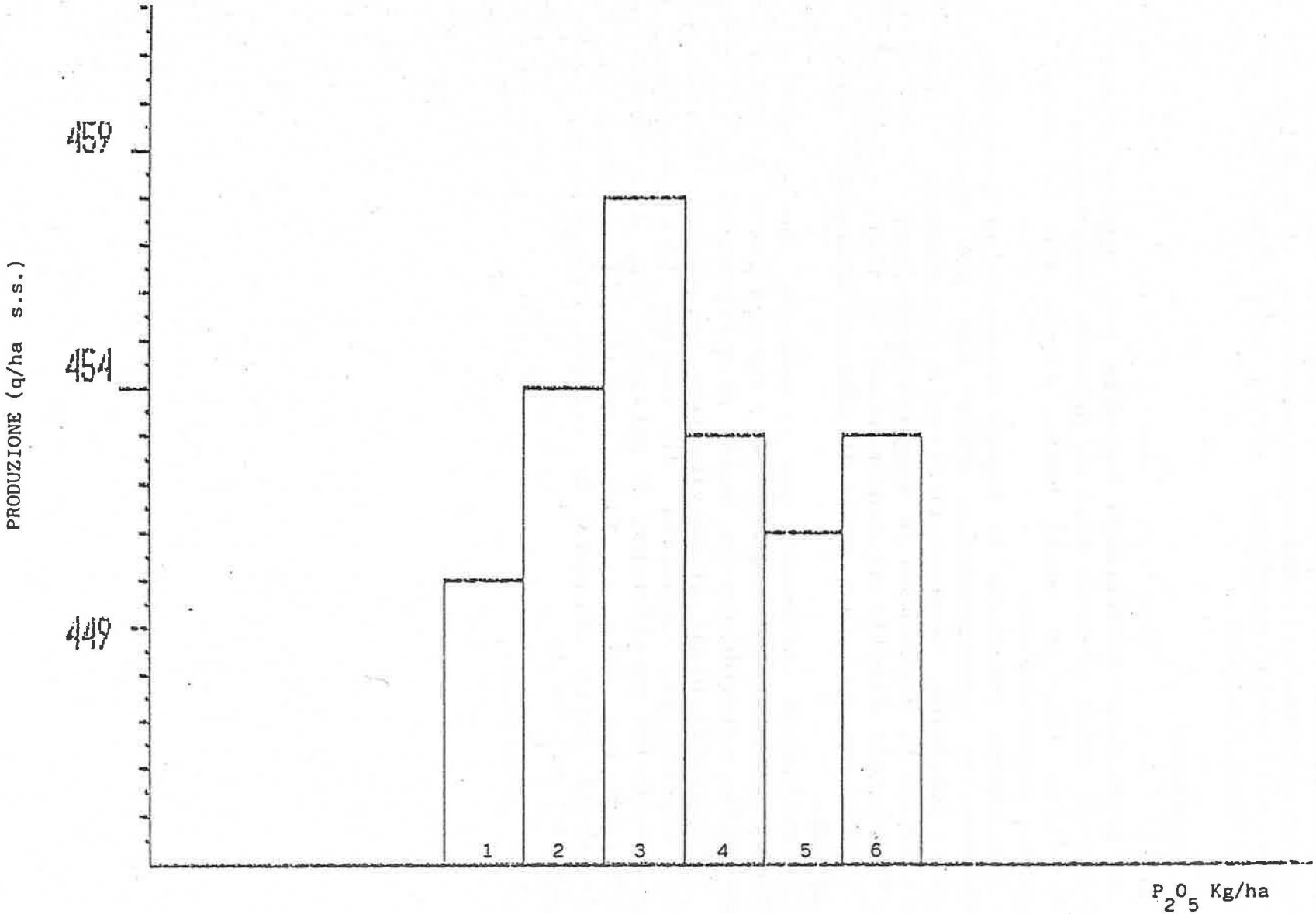


Fig.10 - Medica prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Valori relativi a 14 sfalci. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

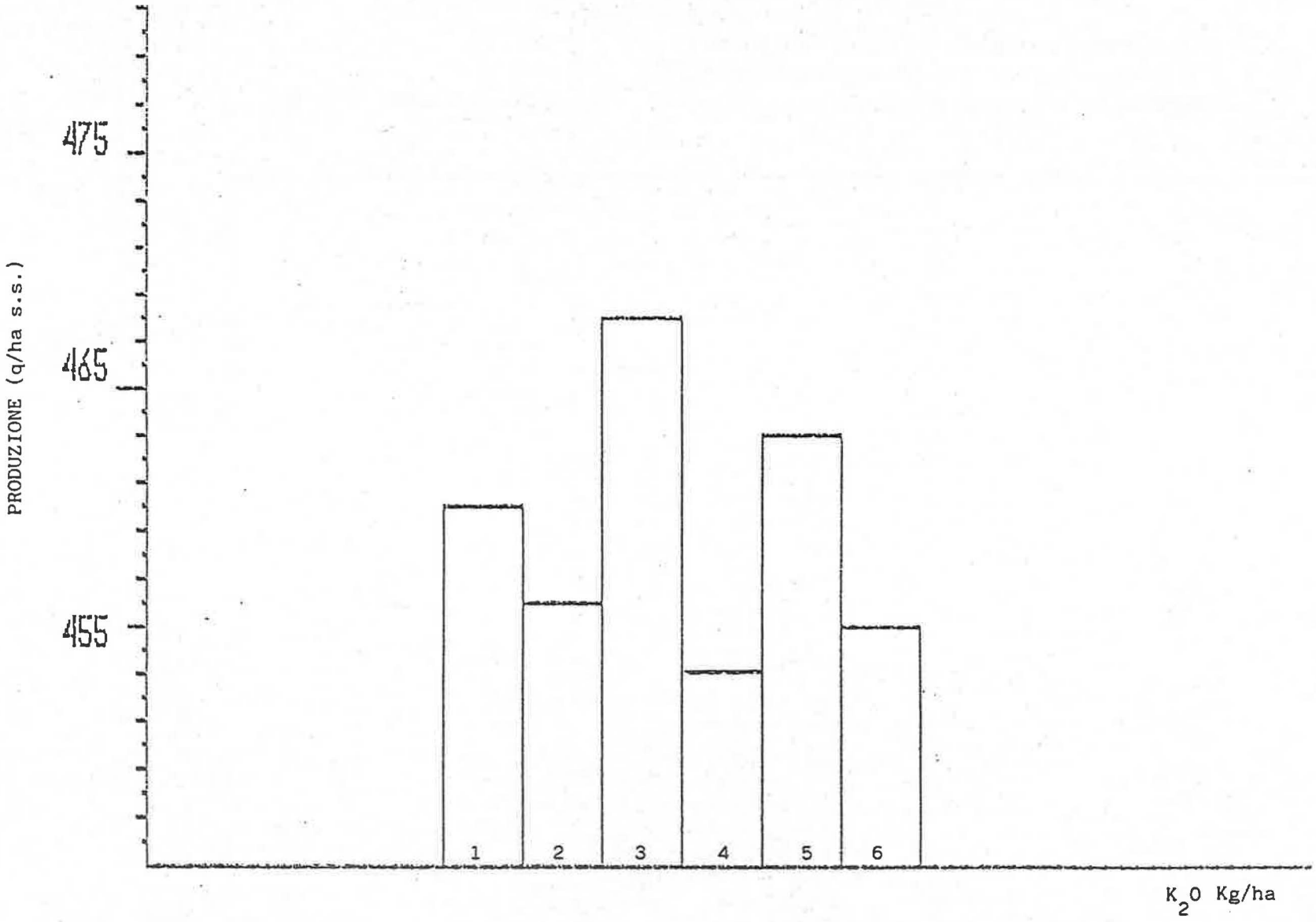


Fig.11 - Medica prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Valori relativi a 14 sfalci. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

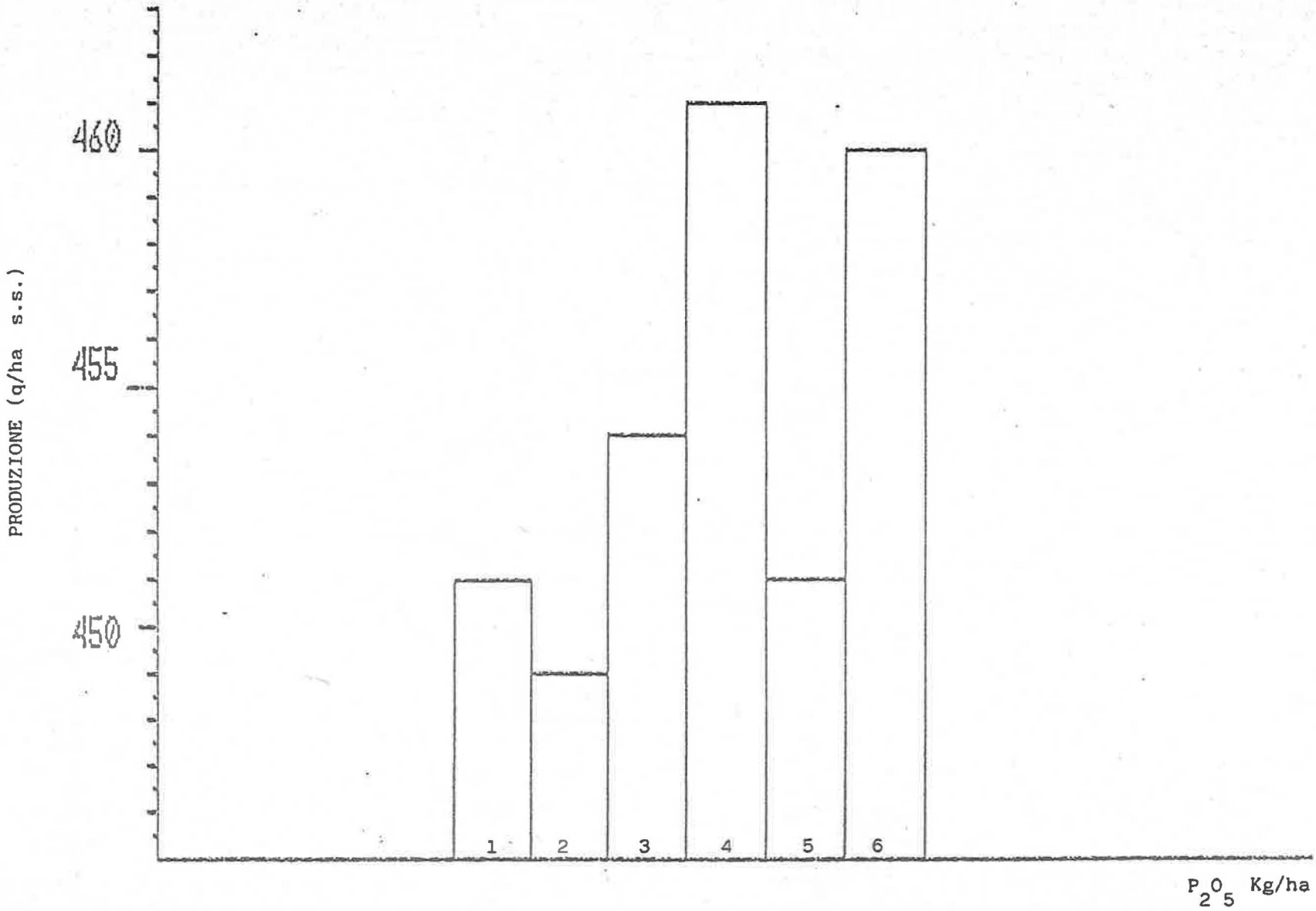


Fig.12 - Festuca prova fosforo. Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Valori relativi a 13 sfalci. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

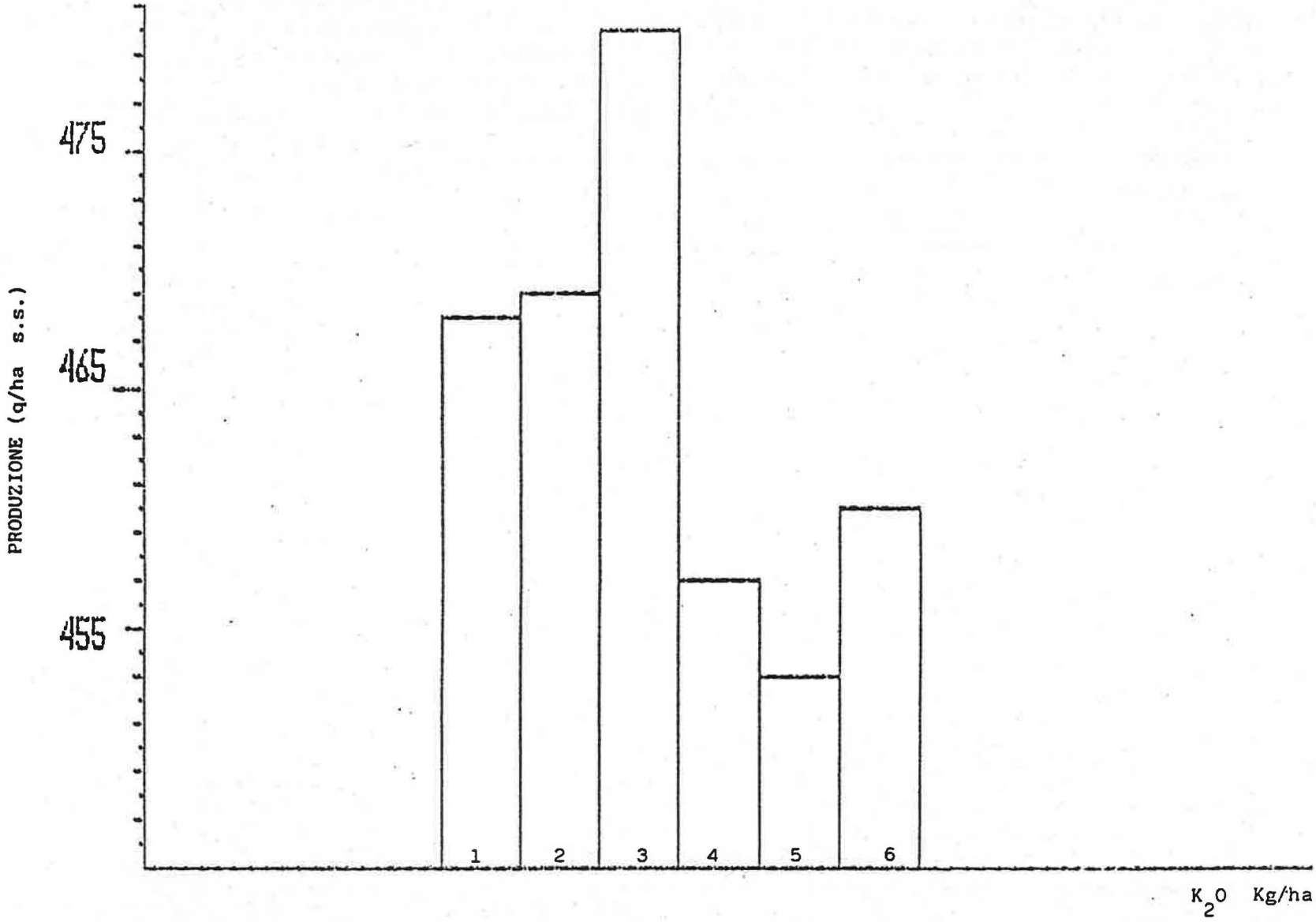


Fig.13 - Festuca prova potassio. Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Valori relativi a 13 sfalci. I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

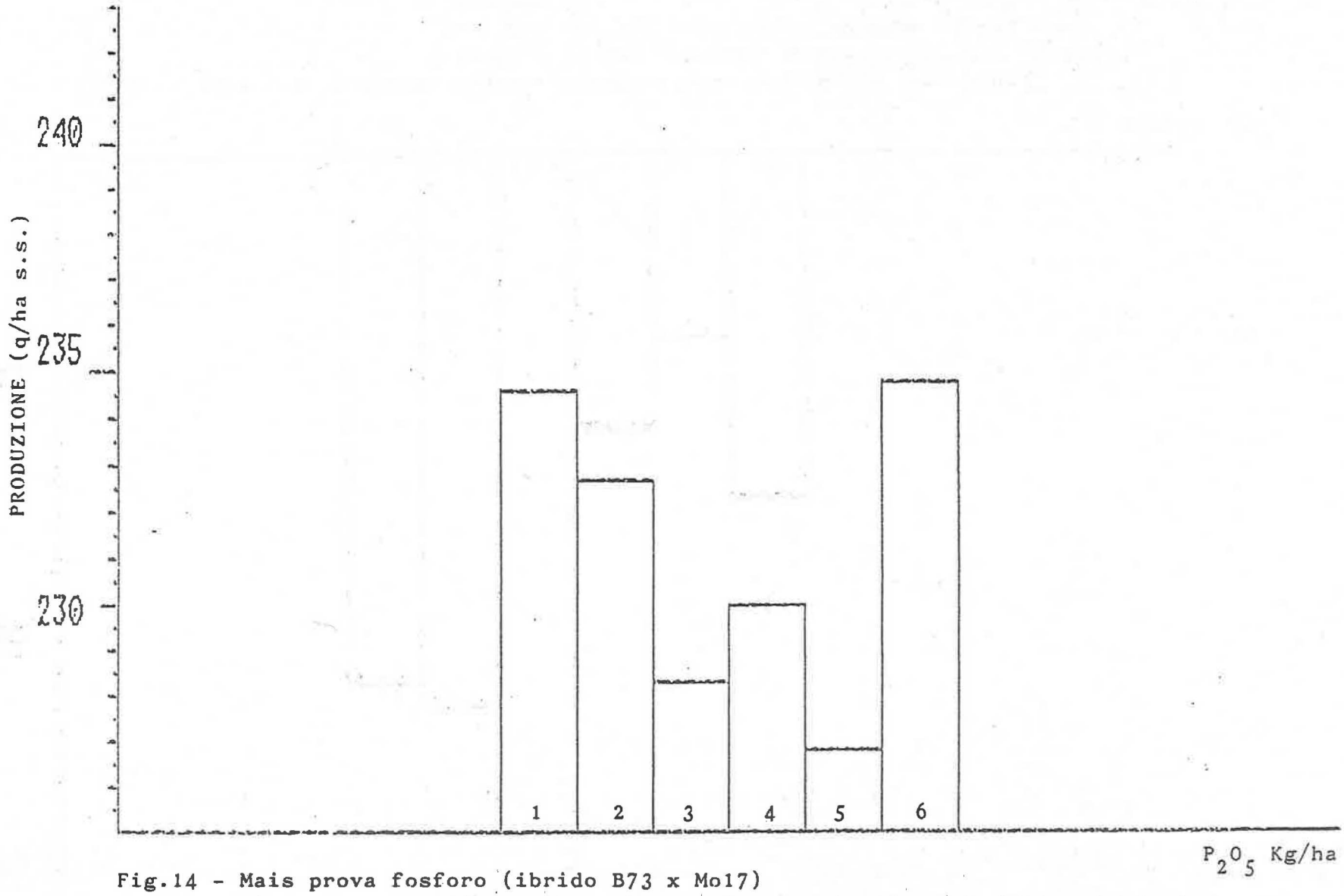


Fig.14 - Mais prova fosforo (ibrido B73 x Mo17)
Risposte produttive della coltura alla concimazione fosfatica in dosi crescenti. Valori medi relativi al quinquennio di prova.
I numeri alla base delle colenne indicano i livelli di concimazione.

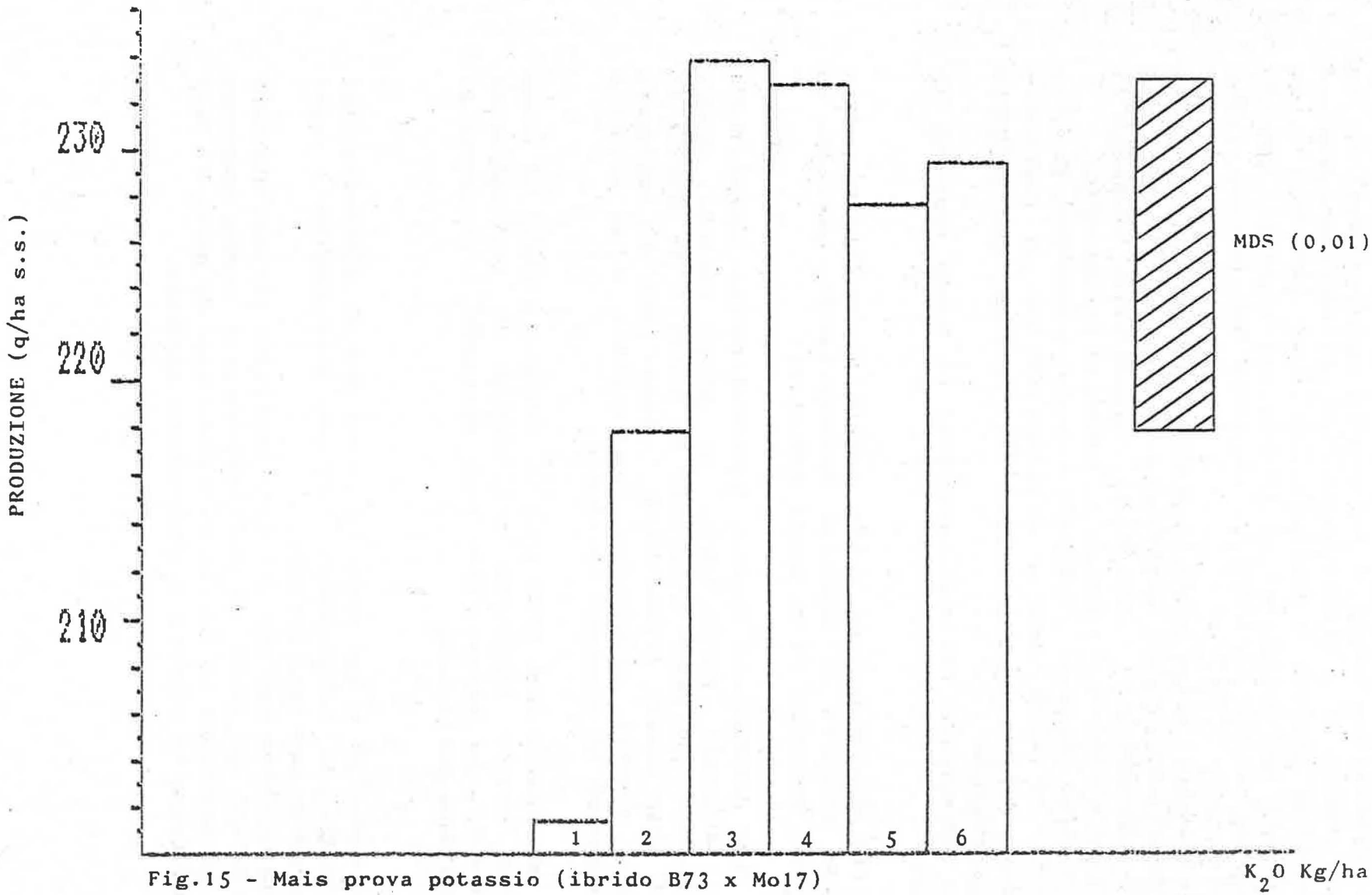


Fig.15 - Mais prova potassio (ibrido B73 x Mo17)
Risposte produttive della coltura alla concimazione potassica in dosi crescenti. Valori medi relativi al quinquennio di prova.
I numeri alla base delle colonne indicano i livelli di concimazione.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'impostazione degli esperimenti, caratterizzati da un elevato numero di prelievi parcellari di terreno (campione composto da quattro trivellate per ogni parcella) e da altrettante determinazioni analitiche sui vegetali, avrebbe dovuto consentire un bilancio corretto del fosforo e del potassio.

In realtà allo stato attuale questo non è stato possibile realizzarlo, utilizzando solamente i valori del fosforo assimilabile e del potassio scambiabile, in quanto il dinamismo del suolo è tale da interferire pesantemente.

Ci siamo proposti pertanto, avendo conservato tutti i campioni, di analizzare le diverse frazioni di fosforo e potassio del terreno al fine di fornire una corretta interpretazione.

Le esperienze fin qui condotte, ci hanno convinto in sintesi:

- che la determinazione delle soglie di sufficienza deve essere eseguita su pedotipi caratteristici, partendo da modeste dotazioni di elementi nutritivi;

- che per determinate specie, particolarmente suscettibili agli attacchi parassitari, le prove possono essere realizzate con minor dispendio di forze e di denaro in vasi o in vasche lisimetriche, avendo cura di impiegare sempre profili pedologici ben evoluti e a quantità decrescente di elementi nutritivi;

- che per specie come erba medica, festuca o soia, le prove devono essere impostate nell'ambito di avvicendamenti colturali, pur sapendo che, così operando, le risposte si hanno dopo molti anni.

Un avvio su larga scala di prove per la determinazione delle soglie di sufficienza, richiede attrezzature e costi di esercizio non indifferenti.

Una corretta lettura del dato analitico per una migliore impostazione dei piani di concimazione, ci sembra comunque debba giustificare un lavoro di questo tipo da parte di Enti intermedi tra la ricerca e l'operatore agricolo.

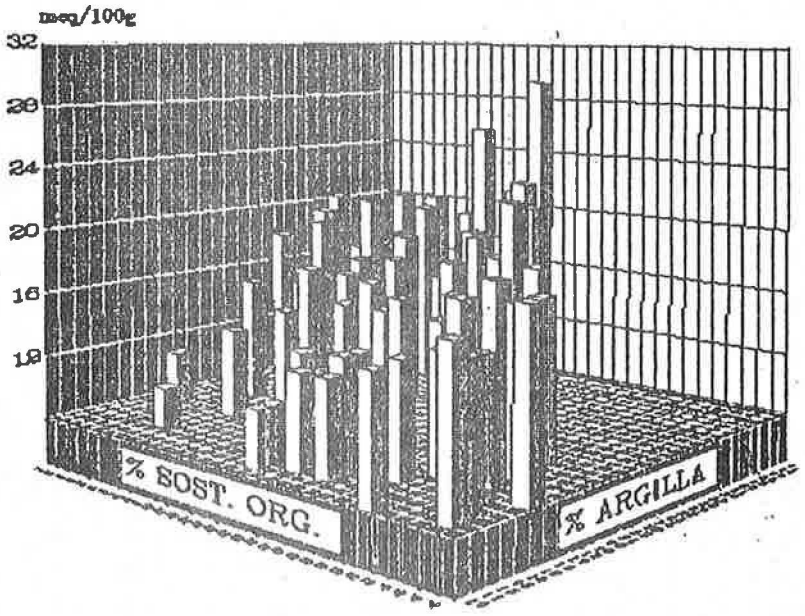
SESSIONE POSTERS

Verona 1988

CONVEGNO - GIORNATE DI STUDIO SULL'ANALISI DEL SUOLO
VERONA, 19-21 SETTEMBRE 1988

DETERMINAZIONE DELLA CAPACITA' DI SCAMBIO CATIONICO MEDIANTE FORMULA DI REGRESSIONE LINEARE MULTIPLA SU "ALFISUOLI" DELL' AREA MORENICA MANTOVANA

a cura di:
DUGONI Francesco (tecn. Istituto Superiore Lattiero Caseario - Mantova)



ISTITUTO SUPERIORE LATTIERO CASEARIO - MANTOVA
E.R.S.A.L. - PROGETTO "CARTA PEDOLOGICA"

Convegno - GIORNATE DI STUDIO SULL'ANALISI DEL SUOLO
VERONA, 19-21 SETTEMBRE 1988

INTRODUZIONE

Come noto, la Capacita' di Scambio Cationico (C.S.C.) di un suolo e'strettamente determinata dalla presenza quali e quantitativa di argilla e sostanza organica. Partendo da queste considerazioni diversi Autori hanno stimato tale correlazione mediante formule di regressione lineare multipla, in grado pertanto di adattare una serie di dati sperimentali (valori analitici di argilla, sostanza organica e C.S.C.) ad un modello teorico.
Il presente lavoro ha per scopo l'individuazione di una formula di regressione lineare multipla capace di adattare ad un modello teorico i dati analitici di campioni di suolo provenienti dall'area morenica mantovana, raccolti nell'ambito della realizzazione del Progetto E.R.S.A.L. "Carta pedologica" ed appartenenti all'ordine degli Alfisuoli. Quest'ultimi sono stati scelti in quanto:
-) estremamente rappresentativi dell'area in oggetto;
-) essendo decarbonatati gli orizzonti A (A1,A2;Ap) e B (Bt), sui quali e' stata ricercata la formula, la stima della percentuale di argilla (determinazione della "tessitura apparente" - met. alla pipetta) non era "falsata" dalla presenza di calcare.

MATERIALE E METODI

Si sono considerati 74 campioni di suolo appartenenti agli orizzonti A (A1;A2;Ap) e/o B (Bt) di 41 profili campionati nell' area morenica mantovana (v. graf. n.1) comprendente i Comuni di : Castiglione delle Stiviere, Cavriana, Solferino, Monzambano, Ponti s/Mincio e Volta Mantovana per una superficie complessiva pari a 18.393 ha. Per ogni campione si sono considerati i seguenti parametri:

-Argilla (%) - determinazione della "tessitura apparente" - met. alla pipetta
-Sostanza Organica (%) - metodo ossidativo con bicromato di potassio (S.O. = C.O. x 1.72)
-Capacita' di Scambio Cationico (meq/100g) - met.BaCl2+TEA (pH 8.1)

Tutti i suoli considerati appartengono all'ordine degli Alfisuoli e distinti in Calcic, Typic, Ultic Haploxeralfs e Calcic Rhodoxeralfs. Mediante programma "Lotus 1-2-3" si e' proceduto quindi alla determinazione della formula di regressione lineare multipla , secondo il metodo dei minimi quadrati, considerando la C.S.C. in funzione delle percentuali di argilla e sostanza organica.
Successivamente la formula e' stata "collaudata" su 19 campioni di terreno provenienti dal comune di Solferino (v. graf.n.2) e ricadenti in aree classificate pedologicamente come Alfisuoli.

DISCUSSIONE DEI RISULTATI

FORMULA DI REGRESSIONE LINEARE MULTIPLA

I dati utilizzati per il calcolo della formula, secondo il metodo dei minimi quadrati, sono descritti nella tab. 1; in particolare, il grafico n. 3 ne descrive l'andamento . L'elaborazione ha evidenziato la seguente formula di regressione lineare multipla:

C.S.C. = 3.28 + (0.44 x ARGILLA %) + (1.99 x SOST.ORG. %)

Parametri statistici:	errore standard di st. Y	=1.71
	errore standard del I coeff.	=0.03
	errore standard del II coeff.	=0.13
	Coefficiente di determ.(R^2)	=0.83
	Coefficiente di corr.multipla	=0.91

Come e' agevole osservare dai dati sopra indicati, l'Indice di determinazione (R^2), indica che la retta di regressione cosi' calcolata, presenta una buona adattabilita' ai valori osservati. Inoltre e' interessante osservare come la stima degli errori standard dei coefficienti individui nella % di Sostanza Organica la maggior fonte di errore nel computo della C.S.C. Tale errore e'probabilmente legato alle modalita' di determinazione della materia organica (met. Lotti), capace di fornire solo una stima approssimativa di questo parametro.

Tab.1= descrizione dei dati utilizzati per l'individuazione della formula di regressione lineare multipla.

Parametro	N. oss.	Val.min.	Val.Max.	Media	Dev.St.(+/-)
Argilla	74	10	44	22.05	7.7
Sost.Org.	74	0.5	14.7	2.2	1.71
C.S.C.	74	10.5	39.3	17.38	4.06

VERIFICA DELLA FORMULA

Al fine di valutare l'effettiva attendibilita' dell'equazione di cui sopra, si sono considerati 19 campioni di terreno provenienti da aree classificate come "Alfisuoli" nel Comune di Solferino (Sup.=1307 ha; v. graf. n.2). Tutti i campioni sono stati prelevati superficialmente (or. Ap) nell' ambito di un programma di assistrenza tecnica ivi condotto e finalizzato alla formulazione di consigli di concimazione.
In particolare, per ogni campione di suolo si sono considerati i seguenti parametri:
- Argilla (%);
- Sostanza Organica (%);
- C.S.C. (meq/100g);
- Basi di scambio (Ca,Mg,K,Na) - lettura mediante spettrometria di A.A.

Le metodiche di analisi sono le medesime sopra descritte. La tab. n.2 riporta i dati di analisi ed i valori della C.S.C. calcolata secondo la formula di regressione lineare multipla.

Tab.2 = valori di analisi e delle C.S.C. calcolate riferiti ai 19 campioni raccolti nel Comune di Solferino.

N. Campione	Argilla %	Sost.Org. %	C.S.C. (met. BaCl2) meq/100g	C.S.C. (calcolata) meq/100g
1	15	3.4	18.5	16.6
2	13	2.7	15.3	14.4
3	14	2.4	14.3	14.2
4	15	2.9	16.3	15.7
5	12	3.1	14.2	14.7
6	12	2.8	15.8	14.1
7	14	3.0	15.7	15.4
8	13	2.7	14.8	14.4
9	9	2.9	12.9	13.0
10	13	2.6	13.4	14.2
11	10	2.0	11.7	11.7
12	13	3.1	15.6	15.2
13	12	2.4	13.3	13.3
14	11	2.2	12.3	12.5
15	14	3.0	15.0	15.4
16	14	2.6	15.2	14.6
17	17	2.3	16.6	15.3
18	9	2.5	12.7	12.2
19	9	2.4	11.1	12.0
VAL.min	9	2.0	11.1	11.66
VAL.MAX	17	3.4	18.5	16.65
MEDIA	12.58	2.68	14.46	14.16
DEV.ST.(+/)	2.16	0.35	1.81	1.34

Il grafico n.4 visualizza il confronto tra i valori di C.S.C. analizzata e calcolata.
Per valutare se la differenza media tra le coppie di valori di C.S.C. fosse significativamente nulla e' stato effettuato il "test T per campioni appaiati". Dall'analisi e' risultato che per P=0.95 e per 18 gradi di liberta' i valori di C.S.C. analizzata e calcolata non differiscono in modo statisticamente significativo.
Pur non raggiungendo le medesime conclusioni per P=0.05 e P=0.01 ci sembra tuttavia una risposta sufficientemente efficace per alcune possibili applicazioni. Infatti, considerando le valutazioni delle disponibilita' in elementi nutritivi secondo i criteri suggeriti dalla S.I.S.S. (v. S.I S.S. - METODI NORMALIZZATI DI ANALISI DEL SUOLO; Edagricole 1985), ed in particolare il contenuto in potassio e magnesio scambiabili, espressi come rapporto per cento della C.S.C., e' interressante osservare (v. tab. 3 e 4 e grafici nn. 5 e 6) i rapporti "K sc./ CSC analizzata" confrontati con "K sc./CSC calcolata", nonche' "Mg sc./CSC analizzata" contro "Mg sc./CSC calcolata".

Tab.3= confronto rapporti percentuali "K sc./CSC analizzata" - "K sc./CSC calcolata" e "Mg sc./CSC analizzata" - "Mg sc./CSC calcolata" .

N.Camp.	K sc. (*)	K sc./ CSC A. %	K sc / CSC C. %	Mg sc. (*)	Mg sc./ CSC A. %	Mg sc./ CSC C. %
1	0.49	2.6	2.9	2.46	13.3	14.8
2	0.67	4.4	4.7	1.60	10.5	11.1
3	0.92	6.4	6.5	1.59	11.1	11.2
4	0.45	2.8	2.9	1.94	11.9	12.4
5	0.78	5.5	5.3	1.19	8.4	8.1
6	0.28	1.8	2.0	1.76	11.1	12.5
7	0.43	2.7	2.8	1.63	10.4	10.6
8	0.37	2.5	2.6	1.84	12.4	12.8
9	0.44	3.4	3.4	1.45	11.2	11.1
10	0.66	4.9	4.7	1.86	13.9	13.1
11	0.20	1.7	1.7	1.49	12.7	12.8
12	0.40	2.6	2.6	1.95	12.5	12.9
13	0.20	1.5	1.5	1.83	13.8	13.7
14	0.45	3.7	3.6	1.55	12.6	12.4
15	0.57	3.8	3.7	1.95	13.0	12.7
16	0.59	3.9	4.0	1.93	12.7	13.2
17	0.40	2.4	2.6	1.76	10.6	11.5
18	0.43	3.4	3.5	1.59	12.5	13.0
19	0.28	2.5	2.3	1.23	11.1	10.2

(*)= in meq/100g CSC A.=CSC Analizzata CSC C.=CSC Calcolata

Tab.4= Valutazione delle disponibilita' in potassio e magnesio scambiabili espressi come per cento della CSC (S.I.S.S. 1985)

CLASSE	K (%CSC)	MG (%CSC)
BASSO	< 2	< 3
NORMALE	2 - 5	3 - 10
ELEVATO	> 5	> 10

Dal confronto dei rapporti percentuali della tab. 3 emerge chiaramente come entrambi i valori di C.S.C. portino alle medesime conclusioni in merito alle dotazioni potassiche e magnesiache. Solo il campione n.6 sembrerebbe indicare una differente valutazione del potassio scambiabile. Tuttavia, essendo le due stime (rispettivamente 1.8 e 2 %) al limite con le classi Basso e Medio, ne discende che il consiglio di concimazione sara' in pratica il medesimo, suggerendo, nel caso specifico, l'opportunita' di effettuare una concimazione di "arricchimento".

CONCLUSIONI

Il presente lavoro, da un punto di vista eminentemente pratico-operativo, puo' rivelarsi utile per almeno due finalita': controllo qualitativo analisi di laboratorio e valutazione disponibilita' in elementi nutritivi.

CONTROLLO QUALITATIVO ANALISI

Poiche' la C.S.C. di un suolo e' funzione del suo contenuto di Argilla e Sostanza Organica, ne discende che i dati analitici di questi tre paramentri devono essere apprezzabilmente correlati tra loro e fornire pertanto indici di regressione sufficientemente esplicativi del fenomeno. In caso contrario, sara' opportuno rivedere le procedure analitiche; in particolare la stima dell' "errore standard" potra' indirizzare sulla scelta del paramentro che maggiormente e' fonte di errore.

VALUTAZIONE ELEMENTI NUTRITIVI

Poiche' la disponibilita' di elementi nutritivi e' strettamente correlata alle caratteristiche fisiche,chimiche e biologiche del suolo, occorre che essi siano considerati non isolatamente, ma nel contesto della fisionomia costitutiva del suolo, espressa fondamentalmente dalla tessitura, dalla reazione e dalla C.S.C. Ritenendo tuttavia troppo oneroso per un laboratorio applicare di routine l'analisi della C.S.C., si suggerisce il presente schema operativo:

1) Individuazione di una formula di regressione lineare multipla che fornisca, con sufficiente approssimazione, la stima della C.S.C. per dati suoli in un dato ambiente . Si rivela pertanto di estrema importanza ed utilita' un rilevamento sistematico dei suoli (es.=E.R.S.A.L. - "Progetto Carta Pedologica").
2) Determinazioni di routine delle basi di scambio, della tessitura (% di argilla in particolare) e Sostanza Organica su campioni di suolo provenienti dalla medesima area oggetto dell'elaborazione di cui sopra (o simile...) e finalizzati a progetti di assistenza tecnica.
3) Calcolo della C.S.C. teorica [C.S.C.= (a x Arg. %) + (b x S.O. %) + c] per ogni suolo campionato.
4) Rapporto per cento "elemento scamb./ C.S.C. calcolata" e relativa valutazione .
5) In attesa di tarare localmente le "soglie di sufficienza" per i vari elementi nutritivi e per le varie colture, si possono considerare valide le soglie indicate da "S.I.S.S. - METODI NORMALIZZATI DI ANALISI DEL SUOLO - Edagricole 1985".

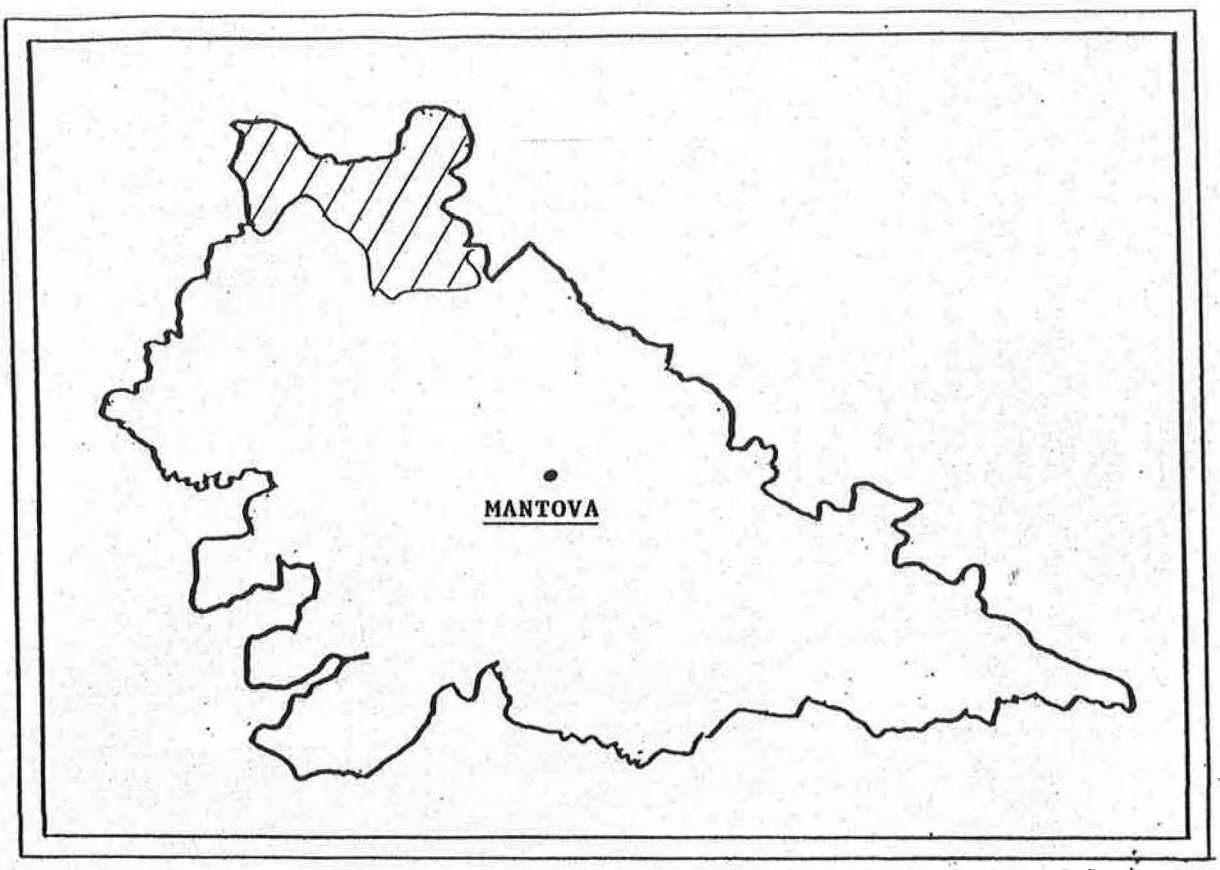
% % %

BIBLIOGRAFIA

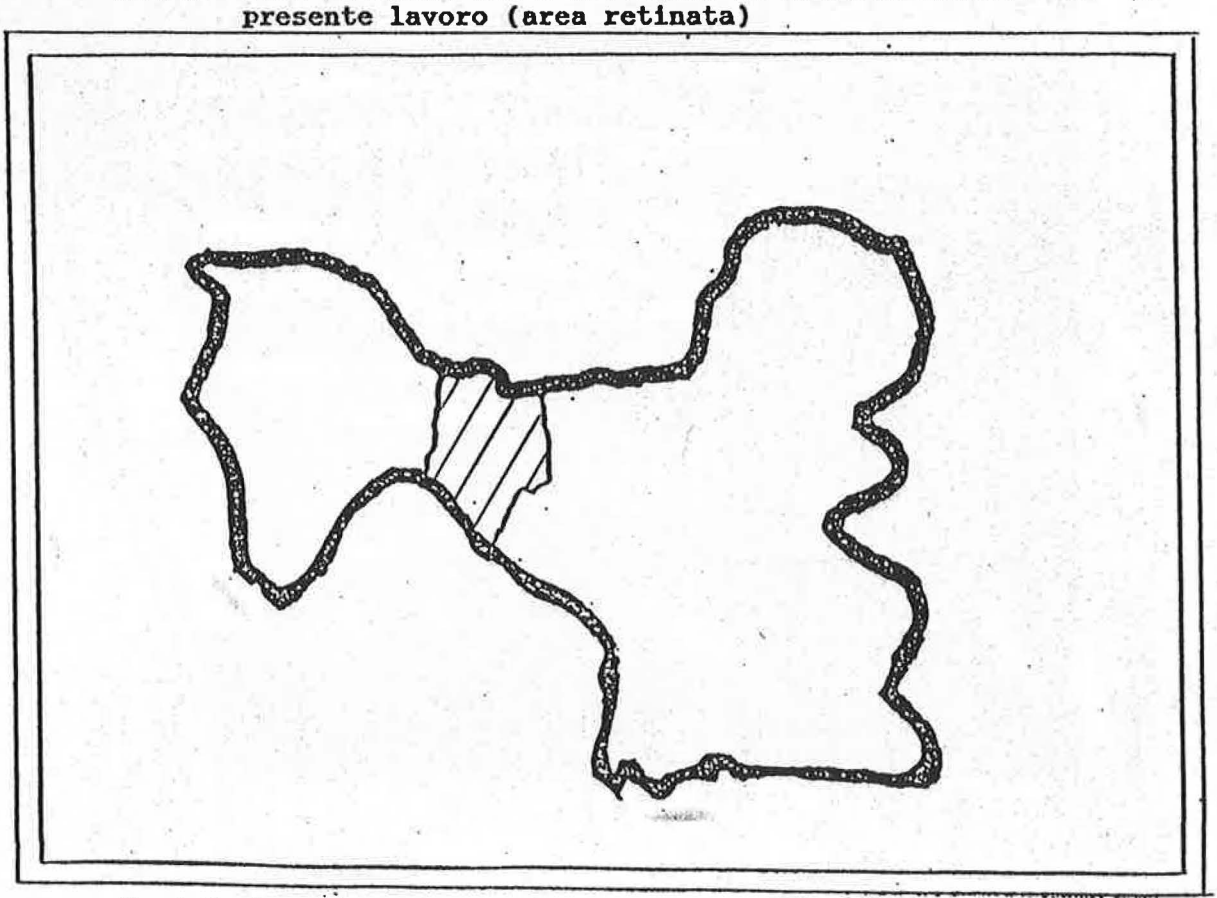
S.I.S.S. - METODI NORMALIZZATI DI ANALISI DEL SUOLO
Edagricole 1985

R.E. PARKER - INTRODUZIONE ALLA STATISTICA PER LA BIOLOGIA
Edagricole 1984

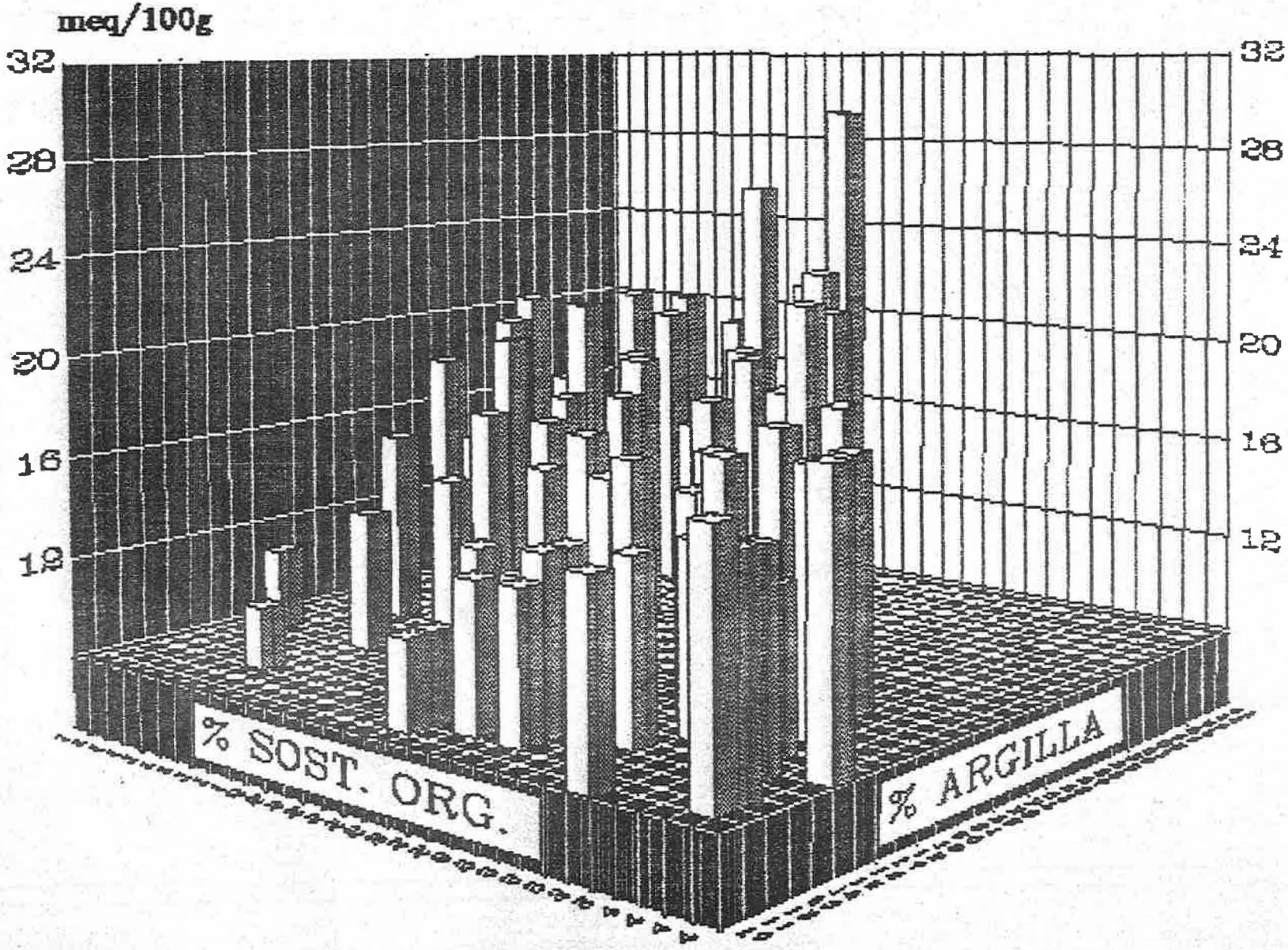
AA.VV. - CARTA PEDOLOGICA DEI COMUNI DI :CASTIGLIONE DELLE STIVIERE, CAVRIANA, MONZAMBANO, PONTI S/MINCIO, SOLFERINO, VOLTA MANTOVANA
In fase di pubblicazione.



Graf.1= Zona morenica della Provincia Di Mantova oggetto del presente lavoro (area retinata)

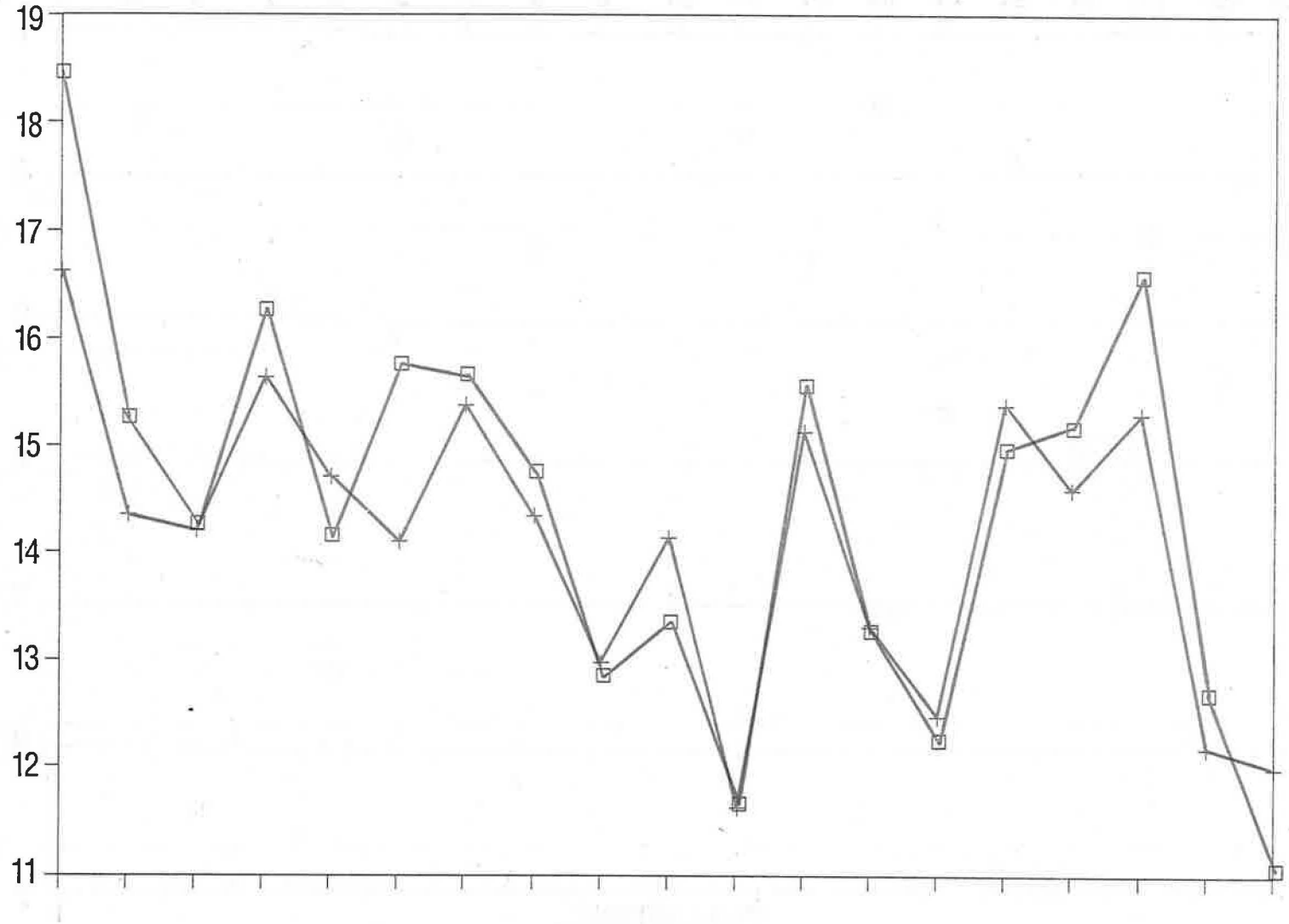


Graf.2= Localizzazione del Comune di Solferino all'interno della zona morenica considerata (area retinata)

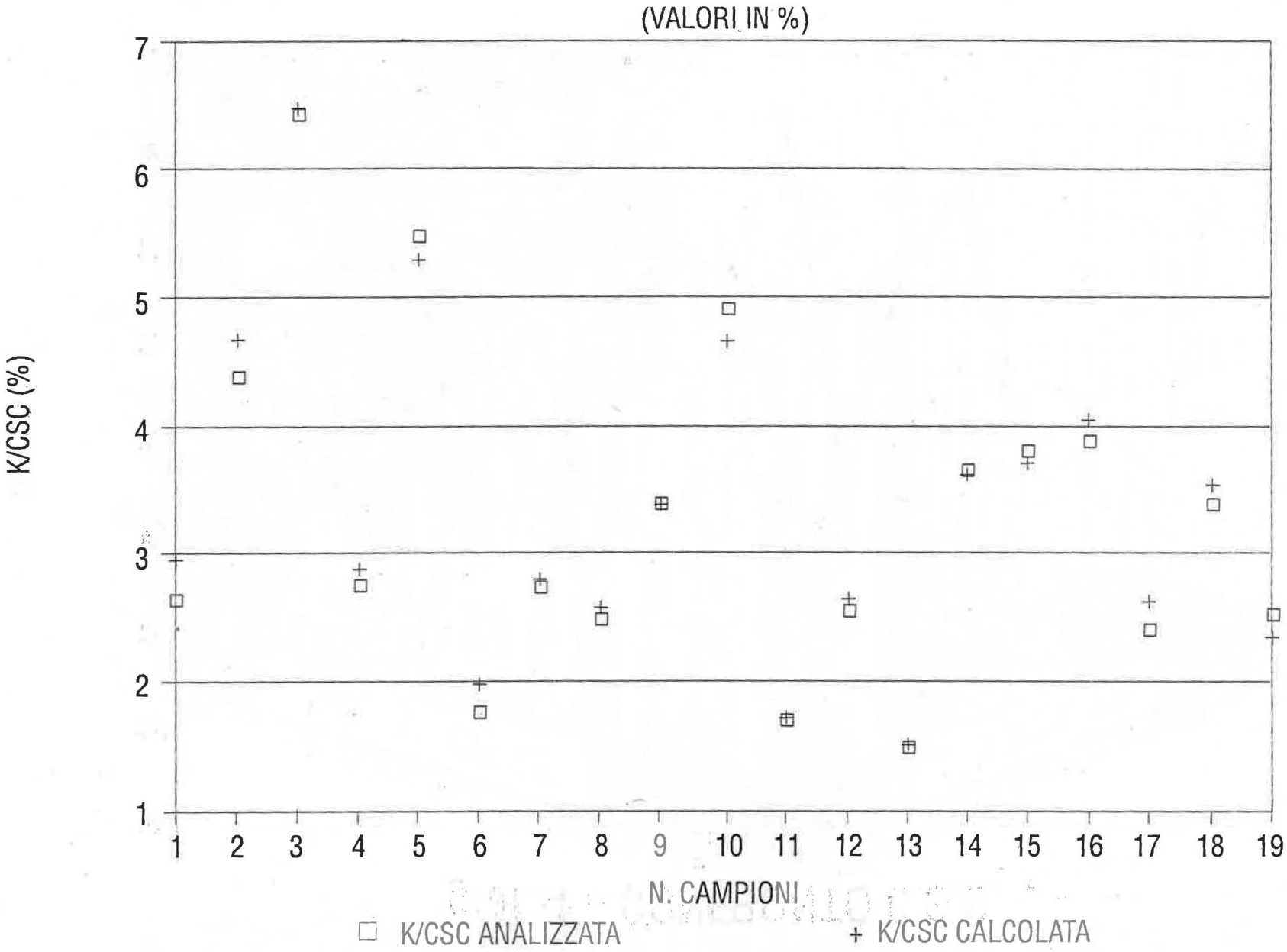


graf.3= CORRELAZIONE ARGILLA, SOST. ORG./ C.S.C.

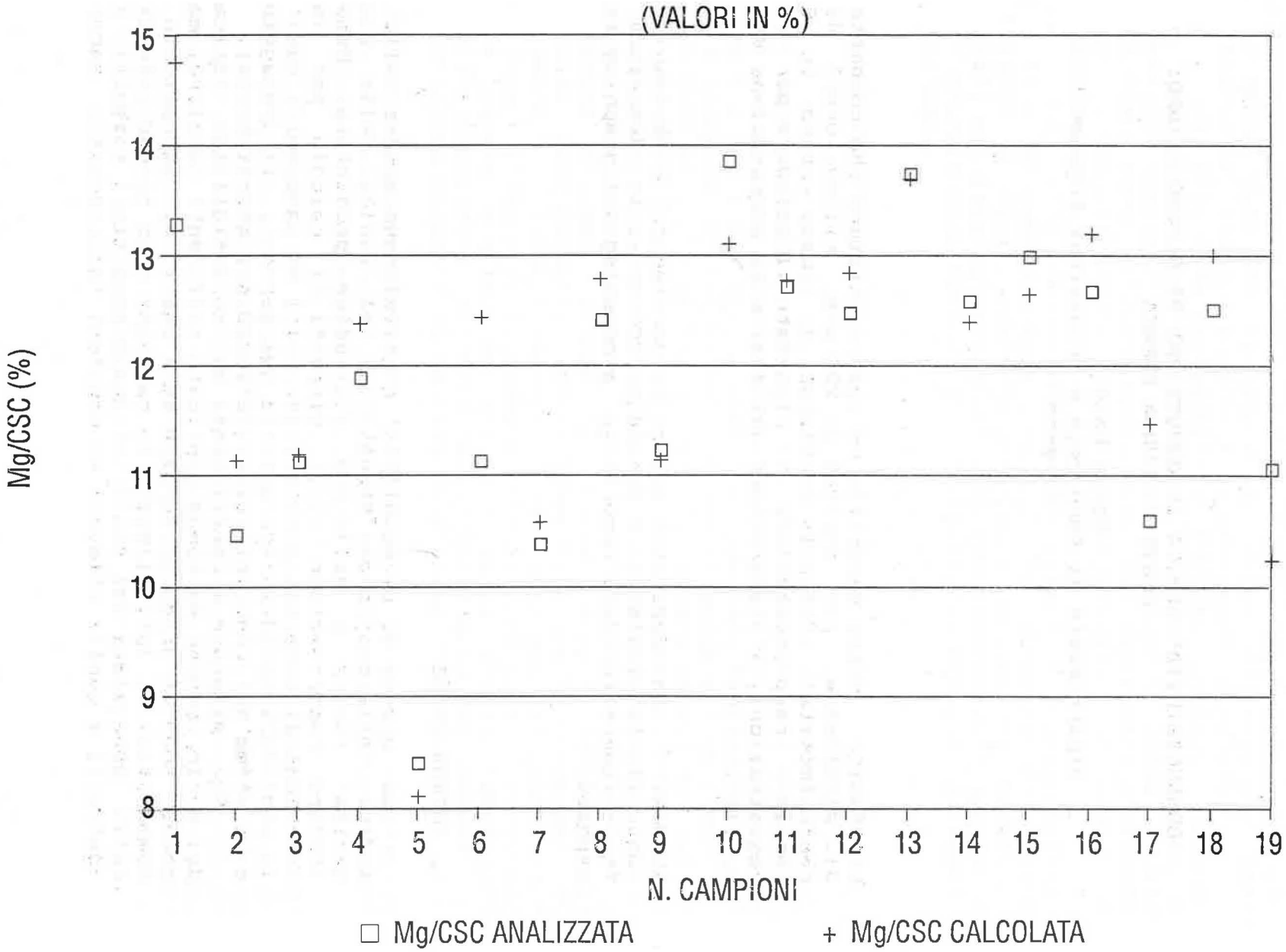
graf. 4 = CONFRONTO C.S.C.



graf. 5 = CONFRONTO VALUTAZIONI K/CSC



graf. 6 = CONFRONTO VALUTAZIONI Mg/CSC



Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

CONDUCIBILITA' IDRICA IN CONDIZIONI DI FLUSSO SATURO: PROVE DI LUNGA DURATA

Renzo Landi
Dipartimento di Agronomia e Produzioni Erbacee
Firenze

RIASSUNTO: Viene descritta un'apparecchiatura che consente di effettuare, per periodi di 200 ore, rilievi orari di conducibilita' idrica in condizioni di flusso saturo su 8 campioni rappresentativi. E' riportato il software per le registrazioni, l'elaborazione dei dati e la preparazione dei grafici.

SUMMARY: An apparatus suited to carried out 8 hydraulic conductivity tests for a period of 200 hours is described. The software for data recording, processing and graphing is exposed.

1. INTRODUZIONE

Le misure di permeabilita' costituiscono sempre validi indici delle condizioni strutturali del suolo, della sua sanita' fisica e della sua attitudine produttiva. Esse inoltre rappresentano utili elementi di calcolo per la soluzione di numerosi problemi idraulici ed agronomici quali la sistemazione idraulico-agraria dei terreni, il drenaggio e la stima dei coefficienti di deflusso dei grandi bacini.

Per misurare i coefficienti di conducibilita' idrica del suolo vengono da tempo applicate differenti tecniche, ma poche sono in grado di fornire dati esatti e, soprattutto, comparativi. I dati rilevati in campagna sono spesso falsati dalle condizioni del punto nel quale sono stati eseguiti i controlli e quelli rilevati su campioni indisturbati, ancor

piu' legati alla rappresentativita' di un ristretto punto di prelievo, sono anche condizionati dalla presenza di piccole fessure o residui vegetali. La validita' di tutti i dati e' infine limitata dalla durata dell'analisi e dalle condizioni di umidita' del terreno al momento della prova. Il rigonfiamento colloidale, infatti, riduce progressivamente il diametro dei pori e quindi la conducibilita' idrica del terreno. Questa, dopo un certo tempo, raggiunge valori che sarebbe opportuno conoscere per poter dimensionare ogni intervento riferito a periodi di prolungata piovosita'.

Le misure di conducibilita' idrica, inoltre, sono un ottimo indice delle condizioni strutturali del suolo e pertanto quelle rilevate nel corso di prove di lunga durata si dimostrano particolarmente utili per apprezzare l'effetto dei condizionatori durante prolungati periodi di umettamento.

Per eseguire misure del coefficiente di conducibilita' idrica di campioni rappresentativi in condizioni di flusso saturo a carico costante per lunghi periodi di tempo e' stata studiata un'apparecchiatura che ricorre all'impiego di un piccolo calcolatore, di un'interfaccia A/D e di un adatto software.

2. LA STRUMENTAZIONE

L'apparecchio utiizzato per le prove di permeabilita' di lungha durata si compone dei seguenti elementi (fig.1):

a) Un piccolo cassone metallico per la riserva di acqua (cm 30 h x 125 l x 9 p). L'apertura superiore destinata al suo riempimento e' chiusa da un tappo di gomma attraversato da un tubo di vetro di circa 6 mm di diametro la cui estremita' inferiore dista 2-5 cm dal fondo. L'altezza del tubo, dalla quale dipende il carico idraulico nei bicchieri, puo' essere controllata attraverso una finestra frontale in vetro a tenuta d'acqua. Sempre sul fronte e a poca distanza dal fondo sono saldati, in corrispondenza degli 8 campioni di lavoro, i tubetti metallici ed i sostegni ai quali sono fissati i raccordi di gomma e i tubetti di vetro (provvisti di adatto scarico per eventuali bolle d'aria) destinati all'alimentazione dei bicchieri. Sul fianco del cassone un rubinetto consente lo scarico dell'acqua (fig.2).

b) Un sostegno metallico, provvisto di livella e regolabile in altezza, regge gli 8 imbuti metallici sui quali sono alloggiati i bicchieri di filtrazione.

c) I bicchieri di filtrazione, che sono costituiti da cilindri di plexiglass di 12 cm di altezza e di 52 mm di diametro (40 mm di d. interno), sono marcati nella parte superiore con incisioni anulari distanti tra loro 5 mm onde facilitare la misura del carico idraulico. Il fondo dei bicchieri, sempre di plexiglass, presenta 19 fori equidistanti di 2 mm di diametro ed e' mobile, onde consentire una perfetta pulizia del cilindro.

d) Su una doccia in PVC sono fissate 8 vaschette oscillanti larghe 30 mm, alte 40 mm e lunghe 100 mm (piu' i 5 mm della divisione centrale). Due viti per ogni vaschetta consentono la regolazione dell'acqua che provoca l'oscillazione (10 cm^3). Alla sommita' della vaschetta e' fissato un magnete e sulla doccia, ad analoga altezza, un interruttore reed (fig.3).

e) Per la registrazione dei dati e' utilizzato un computer 'Spectrum +' provvisto dell'interfaccia A/D converter N.E. Lx 746 alla quale sono collegati gli interruttori delle vaschette. Per alimentare l'apparecchio e' stato costruito un alimentatore automatico 'a tampone' onde evitare la perdita dei dati nel caso di eventuali interruzioni nell'erogazione di energia in rete. Al computer e' collegato un piccolo televisore e un registratore.

3. IL CAMPIONE DI LAVORO

La tecnica che si e' dimostrata piu' idonea alla preparazione del campione e' risultata la seguente. Fissato il fondo del cilindro con nastro adesivo, viene dapprima disposto sullo stesso fondo un disco di carta bibula e vengono poi lasciati cadere nel bicchiere, mediante un imbuto tenuto ad un'altezza standard di 10 cm, 50 g di terreno passati al setaccio di 1 o 2 mm. Il terreno e' quindi pareggiato con un'adatta spatola e coperto con altro disco di carta bibula. Il campione viene infine costipato per 30" con un cilindro metallico del peso di 1 Kg. Per evitare la formazione di bolle d'aria il bicchiere viene immerso in acqua per 24-48 ore in modo che l'imbibizione avvenga dal basso verso l'alto.

4. IL SOFTWARE

Lo stesso 'Spectrum +' puo' essere impiegato per l'elaborazione dei dati registrati nel corso della prova e pertanto il software e' rappresentato da 3 programmi, uno per la registrazione dei dati e due per la loro elaborazione. I programmi di elaborazione sono strutturati in modo da consentire anche la stampa dei tabulati e dei grafici mediante interfaccia parallela (tipo ADS) e stampante semigrafica (tipo Mannesman Tally).

a) Il primo programma, chiamato 'PERMOTEST' (Appendice A), consente:
- l'attivazione dell'orologio interno del computer e l'avvio delle registrazioni;
- il conteggio, ora per ora, del numero delle oscillazioni fatte da ogni vaschetta;

ed in qualsiasi momento della prova:
- la registrazione della temperatura dell'acqua;
- la revisione dei rilievi effettuati;

- la trascrizione su nastro di tutte le registrazioni;
- l'inattivazione delle registrazioni sul video.

Il programma, infine, consente la copia di se stesso su altro nastro.

b) il secondo programma, chiamato 'PERMELABO' (Appendice B), permette, una volta trascritti gli estremi della prova (nome, data di inizio, diametro e lunghezza della colonna filtrante, carico idraulico e temperatura standard per la correzione dei coefficienti di conducibilita'):
- di trascrivere, tanto da tastiera quanto da memoria magnetica, i dati edi rilievi e di apportarvi eventuali correzioni;
- di stampare il tabulato dei rilievi orari;
- di calcolare la media dei coefficienti di cunducibilita' in base a qualsiasi intervallo di tempo;
- di calcolare i valori cumulati della permeabilita';
- di calcolare coefficienti medi e valori cumulati medi di piu' campioni;
- ed infine di eseguire la copia di se stesso su altro nastro.

c) Il terzo programma, chiamato 'PERMGRAFO' (Appendice C), dopo aver trascritto i dati e gli estremi della prova, ed aver controllato i dati stessi, esegue i grafici dei coefficienti di conducibilita' e dei valori di permeabilita' cumulata, tanto per campioni singoli o multipli, quanto per differenti intervalli di tempo.

BIBLIOGRAFIA

CAVAZZA L., 1981 - Fisica del terreno agrario. Utet, Torino.

LANDI R., 1970 - Esame critico delle misure di permeabilita' del terreno. Atti Accad. Econ. Agr. dei Georgofili, v. XVI, s. VII.

LANDI R. e BERTONE G., 1970 - Effetti della temperatura dell'acqua sulle misure di permeabilita' dei terreni. Atti Acc. Econ. Agr, dei Georgofili, v. XVII, s. VII.

POLUBARINOVA-KOCHINA P.YA., 1962 - Theory of ground water movement. Princeton Univ. Press.

RICHARDS C.A., 1952 - Report of the Subcommittee on permeability and infiltration. Soil Sci. Soc. Proceedings v.16, 85-88.

---, 1986 - AD converter per Sinclair. Nuova Eletronica, a. 18, n. 107, 60-77.

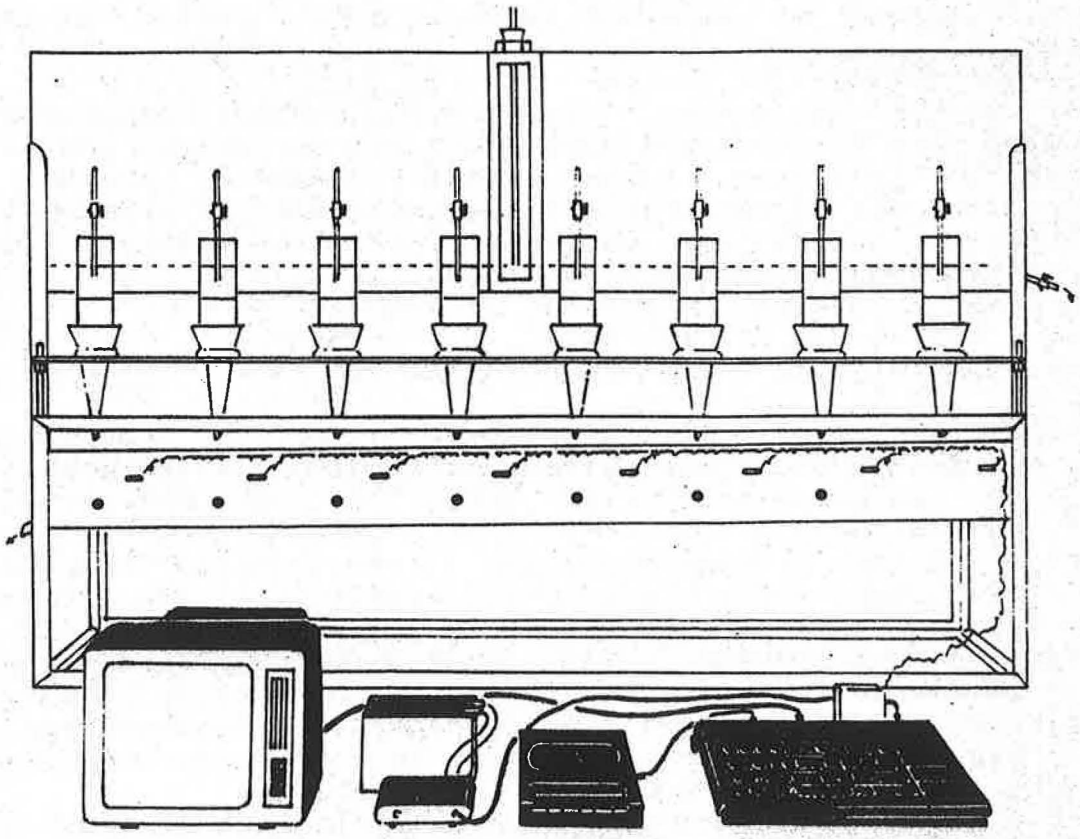


fig. 1

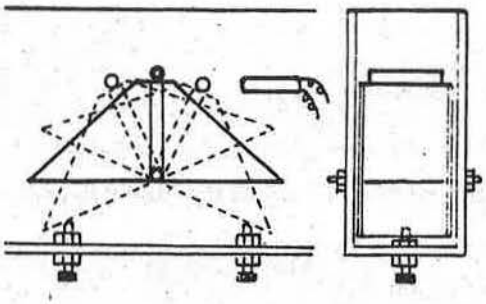


fig. 3

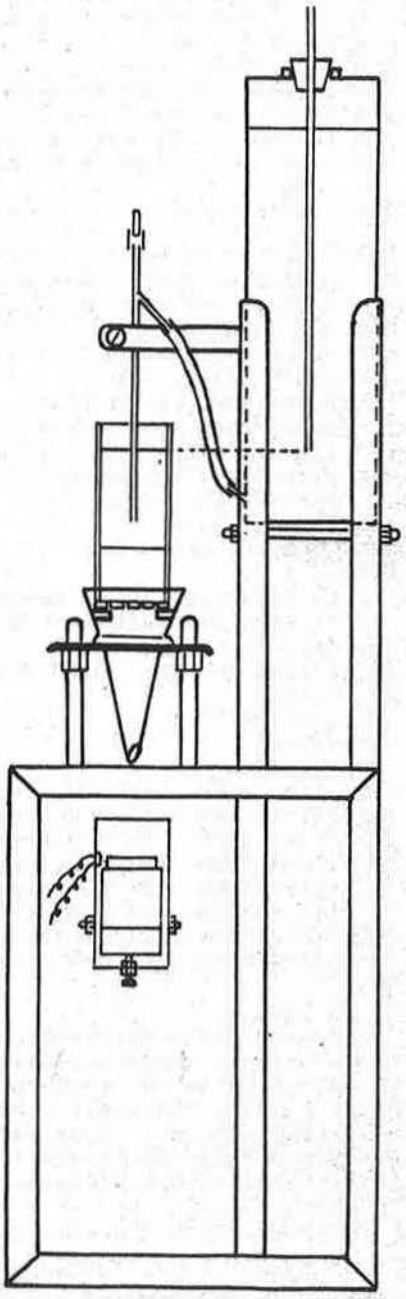


fig. 2

Appendice A

```
 10 REM ************************
 20 REM ***  PERMEABILITA'  ***
 30 REM ***       di        ***
 40 REM ***  Renzo  Landi   ***
 50 REM ************************
 60 DIM B(8): DIM C(8): DIM D(220,9): LET H=0: LET TA=0: LET R$="S"
 70 FOR i=1 TO 8: LET C(i)=9: NEXT i
 80 CLS : PRINT "CONTROLLI DI CONDUCIBILTA'      IDRICA DEL TERRENO": PRINT : P
RINT
 90 PRINT "Per dare inizio alla prova e    mettere in funzione l'orologio prem
ere                                    'T'": PRINT : PRINT
100 INPUT t$: IF t$ <> "T" THEN  GO TO 80
110 POKE 23672,0: POKE 23673,0: POKE 23674,0
120 DIM A(250): LET N=1: LET H=H+1
130 FOR I=1 TO 8
140 OUT (1),I
150 LET E= IN (1)
160 IF E>100 THEN  LET B(I)=3
170 IF E<100 THEN  LET B(I)=9
180 IF B(I)=C(I) THEN  GO TO 230
190 LET C(I)=B(I): LET A(N)=I
200 IF R$="N" THEN  GO TO 220
210 PRINT I;"  ";
220 BEEP 0.2,10: LET N=N+1
230 NEXT I
240 IF  IN 65022=189 THEN  GO TO 420
250 LET T= PEEK 23672+256* PEEK 23673+65536* PEEK 23674
260 LET TT=T+TA
270 IF TT>180000 THEN  GO TO 290
280 GO TO 130
290 LET TA=TT-180000
300 LET N=N-1
310 FOR I=1 TO N
320 IF A(I)=1 THEN  LET D(H,1)=D(H,1)+1
330 IF A(I)=2 THEN  LET D(H,2)=D(H,2)+1
340 IF A(I)=3 THEN  LET D(H,3)=D(H,3)+1
350 IF A(I)=4 THEN  LET D(H,4)=D(H,4)+1
360 IF A(I)=5 THEN  LET D(H,5)=D(H,5)+1
370 IF A(I)=6 THEN  LET D(H,6)=D(H,6)+1
380 IF A(I)=7 THEN  LET D(H,7)=D(H,7)+1
390 IF A(I)=8 THEN  LET D(H,8)=D(H,8)+1
400 NEXT I
410 GO TO 110
420 LET N=N-1: CLS : PRINT "Occorre vedere i rilievi fatti  fino a questo momen
to o regisra-re la temperatura?(s/n).: ";: INPUT k$: PRINT k$
430 IF k$="n" OR k$="N" THEN  GO TO 530
440 PRINT : PRINT "Opzioni:": PRINT "  [1] vedere i rilevi              [2] regi
strare la temperatura": INPUT k$: PRINT k$
450 IF k$="1" THEN  GO TO 470
460 PRINT : PRINT "Quale temperatura?..: ";: INPUT D(H,9): PRINT D(H,9): PRINT
: GO TO 420
470 PRINT : PRINT "Siamo alla ";H;".a ora di prova": PRINT : PRINT "Avanti?": P
AUSE 0
480 CLS : PRINT "ora 1  2  3  4  5  6  7  8  temp"
490 FOR i=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT i: PRINT
500 FOR J=1 TO H
510 PRINT J;: FOR I=1 TO 9: PRINT  TAB ((I*3)+1);D(J,I);: NEXT I: PRINT
520 NEXT J
530 PRINT : PRINT "Opzioni:": PRINT "  [1] - per proseguire             [2] - pe
r copiare i dati su           memoria magnetica        [3] - per chiudere la pr
ova     [4] - per registr. sul video"
540 INPUT Z$
```

```
550 IF Z$="2" THEN  GO TO 640
560 IF Z$="3" THEN  GO TO 720
570 IF Z$="4" THEN  GO TO 610
580 IF Z$="1" THEN  LET N=1
590 IF Z$="1" THEN  GO TO 130
600 GO TO 540
610 PRINT : PRINT "Occorre registrare sul video    le oscillazioni?(S/N)..: ";:
INPUT R$: PRINT R$
620 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
630 GO TO 530
640 CLS : PRINT "Scrivi il nome o numero della   prova (non piu' di 10 lettere)
:": INPUT X$: PRINT X$
650 SAVE X$ DATA D()
660 PRINT : PRINT "Debbo verificare? (s/n)..: ";: INPUT Z$: PRINT Z$
670 IF Z$="N" OR Z$="n" THEN  GO TO 530
680 PRINT : PRINT "Riavvolgi il nastro; inserisci  lo spinotto EAR; e premi PLA
Y"
690 VERIFY X$ DATA D()
700 PRINT " OK! Il file e' verificato": PRINT
710 GO TO 530
720 STOP
5000 REM *SALVATAGGIO DEL FILE*
5010 CLEAR : SAVE "PERMOTEST" LINE 10
5020 PRINT "Debbo verificare?(S/N)..: ";: INPUT B$: PRINT B$
5030 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 5070
5040 CLEAR : PRINT " - Riavvolgi il nastro, quindi   - inserisci lo spinotto EAR
e   - premi PLAY"
5050 VERIFY "PERMOTEST"
5060 PRINT : PRINT "OK! Il file e' verificato"
5070 STOP
```

Appendice B

```
 10 REM ************************
 20 REM ** ELABORAZIONE DATI **
 30 REM **   PERMEABILITA'    **
 40 REM **        DI          **
 50 REM **    RENZO LANDI     **
 60 REM ************************
 70 DIM D(220,9): DIM C(220,8): DIM T(40): LET D(1,9)=0
 80 DATA 0.0421,0.0409,0.0397,0,0385,0.0374,0.0364,0.0354,0.0344,0.0335,0.0326,
0.0318,0.0310
 90 DATA 0.0303,0.0295,0.0288,0.0281,0.0274,0.0268,0.0262,0.0256,0.0250,0.0245,
0.0239,0.0234
100 DATA 0.0229,0.0224,0.0220,0.0216,0.0211,0.0207,0.0203,0.0199,0.0195,0.0191,
0.0188,0.0184
110 FOR I=4 TO 40: READ T(I): NEXT I
120 CLS : PRINT "ELABORAZIONE DATI EMERSI DA     PROVE DI CONDUCIBILITA' IDRICA
 DEL TERRENO": PRINT
130 PRINT "Vuoi salvare questo programma?  (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$: PR
INT
140 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2510
150 PRINT "E' richiesta la stampa?(S/N) :";: INPUT W$: PRINT W$: PRINT
160 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 180
170 LPRINT "ELABORAZIONE DEI DATI EMERSI DA PROVE DI": LPRINT "CONDUCIBILITA' I
DRICA DEL TERRENO": LPRINT : LET K$= CHR$ 137
180 PRINT "Estremi della prova:": PRINT
190 PRINT "Terreno o nome d. prova: ";: INPUT T$: PRINT T$
200 PRINT "Lungh. della colonna mm: ";: INPUT LC: PRINT LC
210 PRINT "Diam. della colonna  mm: ";: INPUT DC: PRINT DC
220 PRINT "Carico idraulico.....mm: ";: INPUT CI: PRINT CI: PRINT
230 PRINT : PRINT "Quale temp. standard?..: ";: INPUT T: PRINT T: PRINT
240 PRINT "Occorre copiare i dati da       memoria magnetica?(S/N)..: ";: INPUT
B$: PRINT B$
250 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 490
260 FOR J=1 TO 8
```

```
 270 CLS : PRINT "Ingresso dati:"
 280 PRINT : PRINT "(indicare il numero delle oscil-lazioni di ogni  vaschetta
per ora - dopo l'ultimo rilievo in- dicare '999' mm)"
 290 LET N=0
 300 PRINT : PRINT "    ";J;".o campione ";: PRINT
 310 LET N=N+1
 320 PRINT N;".a ora:    n.: ";: INPUT D(N,J): PRINT D(N,J)
 330 IF D(N,J)=999 THEN  GO TO 350
 340 GO TO 310
 350 LET D(N,J)=0: LET N=N-1: PRINT : PRINT "Debbo correggere qualche errore?(S/
N)..: ";: INPUT B$: PRINT B$
 360 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 410
 370 PRINT : PRINT "Correzioni:": PRINT "  Quale ora?.....: ";: INPUT oo: PRINT
oo
 380 PRINT "  Quanti mm......: ";: INPUT D(oo,J): PRINT D(oo,J): PRINT
 390 PRINT "Debbo correggere altri dati?    (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
 400 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 370
 410 NEXT J
 420 CLS : PRINT "Sono conosciute le temperature  dell'acqua?(S/N)..: ";: INPUT
B$: PRINT B$
 430 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 520
 440 PRINT : PRINT "Allora le registro!              (dopo l'ultima temp. dare '0
'": PRINT
 450 PRINT : PRINT "  Quale ora?........: ";: INPUT oo: PRINT oo
 460 IF oo=0 THEN  GO TO 520
 470 PRINT "  Quale temperatura?..: ";: INPUT D(oo,9): PRINT D(oo,9): PRINT
 480 GO TO 450
 490 CLS : PRINT "Posiziona il nastro al punto    giusto, inserisci lo spinotto
  EAR  e premi PLAY"
 500 LOAD "" DATA D()
 510 PRINT : PRINT "I dati sono stati copiati;      ferma il registratore": PRIN
T
 520 PRINT : PRINT "Avanti per l'elaborazione?": PAUSE 0
 530 CLS : PRINT  AT 10,11; BRIGHT 1; FLASH 1;"!UN MINUTO!": PRINT "          st
o calcolando"
 540 LET H=0: FOR I=1 TO 200: FOR J=1 TO 8
 550 IF D(I,J) <> 0 THEN  LET HH=I
 560 IF H<HH THEN  LET H=HH
 570 NEXT J: NEXT I
 580 CLS : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
 590 REM ** TABULATO DATI **
 600 CLS : PRINT "Vuoi vedere i rilievi?(S/N): ";: INPUT B$: PRINT B$
 610 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 780
 620 CLS : PRINT "TABULATO DATI:": PRINT
 630 PRINT "ora 1  2  3  4  5  6  7  8  temp"
 640 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
 650 FOR I=1 TO H
 660 PRINT I;: FOR J=1 TO 9: PRINT  TAB ((J*3)+1);D(I,J);: NEXT J: PRINT
 670 NEXT I
 680 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 780
 690 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi dati?      (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
 700 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 780
 710 LPRINT "T A B U L A T O   D A T I :": LPRINT
 720 LPRINT "ora  1   2   3   4   5   6   7   8   temp"
 730 FOR I=1 TO 45: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
 740 OUT 157,27: OUT 157,68: FOR I=1 TO 9: OUT 157,((I*4)+1): NEXT I: OUT 157,0
 750 FOR I=1 TO H
 760 LPRINT I;: FOR J=1 TO 9: LPRINT K$;D(I,J);: NEXT J: LPRINT
 770 NEXT I
 780 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
 790 REM *REGISTRAZIONE DATI*
 800 CLS : PRINT "Debbo copiare i dati su memoria magnetica?(S/N)..: ";: INPUT B
$: PRINT B$
 810 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 900
 820 PRINT : PRINT "Scrivi il nome o numero  della  prova (non piu' di 10 letter
e)": INPUT X$ : PRINT X$
 830 SAVE X$ DATA D()
 840 PRINT : PRINT "Debbo verificare?(S/N)..: ";: INPUT B$: PRINT B$
 850 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 900
 860 PRINT : PRINT "Riavvolgi il nastro,  quindi    inserisci lo spinotto EAR  e
    premi PLAY"
```

```
 870 VERIFY X$ DATA D()
 880 PRINT : PRINT " OK! Il file e' verificato"
 890 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
 900 CLS : PRINT "I calcoli di permeabilita' pos- sono essere svolti per valor
i medi rilevati in intervalli di tempo da definire": PRINT : PRINT "Gli interva
lli saranno di ore.....: ";: INPUT O: PRINT O
 910 PRINT AT 10,11; BRIGHT 1; FLASH 1;"!ATTENDI!": PRINT "      sto ancora cal
colando"
 920 DIM P(220,8): LET N=0: LET Y=0
 930 FOR J=1 TO 8
 940 LET TT=20: LET NN=1: FOR I=1 TO H
 950 LET Y=Y+1
 960 IF D(I,9)=0 THEN GO TO 980
 970 LET TA=D(I,9): IF TA <> TT THEN LET TT=TA
 980 LET Q=D(I,J)*10000: LET KA=(Q*LC)/(((DC/2)^2)* PI *CI): LET K=(KA*T(TT))/T(
T)
 990 LET C((I+1),J)=C(I,J)+K
1000 LET P(NN,J)=P(NN,J)+K: IF Y <= (O-1) THEN GO TO 1030
1010 LET A=NN: IF A>N THEN LET N=A
1020 LET NN=NN+1: LET Y=0
1030 NEXT I: NEXT J
1040 FOR I=1 TO (N-1): FOR J=1 TO 8: LET P(I,J)=P(I,J)/O: NEXT J: NEXT I
1050 LET DF=H-((N-1)*O): IF DF=0 THEN LET DF=1
1060 FOR J=1 TO 8: LET P(N,J)=P(N,J)/DF: NEXT J
1070 REM * TABULATO RISULTATI *
1080 CLS : PRINT "Vuoi vedere il tabulato dei      coefficienti di permeabilita'?
  (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
1090 IF B$="N" OR B$="n" THEN GO TO 1460
1100 CLS : PRINT "TABULATO COEFFICIENTI 'K' (mm/h)": PRINT
1110 PRINT "Medie di ";O;" ore": PRINT
1120 PRINT "Prova...: ";T$: PRINT "  area cilindro..mm^2: ";(DC/2)* PI : PRINT "
  lungh.cilindro...mm: ";LC
1130 PRINT "  carico idraulico mm: ";CI: PRINT "  durata prova......h: ";H: PRIN
T : PRINT
1140 PRINT "ora     1      2      3      4    "
1150 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
1160 FOR I=1 TO N
1170 PRINT (I*O);: FOR J=1 TO 4: LET P$= STR$ P(I,J)+"     ": PRINT  TAB ((J*6)-2
);P$( TO 5);: NEXT J: PRINT
1180 NEXT I
1190 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
1200 CLS : PRINT "TABULATO COEFFICIENTI 'K' (mm/h)": PRINT
1210 PRINT "Medie di ";O;" ore": PRINT
1220 PRINT "ora     5      6      7      8    "
1230 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
1240 FOR I=1 TO N
1250 PRINT (I*O);: FOR J=5 TO 8: LET P$= STR$ P(I,J)+"     ": PRINT  TAB (((J-4)*
6)-2);P$( TO 5);: NEXT J: PRINT
1260 NEXT I
1270 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
1280 IF W$="N" OR W$="n" THEN GO TO 1460
1290 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi coeffic.?  (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
1300 IF B$="N" OR B$="n" THEN GO TO 1460
1310 LPRINT : LPRINT : LPRINT "TABULATO DEI COEFFICIENTI DI CONDUCIBILITA' K (mm
/h)": LPRINT
1320 LPRINT "Medie di ore: ";O: LPRINT
1330 OUT 157,27: OUT 157,68: FOR I=1 TO 8: OUT 157,((I*7)-2): NEXT I: OUT 157,0
1340 LPRINT : LPRINT "Prova...: ";T$: LPRINT "  area cilindro..mm^2: ";(DC/2)* P
I : LPRINT "  lungh.cilindro...mm: ";LC
1350 LPRINT "  carico idraulico mm: ";CI: LPRINT "  durata prova......h: ";H: LP
RINT : LPRINT
1360 LPRINT " ora";: FOR J=1 TO 8: LPRINT K$;J;: NEXT J: LPRINT
1370 FOR I=1 TO 65: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
1380 FOR I=1 TO N
1390 LPRINT " ";(I*O);
1400 FOR J=1 TO 8: IF P(I,J)=0 THEN GO TO 1420
1410 LET P$= STR$ P(I,J)+"     ": GO TO 1430
1420 LET P$="0       "
1430 LPRINT K$;P$( TO 6);: NEXT J: LPRINT
1440 NEXT I
1450 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
```

```
1460 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
1470 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1490
1480 GO TO 900
1490 REM ** VALORI CUMULATI **
1500 CLS : PRINT "Vuoi calcolare i valori cumula- tivi della permeabilita'?(S/N)
  ......: ";: INPUT B$: PRINT B$
1510 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1940
1520 PRINT : PRINT "Debbo calcolare con lo stesso   intervallo di tempo?(S/N): "
;: INPUT B$: PRINT B$
1530 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1550
1540 PRINT : PRINT "Quante ore per il nuovo inter-  vallo?...: ";: INPUT O: PRIN
T O
1550 PRINT : PRINT "Avanti?"; PAUSE 0
1560 CLS : PRINT "VALORI CUMULATI PERMEABILITA'    (mm)": PRINT
1570 PRINT "Prova...: "¦T$: PRINT "  area cilindro..mm^2: "¦(DC/2)* PI : PRINT "
  lungh.cilindro...mm: ";LC
1580 PRINT "  carico idraulico mm: "¦CI: PRINT "  durata prova......h: "¦H
1590 PRINT "  intervallo di ore h: "¦O: PRINT : PRINT
1600 PRINT : PRINT "ora     1      2      3      4     "
1610 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
1620 FOR I=0 TO H STEP O
1630 PRINT I;: FOR J=1 TO 4: LET C$= STR$ C((I-1),J)+"     ": PRINT  TAB ((J*6)-2
)¦C$( TO 5);: NEXT J: PRINT
1640 NEXT I
1650 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
1660 CLS : PRINT "VALORI CUMULATI PERMEABILITA'    (mm)": PRINT
1670 PRINT : PRINT "ora     5      6      7      8     "
1680 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
1690 FOR I=0 TO H STEP O
1700 PRINT I;: FOR J=5 TO 8: LET C$= STR$ C((I-1),J)+"     ": PRINT  TAB (((J-4)*
6)-2)¦C$( TO 5);: NEXT J: PRINT
1710 NEXT I
1720 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
1730 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1460
1740 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi dati?       (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
1750 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1940
1760 LPRINT : LPRINT "TABULATO DELLA PERMEABILITA' CUMULATA (mm)": LPRINT
1770 OUT 157,27: OUT 157,68: FOR I=1 TO 8: OUT 157,((I*7)-2): NEXT I: OUT 157,0
1780 LPRINT : LPRINT "Prova...: "¦T$: LPRINT "  area cilindro..mm^2: "¦(DC/2)* P
I : LPRINT "  lungh.cilindro...mm: "¦LC
1790 LPRINT "  carico idraulico mm: "¦CI: LPRINT "  durata prova......h: "¦H
1800 LPRINT "  intervallo di ore h: "¦O: LPRINT : LPRINT
1810 LPRINT " ora"¦: FOR J=1 TO 8: LPRINT K$¦J¦: NEXT J: LPRINT
1820 FOR I=1 TO 65: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
1830 FOR I=0 TO H STEP O
1840 LPRINT " ";I¦
1850 FOR J=1 TO 8: IF C((I-1),J)=0 THEN  GO TO 1870
1860 LET C$= STR$ C((I-1),J)+"     ": GO TO 1880
1870 LET C$="0      "
1880 LPRINT K$¦C$( TO 6)¦: NEXT J: LPRINT
1890 NEXT I
1900 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
1910 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
1920 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1940
1930 GO TO 1540
1940 REM *MEDIE TRA CAMPIONI*
1950 CLS : PRINT "Vuoi calcolare i valori medi di piu' campioni?(S/N)..: ";: INP
UT B$: PRINT B$
1960 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2490
1970 DIM L(8): PRINT : PRINT "tra quanti campioni? : ";: INPUT L: PRINT L
1980 PRINT "quali? : ";
1990 FOR I=1 TO L: INPUT NC: PRINT NC¦" ";: LET L(I)=NC: NEXT I: PRINT
2000 PRINT : PRINT "Vuoi vedere i coefficienti di   conducibilita' 'K' ? : ";: I
NPUT B$: PRINT B$
2010 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2240
2020 CLS : PRINT "TABULATO MEDIE DEI COEFFICIENTI 'K'  (mm/h)": PRINT
2030 PRINT "Medie dei campioni :": FOR I=1 TO L: PRINT "  ";L(I)¦: NEXT I: PRINT
2040 PRINT : PRINT " ora     K (mm/h)"
```

```
2050 FOR I=1 TO 25: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
2060 FOR I=1 TO N
2070 LET SS=0: PRINT (I*O);
2080 FOR J=1 TO L: LET SS=SS+P(I,(L(J))): NEXT J
2090 LET P$= STR$ (SS/L)+"     ": PRINT  TAB 9;P$( TO 5)
2100 NEXT I
2110 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 2240
2120 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi coeffic.?  (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
2130 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2240
2140 LPRINT : LPRINT "TABULATO DELLE MEDIE DEI COEFFICIENTI 'K'  (mm/h)": PRINT
2150 LPRINT "Medie dei campioni :";: FOR I=1 TO L: LPRINT "  ";L(I);: NEXT I: LP
RINT
2160 LPRINT : LPRINT " ora    K (mm/h)"
2170 FOR I=1 TO 25: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
2180 OUT 157,27: OUT 157,68: OUT 157,9: OUT 157,0
2190 FOR I=1 TO N
2200 LET SS=0: LPRINT " ";(I*O);
2210 FOR J=1 TO L: LET SS=SS+P(I,(L(J))): NEXT J
2220 LET P$= STR$ (SS/L)+"       ": LPRINT K$;P$( TO 6)
2230 NEXT I
2240 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
2250 PRINT : PRINT "Vuoi vedere i valori cumulati dipermeabilita'; medie dei sud
det-ti campioni ? : ";: INPUT B$: PRINT B$
2260 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2450
2270 CLS : PRINT "TABULATO DELLE MEDIE DI PERMEA- BILITA' CUMULATA (mm)": PRINT
2280 PRINT "Medie dei campioni :": FOR I=1 TO L: PRINT "  ";L(I);: NEXT I: PRINT

2290 PRINT : PRINT " ora     (mm)"
2300 FOR I=1 TO 20: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
2310 FOR I=0 TO H STEP 0
2320 LET SS=0: PRINT I;: FOR J=1 TO L: LET SS=SS+C((I-1),(L(J))): NEXT J: LET C$
= STR$ SS+"     ": PRINT  TAB 9;C$( TO 5)
2330 NEXT I
2340 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 2450
2350 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi dati?      (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
2360 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2450
2370 LPRINT : LPRINT "TABULATO DELLE MEDIE DI PERMEABILITA' CUMULATA (mm)": PRIN
T
2380 LPRINT "Medie dei campioni :";: FOR I=1 TO L: LPRINT "  ";L(I);: NEXT I: LP
RINT
2390 LPRINT : LPRINT " ora      (mm)"
2400 FOR I=1 TO 25: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
2410 OUT 157,27: OUT 157,68: OUT 157,9: OUT 157,0
2420 FOR I=0 TO H STEP 0
2430 LET SS=0: LPRINT I;: FOR J=1 TO L: LET SS=SS+C((I-1),(L(J))): NEXT J: LET C
$= STR$ SS+"       ": LPRINT K$;C$( TO 6)
2440 NEXT I
2450 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
2460 CLS : PRINT "Vuoi calcolare altre medie?(S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
2470 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 2490
2480 GO TO 1970
2490 PRINT : PRINT "Per la rappresentazione grafica dei risultati occorre  caric
are il programma 'PERMOGRAFO'"
2500 STOP
2510 REM *SALVATAGGIO DEL FILE*
2520 CLEAR : SAVE "PERMELABO" LINE 70
2530 PRINT "Debbo verificare?(S/N)..: ";: INPUT x$: PRINT x$: PRINT
2540 IF x$="N" OR x$="n" THEN  GO TO 2510
2550 CLEAR : PRINT "Riavvolgi il nastro al punto    giusto, inserisci lo spinott
o   EAR  e premi PLAY"
2560 VERIFY "PERMELABO"
2570 PRINT : PRINT "OK! Il programma e' verificato."
2580 STOP
```

Appendice C

```
 10 REM **********************
 20 REM ** ELABORAZIONE DATI **
 30 REM **   PERMEABILITA'    **
 40 REM **      GRAFICA       **
 50 REM **         DI         **
 60 REM **    RENZO LANDI     **
 70 REM **********************
 80 DIM D(220,9): DIM C(220,8): DIM L(8): DIM T(40): LET D(1,9)=0: LET O=0: LET
 U$="5"
 90 DATA 0.0434,0.0421,0.0409,0.0397,0.0385,0.0374,0.0364,0.0354,0.0344,0.0335,
0.0326,0.0318,0.0310
100 DATA 0.0303,0.0295,0.0288,0.0281,0.0274,0.0268,0.0262,0.0256,0.0250,0.0245,
0.0239,0.0234
110 DATA 0.0229,0.0224,0.0220,0.0216,0.0211,0.0207,0.0203,0.0199,0.0195,0.0191,
0.0188,0.0184
120 FOR I=4 TO 40: READ T(I): NEXT I
130 CLS : PRINT "ELABORAZIONE DATI EMERSI DA     PROVE DI CONDUCIBILITA' IDRICA
 DEL TERRENO": PRINT
140 PRINT "Vuoi conservare questo programma(S/N)?...: ";: INPUT B$: PRINT B$: P
RINT
150 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2840
160 PRINT "E' richiesta la stampa?(S/N) :";: INPUT W$: PRINT W$: PRINT
170 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 210
180 PRINT "Come?": PRINT "  [1] in grandezza normale": PRINT "  [2] in grandezz
a doppia ";: INPUT U$: PRINT U$
190 PRINT : PRINT "Scegli la dimensione del graficoindicando l'opzione [ ]": PR
INT
200 LPRINT "ELABORAZIONE GRAFICA DEI DATI   EMERSI DA PROVE DI PERMEABILITA'DEL
 TERRENO": LPRINT : LPRINT
210 PRINT "Estremi della prova:": PRINT
220 PRINT "Data di inizio d. prova: ";: INPUT I$: PRINT I$
230 PRINT "Terreno o nome d. prova: ";: INPUT T$: PRINT T$
240 PRINT "Lungh. della colonna mm: ";: INPUT LC: PRINT LC
250 PRINT "Diam. della colonna  mm: ";: INPUT DC: PRINT DC
260 PRINT "Carico idraulico.....mm: ";: INPUT CI: PRINT CI
270 PRINT : PRINT "Quale temp. standard?..: ";: INPUT T: PRINT T: PRINT
280 PRINT "Debbo copiae i dati da memoria  magnetica?(S/N): ";: INPUT B$: PRINT
 B$
290 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 530
300 FOR J=1 TO 8
310 CLS : PRINT "Ingresso dati:"
320 PRINT : PRINT "(indicare il numero delle oscil-lazioni di ogni  vaschetta
per ora - dopo l'ultimo rilievo in- dicare '999' mm)"
330 LET N=0
340 PRINT : PRINT "    ";J;".o campione ";: PRINT
350 LET N=N+1
360 PRINT N;".a ora:    n.: ";: INPUT D(N,J): PRINT D(N,J)
370 IF D(N,J)=999 THEN  GO TO 390
380 GO TO 350
390 LET D(N,J)=0: LET N=N-1: PRINT : PRINT "Debbo correggere qualche errore?(S/
N)..: ";: INPUT B$: PRINT B$
400 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 450
410 PRINT : PRINT "Correzioni:": PRINT "  Quale ora?.....: ";: INPUT oo: PRINT
oo
420 PRINT "  Quanti mm......: ";: INPUT D(oo,J): PRINT D(oo,J): PRINT
430 PRINT "Debbo correggere altri dati?    (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
440 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 410
450 NEXT J
460 CLS : PRINT "Sono conosciute le temperature  dell'acqua?(S/N)..: ";: INPUT
B$: PRINT B$
470 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 560
480 PRINT : PRINT "Allora le registro!              (dopo l'ultima temp. dare '0
'": PRINT
```

```
490 PRINT : PRINT "  Quale ora?........: ";: INPUT oo: PRINT oo
500 IF oo=0 THEN  GO TO 560
510 PRINT "  Quale temperatura?..: ";: INPUT D(oo,9): PRINT D(oo,9): PRINT
520 GO TO 490
530 CLS : PRINT "Posiziona il nastro al punto    giusto, inserisci lo spinotto
 EAR  e premi PLAY"
540 LOAD "" DATA D()
550 PRINT : PRINT "I dati sono stati copiati;      ferma il registratore": PRIN
T
560 PRINT : PRINT "Avanti per l'elaborazione?": PAUSE 0
570 CLS : PRINT  AT 10,11; BRIGHT 1; FLASH 1;"!UN MINUTO!": PRINT "          st
o calcolando"
580 LET H=0: FOR I=1 TO 200: FOR J=1 TO 8
590 IF D(I,J) <> 0 THEN  LET HH=I
600 IF H<HH THEN  LET H=HH
610 NEXT J: NEXT I
620 CLS : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
630 REM ** TABULATO DATI **
640 CLS : PRINT "Vuoi vedere i rilievi?(S/N): ";: INPUT B$: PRINT B$
650 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 820
660 CLS : PRINT "TABULATO DATI:": PRINT
670 PRINT "ora 1  2  3  4  5  6  7  8  temp"
680 FOR I=1 TO 32: PRINT "-";: NEXT I: PRINT
690 FOR I=1 TO H
700 PRINT I;: FOR J=1 TO 9: PRINT  TAB ((J*3)+1);D(I,J);: NEXT J: PRINT
710 NEXT I
720 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 820
730 PRINT : PRINT "Vuoi stampare questi dati?      (S/N)...: ";: INPUT B$: PRIN
T B$
740 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 820
750 LPRINT "T A B U L A T O   D A T I :": LPRINT
760 LPRINT "ora  1   2   3   4   5   6   7   8   temp"
770 FOR I=1 TO 45: LPRINT "-";: NEXT I: LPRINT
780 OUT 157,27: OUT 157,68: FOR I=1 TO 9: OUT 157,((I*4)+1): NEXT I: OUT 157,0
790 FOR I=1 TO H
800 LPRINT I;: FOR J=1 TO 9: LPRINT K$;D(I,J);: NEXT J: LPRINT
810 NEXT I
820 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
830 REM *REGISTRAZIONE DATI*
840 CLS : PRINT "Debbo copiare i dati su memoria magnetica?(S/N)..: ";: INPUT B
$: PRINT B$
850 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 940
860 CLS : PRINT "Scrivi il nome o il numero dellaprova (non piu' di 10 lettere)
:";: INPUT X$: PRINT X$
870 SAVE X$ DATA D()
880 PRINT : PRINT "Debbo verificare?(S/N)..: ";: INPUT B$: PRINT B$
890 IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 940
900 PRINT : PRINT "Riavvolgi il nastro,  quindi    inserisci lo spinotto EAR  e
    premi PLAY"
910 VERIFY X$ DATA D()
920 PRINT : PRINT " OK! Il file e' verificato"
930 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
940 REM ***   GRAFICI   ***
950 CLS : PRINT "Scegli il grafico indicando     l'opzione [ ]": PRINT
960 PRINT "Menu':": PRINT : PRINT "a) coefficienti di perm. 'K'": PRINT "    [1
] di un campione": PRINT "    [2] media di piu' camp."
970 PRINT "b) valori di permeab. cumulati": PRINT "    [3] di un campione": PRI
NT "    [4] di piu' camp."
980 INPUT G$: PRINT : PRINT "Grafico scelto: ";G$
990 IF G$="1" THEN  GO TO 1040
1000 IF G$="2" THEN  GO TO 1340
1010 IF G$="3" THEN  GO TO 1670
1020 IF G$="4" THEN  GO TO 1950
1030 GO TO 940
1040 GO SUB 2290
1050 CLS : PRINT "COEFFICIENTI DI PERMEABILITA':  MEDIE DI UN CAMPIONE": PRINT
1060 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1080
1070 LPRINT : LPRINT "COEFFICIENTI DI PERMEABILITA': MEDIE DI UN CAMPIONE": LPRI
NT : LPRINT
1080 CLS : PRINT "Quale campione?....: ";: INPUT L(1): PRINT L(1): LET L=1
1090 PRINT : PRINT "Debbo stampare gli estremi dellaprova?(S/N): ";: INPUT B$: P
RINT B$: IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1130
1100 GO SUB 2290: PRINT "Medie di ";O;" ore": PRINT
```

```
1110 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1130
1120 LPRINT "Medie di ore: ";O: LPRINT
1130 GO SUB 2640
1140 CLS : GO SUB 2690
1150 PRINT  AT 1,0;"mm/h": PRINT  AT 1,8;"Campione..: ";L(1)
1160 LET DD=DF/5: LET D$= STR$ MIN+"     ": PRINT  AT 18,0;D$( TO 4): LET D$= STR
$ MAX+"     ": PRINT  AT 3,0;D$( TO 4)
1170 FOR I=1 TO 5: LET D$= STR$ ((DD*I)+MIN)+"     ": PRINT  AT ((6-I)*3),0;D$( T
O 4): NEXT I
1180 LET SL=210/N: LET SV=120/DF
1190 LET VV= INT ((P(1,L(1))-MIN)*SV)+24: PLOT 40,VV
1200 FOR I=2 TO N: LET VV= INT ((P(I,L(1))-P((I-1),L(1)))*SV): DRAW SL,VV: NEXT
I
1210 IF U$="1" THEN  GO TO 1240
1220 IF U$="2" THEN  GO TO 1250
1230 GO TO 1260
1240 RANDOMIZE  USR 23314: GO TO 1260
1250 POKE 23314,2: RANDOMIZE  USR 23314: POKE 23314,0
1260 PRINT  AT 19,24;"Avanti?";: PAUSE 0
1270 CLS : PRINT "Vuoi disegnare altre medie?     (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT
B$
1280 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1080
1290 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
1300 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1040
1310 CLS : PRINT "Vuoi terminare?(S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
1320 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2280
1330 GO TO 940
1340 GO SUB 2290
1350 CLS : PRINT "COEFFICIENTI DI PERMEABILITA':  MEDIE DI PIU' CAMPIONI": PRINT

1360 PRINT : PRINT "tra quanti campioni? : ";: INPUT L: PRINT L
1370 PRINT "quali? : ";
1380 FOR I=1 TO L: INPUT NC: PRINT NC;" ";: LET L(I)=NC: NEXT I: PRINT
1390 PRINT : PRINT "Debbo stampare gli estremi dellaprova?(S/N): ";: INPUT B$: P
RINT B$: IF B$="N" OR B$="n" THEN  GO TO 1430
1400 GO SUB 2290: PRINT "Medie di ";O;" ore": PRINT
1410 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1430
1420 LPRINT "Medie di ore: ";O: LPRINT
1430 GO SUB 2770
1440 CLS : GO SUB 2690
1450 PRINT  AT 1,0;"mm/h": PRINT  AT 1,8;"Campioni..: ";: FOR I=1 TO L: PRINT L(
I);", ";: NEXT I
1460 LET DD=DF/5: LET D$= STR$ MIN+"     ": PRINT  AT 18,0;D$( TO 4): LET D$= STR
$ MAX+"     ": PRINT  AT 3,0;D$( TO 4)
1470 FOR I=1 TO 5: LET D$= STR$ ((DD*I)+MIN)+"     ": PRINT  AT ((6-I)*3),0;D$( T
O 4): NEXT I
1480 LET SL=210/N: LET SV=120/DF: LET VV=0
1490 FOR J=1 TO L: LET VV=VV+(P(1,L(J))): NEXT J
1500 LET VV=(((VV/L)-MIN)*SV)+24: PLOT 40,VV
1510 FOR I=2 TO N: LET VV=0: LET VU=0
1520 FOR J=1 TO L: LET VV=VV+(P(I,L(J))): LET VU=VU+(P((I-1),L(J))): NEXT J
1530 LET VV=(VV/L)*SV-(VU/L)*SV: DRAW SL,VV: NEXT I
1540 IF U$="1" THEN  GO TO 1570
1550 IF U$="2" THEN  GO TO 1580
1560 GO TO 1590
1570 RANDOMIZE  USR 23314: GO TO 1590
1580 POKE 23314,2: RANDOMIZE  USR 23314: POKE 23314,0
1590 PRINT  AT 19,24;"Avanti?";: PAUSE 0
1600 CLS : PRINT "Vuoi disegnare altre medie?     (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT
B$
1610 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1360
1620 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
1630 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1340
1640 CLS : PRINT "Vuoi terminare?(S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
1650 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2280
1660 GO TO 940
1670 GO SUB 2290
1680 CLS : PRINT "PERMEABILITA' CUMULATA:          SOMME DI UN CAMPIONE": PRINT
1690 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1710
1700 LPRINT : LPRINT "PERMEABILITA' CUMULATA: SOMME DI UN CAMPIONE": PRINT
1710 CLS : PRINT "Quale campione?....: ";: INPUT L(1): PRINT L(1): LET L=1
```

```
1720 PRINT : PRINT "Debbo stampare gli estremi dellaprova?(S/N): ";: INPUT B$: P
RINT B$: IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO SUB 2510
1730 PRINT "Permeabilita' cumulata": PRINT
1740 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1760
1750 LPRINT "Permeabilita' cumulata": LPRINT : LPRINT
1760 CLS : GO SUB 2690
1770 PRINT  AT 1,1;"mm": PRINT  AT 1,8;"Campione..: ";L(1)
1780 LET DD=(C(H,L(1)))/5: PRINT  AT 18,0;"0": PRINT  AT 3,0; INT (C(H,L(1)))
1790 FOR I=1 TO 5: LET DS= INT (DD*I): PRINT  AT ((6-I)*3),0;DS: NEXT I
1800 LET SL=210/H: LET SV=120/C(H,L(1))
1810 FOR I=1 TO H: LET VV= INT (C(I,L(1))*SV): PLOT ((I*SL)+40),(VV+24): NEXT I
1820 IF U$="1" THEN  GO TO 1850
1830 IF U$="2" THEN  GO TO 1860
1840 GO TO 1870
1850 RANDOMIZE  USR 23314: GO TO 1870
1860 POKE 23314,2: RANDOMIZE  USR 23314: POKE 23314,0
1870 PRINT  AT 19,24;"Avanti?";: PAUSE 0
1880 CLS : PRINT "Vuoi disegnare altre medie?      (S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT
B$
1890 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1710
1900 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
1910 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1670
1920 CLS : PRINT "Vuoi terminare?(S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
1930 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2280
1940 GO TO 940
1950 GO SUB 2290
1960 CLS : PRINT "PERMEABILITA' CUMULATA:          MEDIE DI PIU' CAMPIONI": PRINT

1970 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 1990
1980 LPRINT : LPRINT "PERMEABILITA' CUMULATA: MEDIE DI PIU' CAMPIONI": LPRINT
1990 PRINT : PRINT "tra quanti campioni? : ";: INPUT L: PRINT L
2000 PRINT "quali? : ";
2010 FOR I=1 TO L: INPUT NC: PRINT NC;" ";: LET L(I)=NC: NEXT I: PRINT
2020 PRINT : PRINT "Debbo stampare gli estremi dellaprova?(S/N): ";: INPUT B$: P
RINT B$: IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO SUB 2510
2030 PRINT "Medie permeabilita' cumulata": PRINT
2040 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 2050
2050 CLS : GO SUB 2690
2060 PRINT  AT 1,1;"mm": PRINT  AT 1,8;"Campioni..: ";: FOR I=1 TO L: PRINT L(I)
;", ";: NEXT I
2070 LET DF=0: FOR I=1 TO L: LET DF=DF+C(H,L(I)): NEXT I
2080 LET DD=DF/(5*L): PRINT  AT 18,0;"0": PRINT  AT 3,0; INT (DF/L)
2090 FOR I=1 TO 5: LET DS= INT (DD*I): PRINT  AT ((6-I)*3),0;DS: NEXT I
2100 LET SL=210/H: LET SV=120/(DF/L)
2110 FOR I=1 TO H: LET VV=0
2120 FOR J=1 TO L: LET VV=VV+C(I,L(J)): NEXT J
2130 LET VV=(VV/L)*SV: PLOT ((I*SL)+40),(VV+24)
2140 NEXT I
2150 IF U$="1" THEN  GO TO 2180
2160 IF U$="2" THEN  GO TO 2190
2170 GO TO 2200
2180 RANDOMIZE  USR 23314: GO TO 2200
2190 POKE 23314,2: RANDOMIZE  USR 23314: POKE 23314,0
2200 PRINT  AT 19,24;"Avanti?";: PAUSE 0
2210 CLS : PRINT "Vuoi disegnare altre medie cumu-late?      (S/N)...: ";: INPUT
B$: PRINT B$
2220 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1990
2230 CLS : PRINT "Vuoi calcolare con intervallo didiversa durata?(S/N)..: ";: IN
PUT B$: PRINT B$
2240 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 1950
2250 CLS : PRINT "Vuoi terminare?(S/N)...: ";: INPUT B$: PRINT B$
2260 IF B$="S" OR B$="s" THEN  GO TO 2280
2270 GO TO 940
2280 STOP
2290 REM ***  CALCOLI   ***
2300 CLS : PRINT "I calcoli di permeabilita' pos- sono  essere  svolti per valor
i medi rilevati in intervalli  di tempo da definire": PRINT : PRINT "Gli interva
lli saranno di ore.............: ";: INPUT OO: PRINT OO
2310 IF OO=0 THEN  GO TO 2490
2320 LET O=OO
2330 PRINT  AT 10,11; BRIGHT 1; FLASH 1;"!ASPETTA!": PRINT "      sto ancora cal
colando"
```

```
2340 DIM P(220,8): LET N=0: LET Y=0
2350 FOR J=1 TO 8
2360 LET TT=20: LET NN=1: FOR I=1 TO H
2370 LET Y=Y+1
2380 IF D(I,9)=0 THEN  GO TO 2400
2390 LET TA=D(I,9): IF TA <> TT THEN  LET TT=TA
2400 LET Q=D(I,J)*10000: LET KA=(Q*LC)/(((DC/2)^2)* PI *CI): LET K=(KA*T(TT))/T(
T)
2410 LET C((I+1),J)=C(I,J)+K
2420 LET P(NN,J)=P(NN,J)+K: IF Y <= (O-1) THEN  GO TO 2450
2430 LET A=NN: IF A>N THEN  LET N=A
2440 LET NN=NN+1: LET Y=0
2450 NEXT I: NEXT J
2460 FOR I=1 TO (N-1): FOR J=1 TO 8: LET P(I,J)=P(I,J)/O: NEXT J: NEXT I
2470 LET DF=H-((N-1)*O): IF DF=0 THEN  LET DF=1
2480 FOR J=1 TO 8: LET P(N,J)=P(N,J)/DF: NEXT J
2490 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
2500 RETURN
2510 REM ** ESTREMI PROVA **
2520 CLS : PRINT "TAVOLA ESTREMI DELLA PROVA": PRINT
2530 PRINT "Prova...: ";T$: PRINT "  iniziata il.....: "¡I$
2540 PRINT "  area cilindro..mm^2: "¡(DC/2)* PI : PRINT "  lungh.cilindro...mm:
"¡LC
2550 PRINT "  carico idraulico mm: "¡CI: PRINT "  durata prova......h: "¡H: PRIN
T "  temp. di riferim...: "¡T: PRINT
2560 IF W$="N" OR W$="n" THEN  GO TO 2620
2570 LPRINT : LPRINT : LPRINT "TAVOLA DEGLI ESTREMI DELLA PROVA": LPRINT
2580 LPRINT : LPRINT "Prova...: "¡T$: LPRINT "  data di inizio....: "¡I$: LPRINT
 "  area cilindro..mm^2: "¡(DC/2)* PI
2590 LPRINT "  lungh.cilindro...mm: "¡LC: LPRINT "  carico idraulico mm: "¡CI
2600 LPRINT "  durata prova......h: "¡H: LPRINT "  temp. di riferim...: "¡T: LPR
INT
2620 PRINT : PRINT "Avanti?": PAUSE 0
2630 RETURN
2640 LET MIN=9999: LET MAX=0: FOR I=1 TO N: FOR J=1 TO L
2650 IF P(I,L(J))<MIN THEN  LET MIN=P(I,L(J))
2660 IF P(I,L(J))>MAX THEN  LET MAX=P(I,L(J))
2670 NEXT J: NEXT I
2680 LET DF=MAX-MIN: RETURN
2690 REM * ASSI CARTESIANI *
2700 PRINT  AT 0,8;"Prova.....: "¡T$
2710 PLOT 40,16: DRAW 0,145: PLOT 40,16: DRAW 210,0
2720 FOR I=2 TO 12: PLOT 40,(I*12): DRAW -3,0: NEXT I
2730 FOR I=3 TO 12: PLOT (I*20),16: DRAW 0,-3: NEXT I
2740 PRINT  AT 21,0;"ore: 0": LET HH=H/5
2750 FOR I=1 TO 5: PRINT  AT 21,((I*5)+4)¡ INT (HH*I): NEXT I
2760 RETURN
2770 LET MIN=99999: LET MAX=0: FOR I=1 TO N: LET FF=0
2780 FOR J=1 TO L: LET FF=FF+P(I,L(J)): NEXT J
2790 IF (FF/L)<MIN THEN  LET MIN=(FF/L)
2800 IF (FF/L)>MAX THEN  LET MAX=(FF/L)
2810 NEXT I
2820 LET DF=MAX-MIN: RETURN
2830 STOP
2840 REM *SALVATAGGIO DEL FILE*
2850 CLEAR : SAVE "PERMGRAFO" LINE 80
2860 PRINT "Debbo verificare?(S/N)..: ";: INPUT x$: PRINT x$: PRINT
2870 IF x$="N" OR x$="n" THEN  GO TO 2160
2880 CLEAR : PRINT "Riavvolgi il nastro al punto    giusto, inserisci lo spinott
o   EAR  e premi PLAY"
2890 VERIFY "PERMGRAFO"
2900 PRINT : PRINT "OK! Il programma e' verificato."
2910 STOP
```

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

ELEMENTI MINERALI NEL SUOLO E NELLE FOGLIE DI SOIA AGLI STADI DI SVILUPPO R2 ED R5

Maria Visintini Romanin
Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante -Roma
Sezione di Gorizia

RIASSUNTO

La composizione minerale delle foglie di soia (N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn) risulta particolarmente influenzata dalle caratteristiche pedologiche dal suolo alla stadio di sviluppo R5.

L'eccessivo assorbimento di calcio e l'insufficiente assimilazione di potassio non hanno influito sulle produzioni, sempre elevate quando gli andamenti climatici sono risultati favorevoli.

SUMMARY

Physical and chemical characteristics of soil have influenced the mineral composition (N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn) of soybean leaves particularly at R5 stage.

Seed yields are not affected by excessive absorption of calcium and insufficient assimilation of potasssium.

1. INTRODUZIONE

Le ricerche da noi condotte negli ultimi anni su mais, frumento e soia hanno avuto lo scopo di valutare le possibili relazioni fra il clima, le caratteristiche dei suoli, le produzioni e l'analisi fogliare al fine di ottenere indicazioni utili ad individuare come correggere gli interventi fertilizzanti tradizionali nella quantita', qualita' e modalita' d'uso.

Le prove sperimentali pluriennali di concimazione hanno fornito i materiali per le determinazioni dei principali elementi macro e micronutritivi, a diversi stadi di

sviluppo delle piante. I risultati sono stati raccolti in varie note (14) (15) (16) (17) (18) per una valutazione comparativa dei dati ottenuti dalle varie colture sugli stessi terreni durante vari anni, in relazione anche ai "livelli critici" e agli "indici DRIS" riportati in letteratura.

Per conoscere le esigenze della soia in elementi minerali, dal 1982, abbiamo eseguito ricerche sulla composizione delle foglie di piante raccolte in diverse situazioni ambientali e pedologiche del Friuli-Venezia Giulia, dove la coltivazione di questa leguminosa si e' fortemente sviluppata in pochi anni e le produzioni raggiunte risultano elevate, particolarmente in terreni decisamente calcarei.

Poiche' i contenuti in calcio da noi riscontrati nella maggior parte delle foglie di soia, analizzate agli stadi di sviluppo R2 ed R5, risultano da alti ad eccesivi e la loro valutazione ed elaborazione in base ai dati e ai relativi rapporti riscontrati in letteratura e' impossibile, abbiamo eeguito contemporaneamente ricerche su materiali provenienti da suoli acalcarei e calcarei nel tentativo di valutare l'influenza delle caratteristiche dei diversi strati di terreno esplorati dalle radici durante lo sviluppo della pianta.

In terreni di media e buona fertilita' risulta difficile mettere in evidenza correttamente eventuali sbilanciamenti nutritivi spesse volte stagionali e temporanei. Abbiamo avuto modo di constatare come gli andamenti climatici

possano influenzare a seconda delle caratteristiche del terreno l'assorbimento dei vari ioni, determinando una riduzione momentanea di disponibilita' di elementi, per es. di potassio nella vite (18), di zolfo e manganese in varie colture (17), di magnesio specialmente quando gli apporti di potassio sono eccessivi (14). Da analisi eseguite contemporaneamente sul terreno e sulla pianta si possono ottenere dati indicanti carenza o buona presenza dell'elemento in funzione dell'epoca e delle modalita' di campionamento adottate.

Lo sviluppo di una pianta e' il risultato dell'interazione fra le proprieta' del suolo e della pianta stessa, le cui radici possono penetrare piu' o meno in profondita' lungo il profilo, ed assorbire i nutrienti dalla soluzione del terreno in funzione dei numerosi fattori di carattere climatico, pedologico, agronomico, etc.

Lo scavo per l'osservazione e lo studio dell'apparato radicale e' laborioso e distruttivo; pertanto le ricerche sullo sviluppo ed il comportamento delle radici sono molto limitate rispetto a quelle sulla parte aerea.

Silberbusch e Barber (10) (11) hanno valutato il modello matematico di Cushman per prevedere l'assorbimento del potassio da cinque varieta' di soia prendendo in considerazione separatamente i vari strati di terreno, in quanto alcuni parametri possono variare da uno strato all'altro (Sensitivity Analysis (1) (11)). Modificazioni al modello sono risultate necessarie specialmente per la soia

(1), in base all'effetto del suolo sulla crescita e la morfologia delle radici il cui sviluppo dipende anche dalla varieta' (10) (11) (13) in relazione alle difficolta' di penetrazione nel suolo per forze meccaniche e fisiche diverse.

Le radici necessitano poi di metaboliti elaborati nella parte aerea della pianta, il cui sviluppo a sua volta dipende dai vari fattori citati ed in particolare dalle caratteristiche genetiche della pianta stessa (2). Puo' risultare inoltre importante l'influenza della competizione fra elementi nutritivi (10) ed il ruolo dominante che puo' assumere il calcio (4).

La soia e' sensibile ad una diffusa ed omogenea disponibilita' di elementi nutritivi nell'intera area di suolo esplorata dalle radici (7) (8), risponde meglio a buoni livelli di fertilita' naturale che ad apporti concimanti (12) (16), e l'assorbimento dei vari ioni dipende anche dallo stato dell'atmosfera nella zona delle radici (1). La loro penetrazione avviene in funzione della quantita' d'acqua disponibile e lo sviluppo puo' risultare diverso a seconda del grado di fertilita' del sottosuolo, della localizzazione dei principi fertilizzanti e della concentrazione di ioni complementari apportati con la concimazione (1) (5).

Il diverso rapporto fra parte aerea (numero di germogli) e radici (Shoot-Root Ratio) dipende quindi da fattori ambientali, agronomici e genetici e puo' influenzare non solo la composizione minerale delle foglie ma anche la

produzione di sostanza secca e granella (5).

2. RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel poster-tab.1 vengono presentati in forma riassuntiva le caratteristiche dei terreni sui quali sono state eseguite le osservazioni relative allo sviluppo radicale di piante di soia, i dati dei macro e microelementi nutritivi (N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn) presenti nel suolo lungo il profilo e i contenuti degli stessi elementi riscontrati nelle foglie di soia agli stadi di sviluppo R2 ed R5.

Le caratteristiche fisico-chimiche dei terreni oggetto di studio risultano le seguenti:

- il terreno acalcareo (loc. Vicinale di Buttrio-UD) e' di natura prevalentemente eocenica; privo di scheletro; a reazione subacida; a tessitura limo-argillosa; con C.S.C. totale discreta il cui stato di saturazione risulta per il K 2%, per il Mg 11%, per il Ca 68%, per il sodio 0.3%; non molto dotato di azoto totale e di sostanze organiche umificate; con scarsi contenuti di anidride fosforica ed ossido di potassio di riserva accessibile, discretamente dotato delle forme assimilabili di questi due elementi; ricco di Fe e Mn, normalmente dotato di Cu e Zn solubili in DTPA.

- il terreno calcareo (loc. Castions delle Mura-UD) deriva da alluvioni fluvio post-glaciali; e' costituito da terra fina moderatamente calcarea in superficie e decisamente calcarea in profondita', con scheletro di

piccole dimensioni di natura prevalentemente calcarea; la reazione e' subalcalina; la tessitura di medio impasto in superficie, risulta sabbio-limosa negli strati profondi; moderatamente dotato di azoto totale e di sostanze organiche umificate con basso rapporto C/N; bassa la C.S.C. e il relativo stato di saturazione e' dovuto per oltre il 95% a Ca e Mg, per il 2% al K e per lo 0,3% al Na; scarsamente fornito di anidride fosforica e ossido di potassio di riserva accessibile, discretamente dotato di fosforo assimilabile e di potassio scambiabile; con Fe, Mn, Cu e Zn estratti con DTPA nella norma.

Dai contenuti dei principali macroelementi nutritivi (N, P, S, K, Ca, Mg) estratti con acidi concentrati dai campioni di terra fina dei vari strati di terreno si puo' rilevare quanto segue: per il terreno acalcareo presenza praticamente omogenea di azoto, contenuti di fosforo e zolfo non elevati lungo tutto il profilo, valori di potassio che trovano riscontro nei dati relativi alle forme assimilabili e scambiabili, una relativa lieve maggior presenza di calcio e magnesio oltre i 60 cm. di profondita'; per il terreno calcareo la quantita' di azoto totale diminuisce lungo il profilo, fosforo e zolfo sono presenti in quantita' molto basse oltre i 60 cm. di profondita', il calcio raddoppia fra 40 e 60 cm. aumentando ancora notevolmente in profondita', il magnesio aumenta sensibilmente lungo il profilo.

Va inoltre messo in evidenza che i dati riportati sono relativi alla terra fina, la quale rappresenta la totalita'

in tutti gli strati del terreno acalcareo (con in media 26% di argilla e 26% di sabbia) mentre e' componente del suolo calcareo per il 70% negli strati superficiali e per il 56% in profondita' (con 16% di argilla e 63% di sabbia calcarea).

L'analisi fogliare e' stata eseguita su campioni di soia provenienti da appezzamenti senza apporti concimanti nell'anno (per eliminare l'effetto degli ioni accompagnatori come Cl e S), senza apporti irrigui e trattamenti diserbanti (per ridurre eventuali condizioni di stress difficilmente valutabili). Lo sviluppo del rizobio e' stato buono fin dalle prime fasi della coltura, il diserbo e' stato eseguito, dove necessario, manualmente.

Negli anni in cui sono state condotte le ricerche le produzioni di granella, con 14% di umidita', sono risultate comprese fra 31 e 41 q.li/ha in localita' acalcarea e fra 41 e 47 q.li/ha in zona calcarea. Tutti i dati ottenuti anche dalle prove di concimazione sono riportati nella nota citata (16).

Sulle foglie di soia essiccate a 70 gradi centigradi sono stati determinati i vari elementi minerali agli stadi di sviluppo R2 (inizio fioritura con almeno quattro trifogliate completamente sviluppate) ed R5 (75% delle piante con il primo bacello che sta acquistando il colore della maturazione). Dai risultati ottenuti si possono trarre alcune indicazioni:

- allo stadio R2 i campioni provenienti dalle soie coltivate tanto su terreno acalcareo che calcareo hanno

(1), in base all'effetto del suolo sulla crescita e la morfologia delle radici il cui sviluppo dipende anche dalla varieta' (10) (11) (13) in relazione alle difficolta' di penetrazione nel suolo per forze meccaniche e fisiche diverse.

Le radici necessitano poi di metaboliti elaborati nella parte aerea della pianta, il cui sviluppo a sua volta dipende dai vari fattori citati ed in particolare dalle caratteristiche genetiche della pianta stessa (2). Puo' risultare inoltre importante l'influenza della competizione fra elementi nutritivi (10) ed il ruolo dominante che puo' assumere il calcio (4).

La soia e' sensibile ad una diffusa ed omogenea disponibilita' di elementi nutritivi nell'intera area di suolo esplorata dalle radici (7) (8), risponde meglio a buoni livelli di fertilita' naturale che ad apporti concimanti (12) (16), e l'assorbimento dei vari ioni dipende anche dallo stato dell'atmosfera nella zona delle radici (1). La loro penetrazione avviene in funzione della quantita' d'acqua disponibile e lo sviluppo puo' risultare diverso a seconda del grado di fertilita' del sottosuolo, della localizzazione dei principi fertilizzanti e della concentrazione di ioni complementari apportati con la concimazione (1) (5).

Il diverso rapporto fra parte aerea (numero di germogli) e radici (Shoot-Root Ratio) dipende quindi da fattori ambientali, agronomici e genetici e puo' influenzare non solo la composizione minerale delle foglie ma anche la

produzione di sostanza secca e granella (5).

2. RISULTATI E DISCUSSIONE

Nel poster-tab.1 vengono presentati in forma riassuntiva le caratteristiche dei terreni sui quali sono state eseguite le osservazioni relative allo sviluppo radicale di piante di soia, i dati dei macro e microelementi nutritivi (N, P, S, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn) presenti nel suolo lungo il profilo e i contenuti degli stessi elementi riscontrati nelle foglie di soia agli stadi di sviluppo R2 ed R5.

Le caratteristiche fisico-chimiche dei terreni oggetto di studio risultano le seguenti:

- il terreno acalcareo (loc. Vicinale di Buttrio-UD) e' di natura prevalentemente eocenica; privo di scheletro; a reazione subacida; a tessitura limo-argillosa; con C.S.C. totale discreta il cui stato di saturazione risulta per il K 2%, per il Mg 11%, per il Ca 68%, per il sodio 0.3%; non molto dotato di azoto totale e di sostanze organiche umificate; con scarsi contenuti di anidride fosforica ed ossido di potassio di riserva accessibile, discretamente dotato delle forme assimilabili di questi due elementi; ricco di Fe e Mn, normalmente dotato di Cu e Zn solubili in DTPA.

- il terreno calcareo (loc. Castions delle Mura-UD) deriva da alluvioni fluvio post-glaciali; e' costituito da terra fina moderatamente calcarea in superficie e decisamente calcarea in profondita', con scheletro di

piccole dimensioni di natura prevalentemente calcarea; la reazione e' subalcalina; la tessitura di medio impasto in superficie, risulta sabbio-limosa negli strati profondi; moderatamente dotato di azoto totale e di sostanze organiche umificate con basso rapporto C/N; bassa la C.S.C. e il relativo stato di saturazione e' dovuto per oltre il 95% a Ca e Mg, per il 2% al K e per lo 0,3% al Na; scarsamente fornito di anidride fosforica e ossido di potassio di riserva accessibile, discretamente dotato di fosforo assimilabile e di potassio scambiabile; con Fe, Mn, Cu e Zn estratti con DTPA nella norma.

Dai contenuti dei principali macroelementi nutritivi (N, P, S, K, Ca, Mg) estratti con acidi concentrati dai campioni di terra fina dei vari strati di terreno si puo' rilevare quanto segue: per il terreno acalcareo presenza praticamente omogenea di azoto, contenuti di fosforo e zolfo non elevati lungo tutto il profilo, valori di potassio che trovano riscontro nei dati relativi alle forme assimilabili e scambiabili, una relativa lieve maggior presenza di calcio e magnesio oltre i 60 cm. di profondita'; per il terreno calcareo la quantita' di azoto totale diminuisce lungo il profilo, fosforo e zolfo sono presenti in quantita' molto basse oltre i 60 cm. di profondita', il calcio raddoppia fra 40 e 60 cm. aumentando ancora notevolmente in profondita', il magnesio aumenta sensibilmente lungo il profilo.

Va inoltre messo in evidenza che i dati riportati sono relativi alla terra fina, la quale rappresenta la totalita'

in tutti gli strati del terreno acalcareo (con in media 26% di argilla e 26% di sabbia) mentre e' componente del suolo calcareo per il 70% negli strati superficiali e per il 56% in profondita' (con 16% di argilla e 63% di sabbia calcarea).

L'analisi fogliare e' stata eseguita su campioni di soia provenienti da appezzamenti senza apporti concimanti nell'anno (per eliminare l'effetto degli ioni accompagnatori come Cl e S), senza apporti irrigui e trattamenti diserbanti (per ridurre eventuali condizioni di stress difficilmente valutabili). Lo sviluppo del rizobio e' stato buono fin dalle prime fasi della coltura, il diserbo e' stato eseguito, dove necessario, manualmente.

Negli anni in cui sono state condotte le ricerche le produzioni di granella, con 14% di umidita', sono risultate comprese fra 31 e 41 q.li/ha in localita' acalcarea e fra 41 e 47 q.li/ha in zona calcarea. Tutti i dati ottenuti anche dalle prove di concimazione sono riportati nella nota citata (16).

Sulle foglie di soia essiccate a 70 gradi centigradi sono stati determinati i vari elementi minerali agli stadi di sviluppo R2 (inizio fioritura con almeno quattro trifogliate completamente sviluppate) ed R5 (75% delle piante con il primo bacello che sta acquistando il colore della maturazione). Dai risultati ottenuti si possono trarre alcune indicazioni:

- allo stadio R2 i campioni provenienti dalle soie coltivate tanto su terreno acalcareo che calcareo hanno

presentato valori in macro e microelementi nella norma o compresi nei limiti di sufficienza, se considerati in base, ai dati riportati in letteratura (16);

- allo stadio R5 i campioni di foglie provenienti dal terreno acalcareo hanno confermato normali quantita' di P, K, Ca, Mg, S, Cu e Zn, una forte presenza di Fe e Mn, contenuti di azoto inferiori ai limiti di sufficienza della letteratura, tanto nelle foglie del fusto principale che nelle ramificazioni;

- i campioni delle foglie separati, sempre allo stadio R5, dalle piante raccolte dal terreno calcareo presentano tenori bassi di azoto, normali di fosforo,zolfo e magnesio, molto bassi di potassio, tanto elevati di calcio da dover definire eccessivi quelli delle foglie del fusto principale, infine tenori sufficienti di Fe, Mn, Cu e Zn.

Nella tabella 2 vengono riportati inoltre i valori degli elementi nutritivi espressi in meq/100g. di s.s. ed alcuni rapporti, i quali mettono maggiormente in evidenza i forti sbilanciamenti derivanti dall'eccessivo assorbimento di calcio e dalla scarsa assimilazione di potassio riscontrata nelle soie coltivate in terreno calcareo.

Le elevate produzioni di soia, raggiungibili particolarmente in terreni di natura decisamente calcarea del Friuli, risultano influenzate nella quantita' e qualita' della granella da andamenti climatici non favorevoli, i quali possono esaltare eventuali squilibri nella disponibilita' degli elementi minerali, in relazione

alle caratteristiche pedologiche dei suoli e ad apporti concimanti non necessari o eccessivi (16) (17) (18).

Le conoscenze acquisite inoltre sui semi di soia, provenienti dalle nostre prove di concimazione, ci permettono le seguenti considerazioni:

- elevati apporti di fosforo e potassio hanno provocato effetti tendenzialmente negativi sulla quantita' e qualita' della granella;
- i contenuti dei vari macro e microelementi nei semi possono differire sensibilmente a seconda della localita' di prova (16) (17), e la loro conoscenza puo' risultare utile per trovare conferma di eventuali stati di subcarenza (Mn, S (16)) o eccesso (Cu, Zn (18)).
- i semi delle ramificazioni di piante provenienti da terreni calcarei risultano di composizione minerale diversa da quelli del fusto principale e, nella generalita', con meno azoto, maggiori quantita' di cationi macro e micro, con una percentuale di fosforo piu' elevata e correlata significativamente con il contenuto in olio (16);
- una ridotta attivita' del rizobio ha provocato la formazione nei semi di maggiori quantita' di sostanze grasse e minori quantita' di sostanze proteiche, anche con apporto di concimi azotati.

I dati ottenuti dalle nostre ricerche sono risultati utili per correggere gli interventi agronomici sulla coltura negli anni successivi, in particolare nelle situazioni ambientali considerate, e per migliorare le

modalita' di campionamento ai fini dell'analisi fogliare. Puo' infatti risultare importante e molte volte indispensabile prendere in considerazione l'influenza che possono esercitare alcuni fattori, spesse volte trascurati, sulla composizione delle piante e relativa interpretazione:

- diverso sviluppo della parte aerea e radicale, fin dalle prime fasi (rapporto Shoot-Root), in funzione della temperatura, disponibilita' d'acqua, stato di aerazione e del numero di giorni intercorsi dalla semina all'emergenza;
- ioni accompagnatori apportati con gli elementi fertilizzanti generalmente considerati (Cl con K, S con K e NH4, S con P, Cu, Zn, Mn con liquami suini etc.), le cui concentrazioni possono influenzare l'equilibrio dei vari ioni, tanto in superficie che nell'interno delle radici;
- scelta della varieta' e di densita' di semina con relativo maggiore o minore sviluppo della parte ramificata, la cui composizione puo' differire sensibilmente da quella del fusto principale tanto nelle foglie che nei semi;
- diserbo in pre e post emergenza;
- diverso sviluppo radicale lungo il profilo del suolo in funzione dell'andamento climatico, delle pratiche agronomiche adottate e delle caratteristiche genetiche della pianta e pedologiche del suolo;
- acqua disponibile in falda o necessita' di interventi irrigui con relativi stati di stress;

- "effetto ruote", di cui la soia risulta sensibile in certe fasi di sviluppo del rizobio in terreni poco aerati.

3. BIBLIOGRAFIA

(1) BARBER,S.A.
Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach.
John Wiley & Sons, Inc 1984.

(2) BOWLING,D.J.F.
Uptake of ions by plant roots.
Chapman and Hall 1976.

(3) CALLOT,G - CHAMAYON,H - MAERTENS,C - SALSAC,L.
Mieux comprendre les interactions sol-racine incidence sur la nutrition minerale.
Inst. Nat. Rach. Agron., Paris 1982.

(4) DIJKSHOORN,W
Partition of ionic constituents between organs in recent advances, in plant nutrition.
Ed. R.M. Sannish. vol.2, 1971.

(5) GARDNER,F.P. - PEARCE,R.B. - MITCHELL,R.L.
Physiology of crop plants.
The Iowa State University Press: Ames,1985.

(6) HALLMARK,W.B. - BARBER,S.A.
Root growth and morphology, nutrients uptake, and nutrient status of soybeans as affected by soil K and bulk density.
Agron. J. 73: 779-782, 1981.

(7) MENGEL,K - KIRKBY,E.A.
Principles of plant nutrition.
Inter. Potash Inst., Bern, 1982.

(8) NELSON,W.L.
Fertilization of soybeans and protein production.
Fertilizer use and protein production.
Inter. Potash Institute, 1975.

(9) PETERSON,W.R. - BARBER,S.A.
Soybean root morphology and K uptake.
Agrom. J. 73: 316-319, 1981.

(10) SILBERBUSH,M. - BARBER,S.A.
Prediction of phosphorus and potassium uptake by soybeans with a mechanistic mathematical model.
Soil Sei. Soc. Am. J. 47: 262-265, 1983.

(11) SILBERBUSH,M. - BARBER,S.A.
Phosphorus and potassium uptake of field-grown soybean cultivars predicted by a simulation model.
Soil Sei. Soc. Am. J. 48: 592-596, 1984.

(12) SMALL,H.G. - OHBROGGE,A.J.
Plant analysis as an aid in fertilizing soybeans and peanuts. In Soil Testing and Plant Analysis.
Soil Sci. Soc. Am. J. Inc. 1973.

(13) TURNER,N.C.
Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants, in Stress physiology in crop plants.
Ed. H.Mussell, R.C.Staples. Wiley-Interscience publication, 1979.

(14) VISINTINI ROMANIN,M.
Le necessita' potassiche di mais ibridi per le massime produzioni: analisi fogliare e calcolo degli indici DRIS (Diagnosis and recommendation integrated system).
Ann. Ist. Sperim. Nutr. Piante, vol.XI, Roma 1981-1982.

(15) VISINTINI ROMANIN,M. - MARIZZA,L.
Effetti della concimazione azotata (N-NH4 e N-NO3) al mais: l'influenza sull'assorbimento degli altri ioni.
Ann. Ist. Sperim. Nutr. Piante, vol.XI, Roma 1981-1982.

(16) VISINTINI ROMANIN,M. - MARIZZA,L.
Elementi minerali nelle foglie e nei semi di soia in diverse situazioni ambientali del Friuli-Venezia Giulia.
Ann. Ist. Sperim. Nutr. Piante, vol.XII, Roma 1983-1984.

(17) VISINTINI ROMANIN,M. - MARIZZA,L.
Analisi fogliare di mais, soia e frumento: livelli critici e indici DRIS ottenuti da prove di concimazione pluriennali.
Ann. Ist. Sperim. Nutr. Piante, vol.XIII, Roma 1985-1986.

(18) VISINTINI ROMANIN,M. - MARIZZA,L. - CASAROTTO,M.
Inquinamento da fosforo e azoto di origine zootecnica. I. Influenza degli apporti di liquami suini su acque, sedimenti, terreni e piante.
Ann. Ist. Sperim. Nutr. Piante, vol.XIII, Roma 1985-1986.

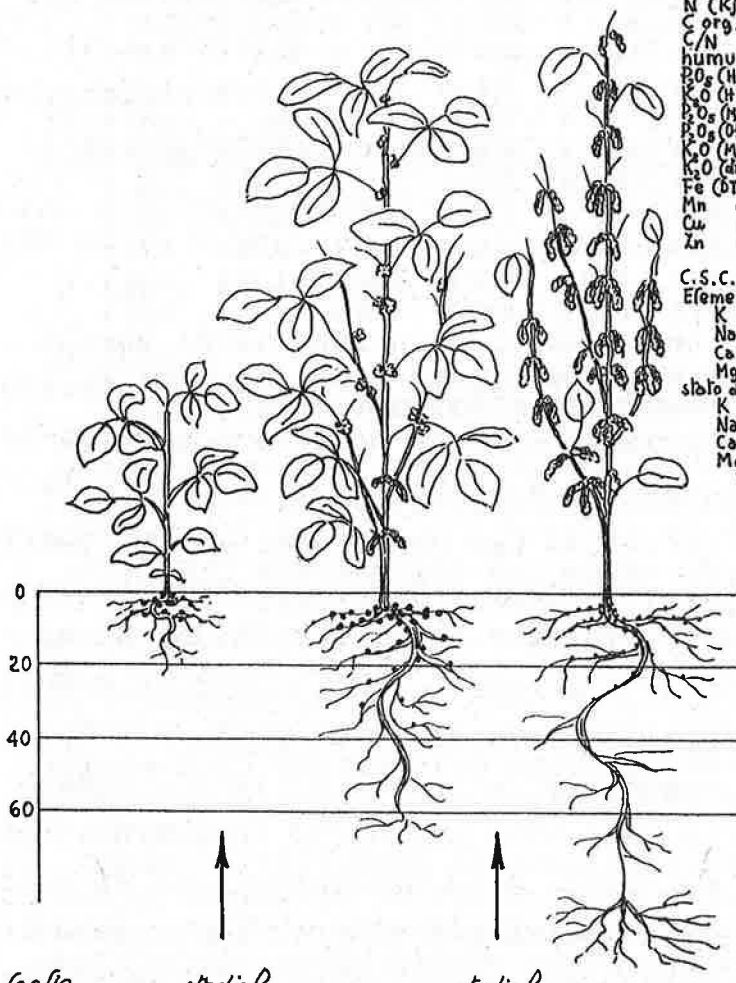
TABELLA 1

Elementi minerali nel suolo e nelle piante agli stadi di sviluppo R_2 ed R_5

Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante - Roma - Sezione di Gorizia

VERONA
19-21 sett. 1988

	Terreno acalcareo				Terreno calcareo			
	0-20	20-40	40-60	>60	0-20	20-40	40-60	>60
su terra sall'aria								
schel. >10 mm	/	/	/	/	13.2	14.4	18.7	20.1
" 10-5 %	/	/	/	/	9.4	9.4	10.5	11.6
" 5-3 "	/	/	/	/	4.4	4.0	4.1	5.5
" 5-2 "	/	/	/	/	1.9	2.7	1.7	2.8
" 2-1 "	/	/	/	/	2.0	1.0	1.2	2.2
schel. totale "	/	/	/	/	30.9	31.5	36.2	42.2
Terra fina "	100.0	100.0	100.0	100.0	69.1	68.5	63.8	57.8
su t. fine s. all'aria								
sabbia %	28.55	27.31	26.26	23.21	59.6	59.7	62.9	68.1
limo "	49.00	50.85	48.99	40.45	20.9	19.0	20.2	24.8
argilla "	22.45	21.74	24.15	36.34	19.5	21.3	16.9	7.1
pH (H_2O 1:2.5)	6.05	5.75	6.10	6.50	7.65	7.60	7.70	7.90
pH (KCl 1:2.5)	4.40	4.30	4.45	4.75	7.15	7.20	7.35	7.50
Calcare tot. %	/	/	/	/	6.0	5.5	37.5	46.7
N (KJ) "	0.161	0.154	0.182	0.140	0.161	0.166	0.130	0.060
C org. "	1.59	1.37	1.35	0.99	1.21	1.24	0.77	/
C/N	9.9	8.9	7.4	7.1	7.5	7.5	5.9	/
humus %	2.74	2.36	2.33	1.71	2.1	2.1	1.5	/
P_2O_5 (HNO_3 conc.) "	0.137	0.094	0.092	0.073	0.102	0.118	0.078	0.034
K_2O ($HCl_{conc.}$) "	0.130	0.160	0.119	0.175	0.267	0.260	0.176	0.125
P_2O_5 (M-P) mg/kg	27	25	21	18	48	46	12	/
P_2O_5 (Olsen) "	58	54	45	37	55	60	58	/
K_2O (M-P) "	64	56	48	58	65	18	25	/
K_2O (da K sc.) "	161	136	149	169	123	151	71	/
Fe (DTPA) "	83	40	160	53	28	27	29	/
Mn "	35	93	58	87	15	12	11	/
Cu "	13	11	15	17	19	11	8	/
Zn "	6	6	5	6	6	4	3	/
C.S.C. meq/100g	17.6	18.1	15.2	16.3	12.5	11.8	9.9	/
Elementi								
K "	0.34	0.29	0.32	0.36	0.26	0.32	0.14	/
Na "	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	/
Ca "	9.60	10.00	12.40	12.40	10.70	10.20	8.62	/
Mg "	2.00	1.60	1.60	1.60	0.80	1.05	1.10	/
stato di satur.								
K %	1.93	1.60	2.11	2.11	2.08	2.71	1.41	/
Na "	0.28	0.28	0.26	0.25	0.32	0.31	0.40	/
Ca "	54.65	55.25	81.58	76.07	85.60	86.44	87.08	/
Mg "	11.36	8.84	10.53	9.82	6.40	8.90	11.11	/



elementi solub. in ac. conc. g/kg

	acalcareo						calcareo					
	N	P	S	K	Ca	Mg	N	P	S	K	Ca	Mg
0	1.62	0.60	0.16	1.08	2.65	1.01	1.61	0.45	0.23	2.22	51.6	2.45
20	1.54	0.41	0.09	1.33	2.93	1.99	1.66	0.52	0.21	2.16	44.3	4.37
40	1.82	0.42	0.13	0.99	2.65	1.22	1.30	0.34	0.17	1.46	103.2	4.85
60	1.40	0.32	0.09	1.45	3.57	2.73	0.60	0.15	0.09	1.04	151.8	5.24

foglie	stadio R_2										stadio R_5									
	%						mg/kg				%						mg/kg			
	N	P	S	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn	N	P	S	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
terr. acalc.	4.31	0.35	0.28	1.96	1.83	0.41	416	130	13	40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
fusto	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3.59	0.30	0.17	2.10	1.89	0.32	545	185	13	60
ramif.											3.59	0.32	0.19	1.93	1.60	0.34	242	219	11	56
terr. calc.	4.53	0.47	0.26	2.11	2.26	0.54	435	197	15	34	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
fusto	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3.22	0.25	0.16	0.58	4.28	0.66	198	161	7	49
ramif.	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2.95	0.31	0.13	1.10	3.13	0.48	218	113	11	45

produz. granella 31-41 q/ha

produz. granella 41-47 q/ha

TABELLA 2. ELEMENTI NUTRITIVI NELLE FOGLIE DI SOIA IN meq/100g DI S.S.

	TERRENO ACALCAREO			TERRENO CALCAREO		
		R5			R5	
	R2	Fusto Princip.	Ramif.	R2	Fusto Princip	Ramif.
NO3-	307.8	256.3	256.3	323.5	229.9	210.6
H2PO4-	11.3	9.7	10.3	15.2	8.1	10.0
SO4=	17.5	8.7	11.8	16.2	10.0	8.1
Cl-	3.1	2.0	2.5	2.5	2.8	2.8
K+	50.2	53.7	49.4	54.0	14.8	28.2
Na+	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5
Ca++	91.3	99.3	79.8	112.8	213.6	156.2
Mg++	33.7	26.3	28.0	44.4	54.3	39.5
Ca / K	1.8	1.9	1.6	2.1	14.4	5.5
Ca / Mg	2.7	3.8	2.9	2.5	3.9	4.0
(Ca+Mg) / K	2.5	2.3	2.2	2.9	18.1	6.9
N / P	27.4	26.4	24.9	21.3	28.4	21.1
N / K	6.1	4.8	5.2	6.0	15.5	7.5
(N+P) / K	6.4	5.0	5.4	6.3	16.1	7.8
P / Ca	0.12	0.10	0.13	0.13	0.04	0.06
(Ca+Mg+K) / (N+S+P)	0.52	0.65	0.57	0.60	1.14	0.98
(Ca+Mg+K+Na) / (N+S+P+Cl)	0.52	0.65	0.56	0.59	1.13	0.97
N : P : K	83: 3:14	80: 3:17	81: 3:16	82: 4:14	91: 3: 6	85: 4:11
K : Ca : Mg	29:52:19	30:55:15	31:51:18	26:53:21	5:76:19	13:70:17

VERONA 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

Determinazione simultanea di umidità, N totale e C organico del terreno mediante spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso (N.I.R.). Primi risultati.

D. Ferri
Istituto Sperimentale Agronomico (M.A.F.) - Via C. Ulpiani, n. 5 - 70125 Bari.

Riassunto

Vengono esaminate le possibilità d'impiego della spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso (N.I.R.) per determinare l'umidità, l'N totale e il C organico del suolo. L'analisi viene effettuata su campioni solidi di terreno essiccati all'aria.

Per ogni costituente del suolo viene individuata un'equazione di calibrazione mediante la regressione multipla che consente di selezionare i campioni da impiegare e il miglior set di lunghezze d'onda (tra le 19 adoperabili con lo strumento in dotazione).

I risultati mostrano una sufficiente accuratezza per il dosaggio dell'umidità del suolo entro un ampio range. Gli errori standard di stima sono leggermente più elevati per N totale e C organico.

Anche se si tratta di primi risultati, sembra comunque possibile impiegare la N.I.R. come metodo di routine, non distruttivo, rapido e attendibile. Ulteriori miglioramenti nella strumentazione consentiranno probabilmente di impiegare la N.I.R. per il dosaggio di altri composti del suolo.

Summary

Near infrared diffuse reflectance spectrophotometry (N.I.R.) was investigated for use in the simultaneous prediction of the moisture, total N, organic C contents of air-dried soils. Calibration equations for each of the soil constituents studied were based upon selection of the best combination of six wavelenghts selected within the 19 filters of spectrophotometer.

The results showed a sufficient accuracy for the measurement of soil moisture within a wide range. Moreover this study sho-

ws it is possible to determine simultaneously total N and organic C, but the standard errors of prediction were increased.
N.I.R. reflectance spectrophotometry may be used in routine soil testing because is a nondestructive, rapid and reliable technique with measurement errors comparable to standard methods. Further improvements in instrumentation and data handling may contribute to widen the applications of N.I.R. spectrophotometry to soil testing.

Introduzione

I valori di umidità, N totale e C organico del terreno rappresentano le determinazioni di base per confrontare tipi di terreno diversi, per le loro caratteristiche pedogenetiche, e per valutare eventuali modifiche nella fertilità chimica dei terreni interessati da interventi agronomici differenziati (ad es.: avvicendamenti colturali, modalità di lavorazione, interramento di residui colturali, concimazioni, irrigazioni) in prove sperimentali di breve o lungo termine.

Proprio in relazione alle prove di lunga durata risulta necessario seguire frequentemente la dinamica dell'N e del C perchè non è prevedibile una sensibile variazione di queste caratteristiche del suolo, ma solo delle variazioni piuttosto modeste, apparentemente casuali ma che possono essere invece spiegate - soprattutto per la sostanza organica - con le recenti teorie microbiologiche di Van Der Linden et al.(1987).

Anche se è indispensabile valutare altri parametri per seguire l'evoluzione della fertilità del terreno (tasso di aggregati, biomassa microbica, N minerale, ecc;), non sono quindi da trascurare le indicazioni fornite da umidità, N totale e C organico, come è raccomandato del resto a livello internazionale (Cottenie, 1980) e a livello nazionale (S.I.S.S., 1985).

I metodi con cui si è proceduto alla determinazione di tali parametri sono stati via via modificati, sia per la preparazione dei campioni che per le tecniche analitiche, allo scopo di accorciare i tempi di analisi senza pregiudicare tuttavia l'accuratezza e la precisione dei rilievi. Analogamente, si è voluta valutare la possibilità di dosare l'umidità, l'N totale e il C organico del terreno mediante la spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso (N.I.R.), direttamente su campioni solidi di terreno essiccato all'aria.

La N.I.R. ha suscitato un notevole interesse e trovato largo impiego per determinare le caratteristiche qualitative dei prodotti agrari (proteina,olio,fibra,umidità,ecc.) in quanto è una tecnica rapida,semplice e non distruttiva, che consente il controllo di un numero elevato di campioni.

Solo dopo alcuni anni e dopo aver verificato la versatilità della metodica, sono state compiute le prime applicazioni alle analisi del terreno (Dalal et al., 1986), basandosi sulle proprietà spettrali dell'acqua, dell'N e del C organico.

Le letture in riflettanza (intensità della luce riflessa/ intensità della luce incidente) nel vicino infrarosso (750 - 2500 nm), associate a transizioni vibro-rotazionali delle molecole, sono rese più complesse nel terreno dalla "riflettanza diffusa", e la scelta delle lunghezze d'onda "ottimali" va pertanto effettuata tramite procedimenti matematico-statistici che richiedono l'impiego di calcolatori.

Materiali e metodi

I campioni di terreno sottoposti ad indagine sono stati prelevati nell'azienda "124" dell'Istituto Sperimentale Agronomico di Bari e hanno la stessa pedogenesi (alluvioni del quaternario antico, classificate come Vertisuoli cromici, secondo la F.A.O. e Typic Chromoxererts,secondo la Soil Taxonomy) e le seguenti caratteristiche: sabbia: 25.9 %; limo: 27.9%;argilla: 46.2%; P_2O_5 assimilabile: 80 p p m (met. Ferrari), N totale: 1.46 g/kg; K scambiabile: 1607 p p m ; S.O.: 2.30 g/100 g di t rreno; C.S.C.: 37 meq/100 g terreno.

Le parcelle dell'azienda in cui sono stati fatti i prelievi hanno "storie colturali" differenti in quanto afferiscono a tre prove sperimentali in corso: a) confronto di differenti rotazioni cerealicolo-industriali nell'ambito del Progetto "Ordinamenti colturali" del M.A.F., in cui le tesi in prova sono costituite da avvicendamenti diversi con due livelli di "input" agronomici;b) influenza di differenti modalità di lavorazione del terreno su resa e proprietà chimico-fisiche del suolo;c)valutazione della dinamica di asportazione dell'N e delle variazioni dell'N minerale del suolo su una rotazione

girasole - frumento duro, in differenti condizioni di fertilizzazione azotata.

I campioni di terreno sono stati prelevati a tre diverse profondità: 0 - 20, 20 - 40, 40 -60 cm. La preparazione dei campioni è stata effettuata secondo le indicazioni della S.I.S.S. (1985) e i campioni essiccati all'aria sono stati passati attraverso un setaccio con maglie di 2 mm.

Il tenore in umidità è stato determinato gravimetricamente in stufa a 105°C fino al raggiungimento del peso costante; l'N totale mediante il metodo Kjeldhal (Bremner, 1965) e il C organico secondo il metodo Walkley - Black (si è preferita la titolazione per via potenziometrica, con un elettrodo di Pt ed un titolatore automatico Mettler, invece della rilevazione ottica mediante l'indicatore difenilammina, che è più soggetta ad errore).

I campioni essiccati all'aria e setacciati a 2 mm venivano sottoposti all'analisi direttamente con lo spettrofotometro N.I.R. della Technicon Italiana (Mod. 450), dotato di 19 filtri ai seguenti valori di lunghezza d'onda: 1445, 1680, 1722, 1734, 1759, 1778, 1818, 1940, 1982, 2100, 2139, 2180, 2190, 2208, 2230, 2236, 2270, 2310, 2348 nm.

Allo spettrofotometro era collegato in serie un P. C. HP 86B al quale afferivano mediante interfaccia i valori dei logaritmi della riflettanza (log R). Mediante una regressione multipla, che consente di selezionare i valori di lunghezze d'onda con cui si ottiene il coefficiente di correlazione più elevato tra analisi "standard" e N.I.R., è stato possibile determinare il miglior "set" di lunghezze d'onda a cui effettuare la lettura dei parametri in esame.

L'equazione cui si perviene è del tipo:

$$Y = a_o + \sum a_i \log R_i$$

dove Y è il valore del parametro in esame determinato con i metodi standard; a_o l'intercetta dell'equazione, a_i i coefficienti dell'equazione corrispondenti alle lunghezze d'onda selezionate; R_i i valori di riflettanza rilevati mediante lo spettrofotometro (generalmente si è operato con un massimo

di 6 filtri, che, come si è detto, vengono selezionati direttamente dal computer).

Risultati e discussione

In tabella 1 si riportano i risultati relativi alle condizioni di lettura N.I.R. derivate per umidità, azoto totale e carbonio organico del suolo, tramite la procedura statistica della regressione multipla tra i logaritmi della riflettanza rilevati con lo spettrofotometro (che affluiscono in tempo reale al computer), ed i valori ottenuti con le analisi convenzionali in laboratorio.

I valori di umidità del terreno possono essere apprezzati tramite N.I.R. molto accuratamente, in quanto il coefficiente di correlazione (R) è il più elevato, significativo a $P = 0.01$ ($F = 565.87$); nell'ordine vengono poi N totale e C organico con coefficienti di correlazione accettabili, anche se inferiori a quello ottenuto per l'umidità.

I motivi delle differenze tra i coefficienti di correlazione di umidità, N totale e C organico, come hanno anche osservato altri AA. (Dalal et al., 1986), sono da attribuire al fatto che gli spettri N.I.R. del suolo mostrano elevate differenze in assorbanza a diversa umidità: vi è, cioè, una sensibilità elevata alle variazioni di umidità del suolo. D'altro canto, però, gli spettri di due campioni di suolo con lo stesso tenore in umidità, ma con differenze considerevoli di C organico, presentano variazioni di assorbanza ridotte. Intermedia infine la sensibilità riscontrata per l'N totale.

Le lievi discrepanze tra i valori dei coefficienti di correlazione multipla (R) da noi rilevati per N totale e C organico e quelli rilevati da altri AA. (Dalal et al., l.c.) sono sicuramente da attribuire alle caratteristiche strumentali dell'apparecchiatura impiegata. Come si è già detto, infatti, quest'ultima è dotata solo di 19 filtri e la selezione, anche se ottimale, viene effettuata solo tra 19 lunghezze d'onda. Sicuramente con una strumentazione dotata di monocromatore, che copre l'intervallo 1100 - 2500 nm (Infralyzer 500 C), con possibilità di selezionare lunghezze d'onda ogni

2 nm, l'individuazione delle λ di lettura è più precisa e di conseguenza le risposte sono più accurate.

Si è convinti, tuttavia, che - data l'elevata variabilità spaziale nel suolo di umidità, N totale e C organico - i rispettivi errori percentuali (che raramente superano il 7%) potrebbero essere accettati, in quanto non sono più elevati di quelli dovuti ai punti di campionamento.

Questa considerazione è inoltre sostenuta dall'osservazione dei parametri statistici delle determinazioni effettuate con i metodi convenzionali (tab. 2): le differenze, rispetto a quelle N.I.R. sia per le deviazioni standard sia per i coefficienti di variabilità sono infatti piuttosto modeste.

Nelle figure 1, 2 e 3 sono stati riportati per ogni parametro in esame i valori determinati tramite N.I.R. contro quelli ottenuti con i metodi standard di laboratorio, rispetto alla "bisettrice" (che rappresenta la lettura ottimale).

In tutto il "range", pur essendo bene equilibrati i valori di umidità (sempre rispetto alla bisettrice) (fig. 1), sembra però che con N.I.R. si sottostimino di poco i suddetti valori, ma nell'intervallo compreso tra il 7 e il 20% di umidità - per i campioni di terreno da noi esaminati -si compie al massimo un errore del 7%.

Nella figura 2 è possibile invece notare che i valori in N totale sono compresi in un range abbastanza ristretto, e che l'errore percentuale più elevato si ha nella zona "bassa" del range e al massimo raggiunge il 10% (in eccesso).

Nella figura 3 infine non si osservano delle variazioni di stima legate al range di campionamento: non vi è infatti una tendenza "netta" a valori bassi del "range" a sovrastimare con N.I.R. il C organico, e a valori alti a sottostimarlo, ma sembra piuttosto che l'errore (in eccesso o in difetto) vada attribuito alla natura dei campioni che, pur non presentando differenze di colore, possono diversificarsi per la distribuzione granulometrica.

Gli errori più elevati registrati nella determinazione del C organico con buona probabilità sono quindi da attribuire

alla "riflettanza diffusa" del campione analizzato, che è ovviamente legata alle diverse dimensioni delle particelle di terreno.

Considerazioni conclusive

La determinazione dell'umidità del suolo mediante la spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso è abbastanza accurata in un range che va dal 7 al 20%. Meno accurate, ma accettabili, appaiono invece le determinazioni di N totale e C organico, anche se si tratta solo di primi risultati, che potranno essere migliorati perfezionando la metodologia sperimentale.

Con la spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso è possibile accorciare i tempi di analisi anche con strumenti non molto complessi, commettendo errori analitici per umidità e N totale confrontabili con quelli dei metodi standard.

A differenza però delle analisi effettuate tramite N.I.R. sui prodotti agrari - in cui le risposte con apparecchiature dotate di 6 o 19 filtri nel vicino infrarosso, sono soddisfacenti - per determinare il tenore in C organico del terreno, occorre dotarsi di strumenti a monocromatore con possibilità di selezionare una vasta gamma di lunghezze d'onda.

Non vi è dubbio, inoltre, che l'accuratezza delle risposte analitiche sul terreno con N.I.R. è in qualche modo influenzata dalla distribuzione granulometrica delle particelle di terreno; in questa prima esperienza si è preferito, comunque, restare il più possibile vicini alle condizioni in cui generalmente si opera per le analisi di "routine" (setacciamento a 2 mm) e non è stato fatto un confronto tra risposte ottenute con terreni setacciati a 2 e a 0.25 mm.

Appare infine evidente, in accordo anche con altri AA. già citati, che con perfezionamenti della strumentazione (tra cui l'impiego della "trasformata di Fourier") si potranno sia minimizzare gli errori nel determinare umidità, N totale e C organico del suolo, sia estendere l'impiego della spettrofotometria per riflettanza nel vicino infrarosso alla determinazione di altri composti nel suolo.

Bibliografia

1) Bremner, J.M. - 1965 - Total nitrogen. In C.A. Black et al. (ed.) Methods of soil analysis, Part 2. Agronomy 9, 1149 - 1178.

2) Cottenie, A. - 1980 - Soil and plant testing as a basis of fertilizer recommendations. F.A.O. Rome pp. 100.

3) Dalal, R.C., Henry, R.J. - 1986 - Simultaneous determination of moisture, organic carbon, and total nitrogen by near infrared reflectance spectrophotometry. Soil Sci. Soc. Am. J. 50, 120 -123.

4) S.I.S.S. - 1985 - Metodi normalizzati di analisi del suolo. Edagricole pp. 87.

5) Van Der Linden, A.M.A., Van Veen, J.A., Frissel, M.J. -1987 - Modelling soil organic matter levels after long term applications of crop residues, and farmyard and green manures. Plant and Soil, 101 (1), 21 - 28.

Tabella 1 - Lunghezze d'onda, costanti di "lettura" e coefficienti statistici nella determinazione dei parametri del suolo in esame con la "W.I.R."

Umidità			N totale			C organico		
K	(nm)	T-test	K	(nm)	T-test	K	(nm)	T-test
10.23 (1)	/	1.33	2.515	/	4.48.	1.095	/	3.10
-491.26	2236	6.38	-79.10	2236	5.61	-134.47	2310	6.44
762.94	2230	4.86	114.29	2270	5.48	198.95	2270	6.31
-411.85	2190	2.80	25.81	1982	8.37	- 51.42	1982	4.97
157.82	1940	16.86	-174.01	1759	5.12	-164.68	1818	4.68
1222.84	1722	4.53	-35.82	1445	6.53	55.63	1940	6.23
-1247.60	1680	4.80	147.76	1680	5.15	93.01	1680	3.78

R	0.9879	0.8143	0.7658
Indice errore sistematico	-7.1133	-1.0735	-3.08
Errore standard	0.4648	0.0678	0.0873
Dev. standard residui	0.4491	0.0652	0.0832
F	565.87 **	24.59 **	13.94 **

(1) - Intercetta dell'equazione di regressione.

Tabella 2 - Confronto di parametri statistici di base di Umidità, Azoto totale e Carbonio organico ottenuti tramite N.I.R. o valutati con i metodi convenzionali (su terreno t.q.)

	Umidità		N totale		C organico	
	N.I.R.	Gravim.	N.I.R.	Kjeldahl	N.I.R.	Walkley-Black
Media	12.62	12.62	1.249	1.249	1.06	1.05
Dev. stand.	2.86	2.89	0.0915	0.112	0.145	0.1298
C.V.	22.63	22.90	7.33	8.97	13.65	12.40

FIG. 1

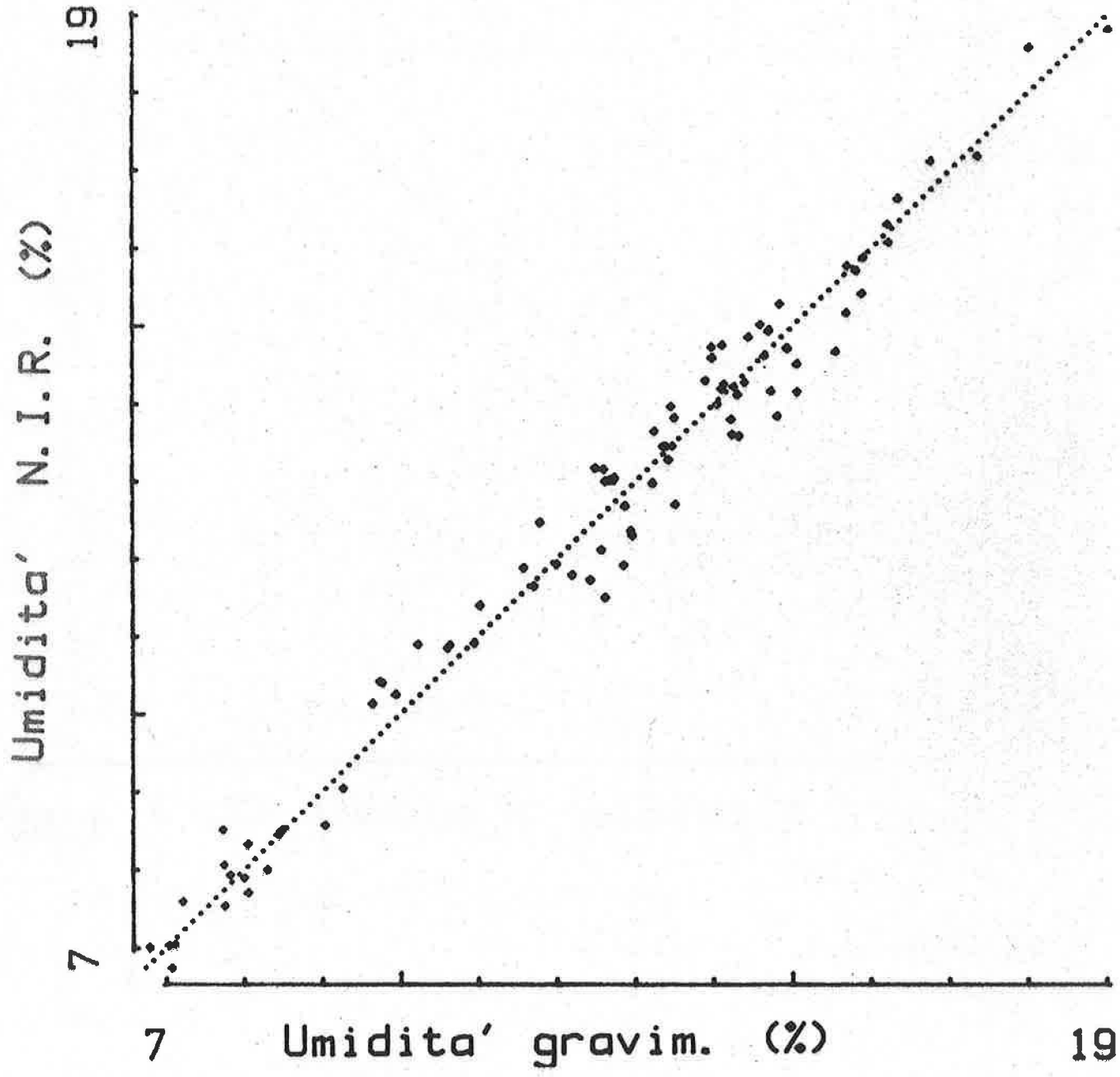


FIG. 2

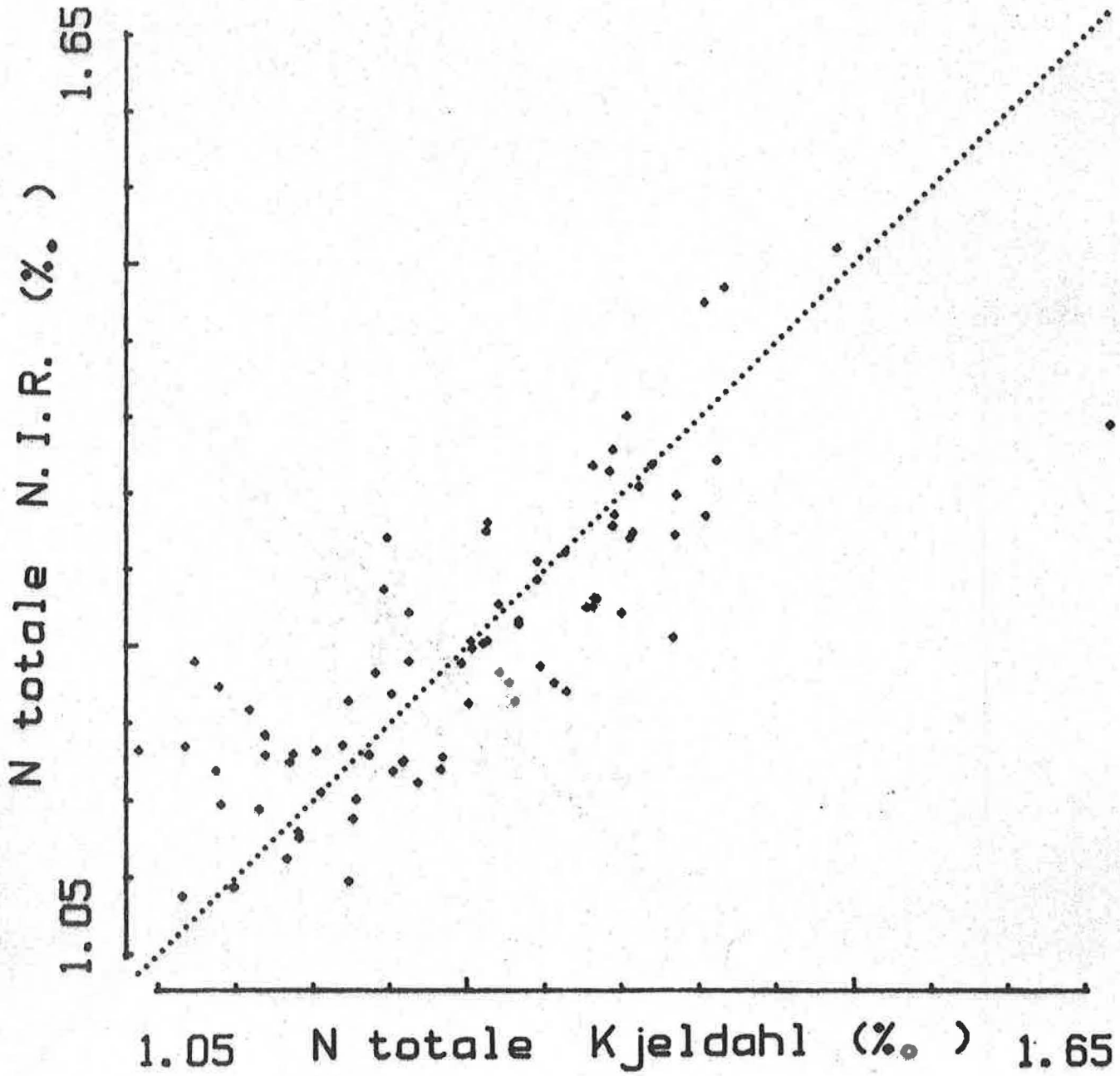
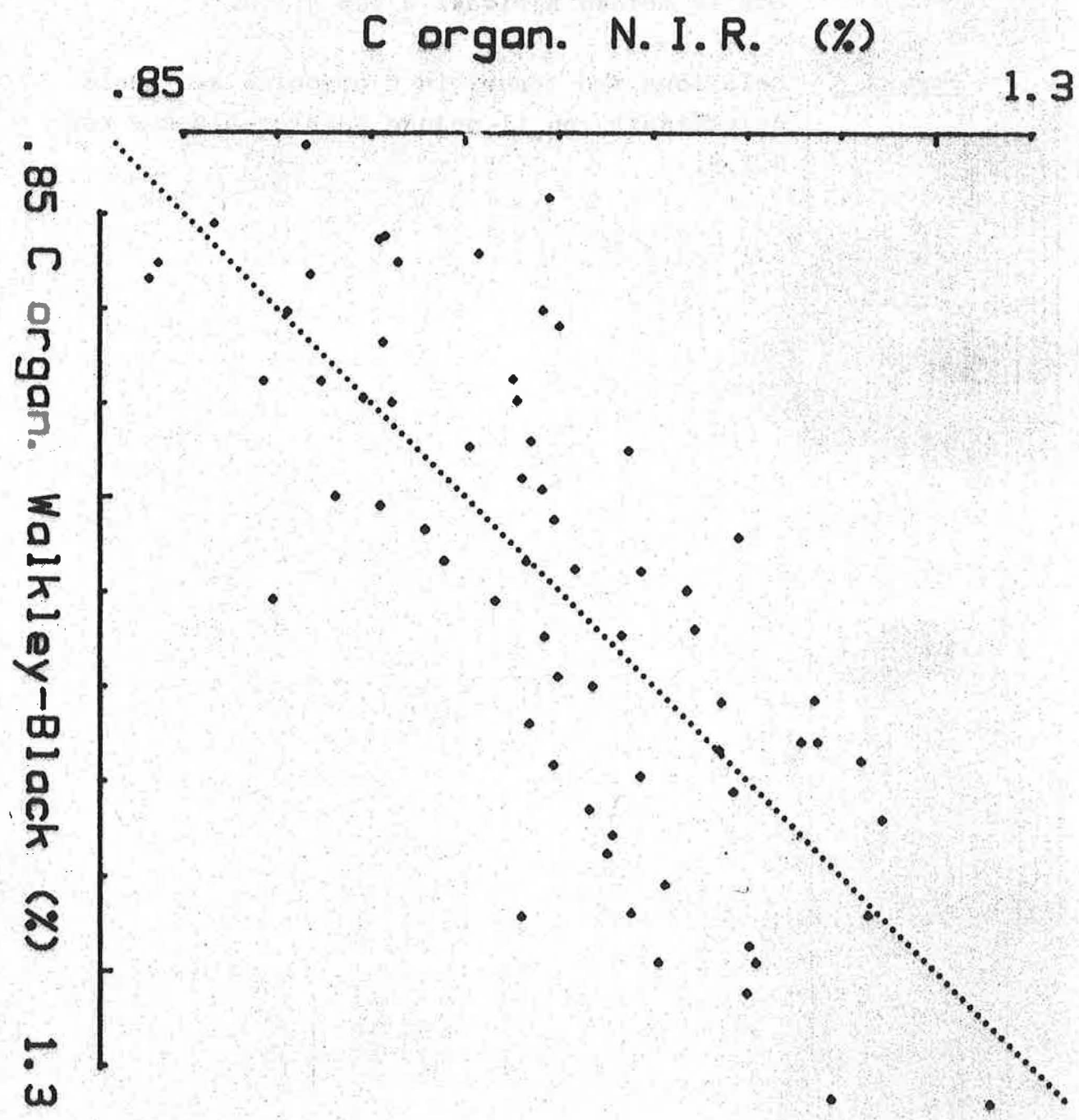


FIG. 3



Didascalie delle figure

Figura 1 - Relazione tra tenori in umidità del suolo determinati per via gravimetrica e tramite N.I.R.

Figura 2 - Relazione tra N totale del suolo determinato con il metodo Kjeldahl e con N.I.R.

Figura 3 - Relazione tra tenori in C organico del suolo determinati con il metodo Walkley-Black e con N.I.R.

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

CARATTERIZZAZIONE CROMATOGRAFICA DELLA SOSTANZA ORGANICA DEL SUOLO ESTRATTA TRAMITE EUF

Sabino Aurelio Bufo
Istituto di Chimica Agraria, Università di Bari,
via Amendola 165/A, 70126 Bari

RIASSUNTO

Viene caratterizzata la sostanza organica estratta tramite elettro-ultrafiltrazione (EUF) da suoli meridionali usando cromatografia liquida ad alta efficienza. Vengono riferite anche informazioni su: analisi elementare, analisi dei principali gruppi funzionali, rapporto E_4/E_6, spettroscopia UV, di fluorescenza ed FT-IR. I dati cromatografici hanno rivelato nella maggior parte dei casi due frazioni relative a due distribuzioni molecolari. I dati chimici e spettroscopici hanno mostrato una buona sovrapposizione con quelli di acidi fulvici riscontrabili in letteratura.

SUMMARY

Organic matter extracted by electro-ultrafiltration (EUF) from southern Italy soils was characterized by high performance liquid chromatography, elemental analysis, functional group determination, E_4/E_6 ratio, UV, fluorescence and FT-IR spectroscopy. HPLC showed the presence of two fractions in most of cases. Chemical and spectroscopy data indicate that organic matter extracted by EUF has the same properties of fulvic acids.

1. INTRODUZIONE

L'Elettro-ultrafiltrazione (EUF) fu sviluppata da Bechold nel 1925[1] per la purificazione delle sospensioni colloidali. Più tardi fu adattata da Köttgen e Diehl[2,3] al fine di determinare la disponibilità di "elementi nutritivi" nel terreno, evitando così l'uso di estraenti chimici. In seguito fu ripresa e perfezionata da Németh[4-6] il quale ne ha fatto una metodica di routine utilizzata da diversi laboratori in Europa.

La tecnica, oltre che di grande utilità nella diagnosi di fertilità dei terreni, offre la possibilità di diverse applicazioni nello studio delle caratteristiche chimiche del suolo e dei processi che influenzano la nutrizione delle piante[7,8].

L'EUF è stata introdotta in Italia da Bufo e coll. nel 1984[9] ed il suo uso è stato approfondito negli anni successivi[10-15] ed esteso alla caratterizzazione del comportamento dinamico di alcuni elementi nel terreno[16-19].

Tutta la bibliografia sull'argomento, però, prende in esame la frazione minerale estratta e nulla dice su quella organica che pure ha grande importanza nella definizione delle caratteristiche chimiche e chimico fisiche di un terreno oltre ad essere fondamentale per la crescita delle piante.

Applicando una differenza di potenziale ad una sospensione di terreno in acqua, infatti, al catodo migrano i cationi ed all'anodo gli anioni, ma insieme a questi ultimi migrano anche i colloidi minerali ed organici a carica negativa (intera o frazionaria). Nella cella EUF (fig.1) vengono adagiati sugli elettrodi filtri a membrana a porosità nota (a taglio conico) ed una depressione controllata consente di filtrare la sospensione, spostando continuamente gli equilibri che si instaurano nel sistema. Di conseguenza, la matrice viene sollecitata a reintegrare le concentrazioni delle specie allontanate durante l'estrazione. Le particelle colloidali di maggiore ingombro vanno a depositarsi sulla superficie della membrana filtrante mentre quelle più piccole la attraversano e possono essere raccolte nelle frazioni anodiche.

Al contrario di quanto avviene nell'elettrodialisi, durante l'estrazione EUF, per via di una vigorosa agitazione all'interno della cella (2700 rpm), il pH della sospensione rimane costante. Questo è molto importante in quanto la concentrazione idrogenionica esercita una grande influenza sulla velocità di desorbimento e di solubilizzazione dei costituenti sia organici sia inorganici.

Durante il processo elettrolitico i cationi eventualmente adsorbiti sui colloidi organici o minerali abbandonano i siti di adsorbimento per migrare al catodo e qui sono allontanati dalla cella per ultrafiltrazione. Pertanto le molecole organiche possono migrare più velocemente ed in maggiore quantità all'anodo. All' interfaccia esse saturano le proprie cariche negative con ioni H^+ sviluppatisi per elettrolisi acida dell'acqua e vengono allontanate per ultrafiltrazione e raccolte nell'eluato anodico. Solo la frazione organica solubile in forma acida e di ingombro molecolare compatibile con la porosità della membrana viene separata dalla sospensione. La caratterizzazione cromatografica di detta frazione è oggetto di studio in questo lavoro.

2. MATERIALI E METODI

L'indagine è stata condotta su campioni di terreni meridionali: AS, un Alfisuolo (Rhodoxeralf), "Terra rossa" argillosa di Castellana e VS, un Vertisuolo calcareo appenninico, sabbioso-limoso, contenenti rispettivamente 2,9% e 3,7% di carbonio organico.

Le proprietà chimiche e chimico-fisiche dei terreni esaminati sono riferite nella tabella 1 come valori medi di tre ripetizioni.

Tabella 1. Caratteristiche dei terreni esaminati

Suolo		AS		VS	
		Media	Err.St.	Media	Err.St.
Sabbia	%	32,1	2,79	45,8	3,20
Limo	%	29,5	2,12	24,0	0,76
Argilla	%	38,2	5,03	30,2	3,35
$CaCO_3$	%	-	-	-	-
Carbonio org.	%	2,77	0,36	3,72	0,98
N tot.	%	0,12	0,01	0,26	0,01
CEC	me%	25,7	0,94	27,7	0,89
pH H_2O		7,39	0,05	7,47	0,07
pH 0,01M $CaCl_2$		7,18	0,05	7,33	0,08
pH 1M KCl		7,20	0,12	7,36	0,08
E.C. mS		0,46	0,08	1,11	0,48
Minerali argillosi		I-Mi+++ K+++		V+++; I-Mi+;	K+++ (M)

I = Illite; K = Caolinite; M = Montmorillonite; Mi = Mica; V = Vermiculite espansa

5g di terreno di ciascun campione setacciato ad 1mm, sono stati sospesi in 50 ml di acqua in una cella per ultrafiltrazione, munita di elettrodi di platino e di filtri in acetato di cellulosa (cut off 20.000 Dalton).

Agli elettrodi è stato applicato un campo elettrico di 44 V cm^{-1}. L'apparecchiatura usata è dotata di un sensore capacitivo di livello che controlla l'apertura di una elettrovalvola e comanda le eventuali integrazioni di acqua nella cella perchè il volume della sospensione rimanga costante. Le condizioni di estrazione sono riferite nella tabella 2.

Tabella 2. Condizioni di estrazione

Estrazione	Frazioni (ogni 5 min.)	Temp. (°C)	DDP max. (Volt)	Corr. max. (mA)
EUF_1	3	20°C	200	15
EUF_2	3	80°C	200	150
EUF_3	3	80°C	200	150
EUF_0	3	80°C	0	0

Le estrazioni indicate con EUF_1 ed EUF_2 sono state condotte in successione sulla stessa sospensione, mentre EUF_0 ed EUF_3 sono state condotte su altre due sospensioni dello stesso campione. In tutte le estrazioni sono stati mantenuti valori di depressione anodica e catodica rispettivamente di -0,6 e -0,4 bar.

Le estrazioni sono state ripetute tre volte per poter

disporre di una maggiore quantità di materiale organico.

Tutti gli estratti sono stati liofilizzati e ripresi in maniera differente in funzione delle prove analitiche da effettuare.

Poichè gli estratti anodici sono acidi (pH 3-4), sono state condotte prove di solubilità riprendendo il liofilizzato con acqua distillata e correggendo il pH a valori interi compresi tra 4 e 9 con soluzioni diluite di NaOH (da 0,001 a 0,1 N).

Gli spettri UV (190-320 nm) ed il rapporto E_4/E_6 sono stati registrati riprendendo il liofilizzato con $NaHCO_3$ 0,05 M.

Per l'estratto liofilizzato AS-EUF_3 a 5', ripreso con acqua distillata e pH corretto a 4, è stato registrato lo spettro di fluorescenza sia leggendo a 520 nm l'emissione eccitata con radiazioni da 230 a 510 nm (fig.2) sia fissando la radiazione di eccitazione a 360 nm e leggendo l'emissione ottenuta tra 380 e 550 nm (fig.3).

Di AS-EUF_3 a 5' è stato registrato anche lo spettro FT-IR in disco di KBr (0,5 mg/150 mg di KBr) su 16 scansioni con detector TGS (fig.4).

Sullo stesso estratto sono stati determinati C,H,N e S per via pirolitica, utilizzando analizzatori specifici Leco, l'ossigeno è stato ottenuto per differenza. L'acidità totale ed i gruppi carbossilici sono stati determinati secondo Schnitzer e Khan[20], l'OH fenolico per differenza (tabelle 3 e 4).

L'analisi elementare, gli spettri di fluorescenza ed FT-IR sono stati confrontati con quelli ottenuti da un campione di acido fulvico estratto da una "Terra rossa" e fornito dal Prof. N.Senesi (trattasi del campione FA indicato con la lettera "e" nel riferimento 21).

Gli estratti EUF e quello chimico FA, sono stati quindi analizzati in HPLC utilizzando una colonna SHODEX S804/S (gel solfonati) da 25 cm, diametro interno 8 mm, limite di esclusione $5x10^5$ Dalton, acqua distillata a 1 ml m^{-1} come fase mobile, detector UV fissato a 210 nm.

Tabella 3. Analisi elementare

	C	H	O	N	S	ceneri
	% di materiale privo di ceneri					%
AS-EUF_3,5'	55,40	5,65	33,06	4,74	1,12	30,2
FA	40,14	6,35	46,77	3,94	2,80	17,7

Tabella 4. Gruppi funzionali

	Acid. tot.	COOH	OH
	(me g^{-1} di sost. secca priva di ceneri)		
AS-EUF_3,5'	12,10	5,40	6,70
FA	6,20	2,83	3,37

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

Dati caratteristici

Tutti gli estratti sono risultati solubili ai valori di pH testati. Il rapporto E_4/E_6 è risultato variabile in un intervallo compreso tra 5,7 e 7,8. I massimi di assorbimento UV si sono attestati intorno ai 210 nm.

Gli spettri di fluorescenza in eccitazione dell'estratto EUF a 5' e dell'acido fulvico preso per confronto sono risultati molto simili, infatti, entrambi hanno evidenziato un massimo a 388 nm e picchi secondari a 357, 438 e 464 nm.

In tabella 5 vengono confrontate le bande di assorbimento nell'infrarosso del campione EUF e di quello estratto con mezzi chimici.

Tabella 5. Selezione delle bande di assorbimento IR[22-24]

Frequenza (cm^{-1})	Interpretazione	Intensità delle bande EUF	FA
3420-3400	OH, H-legato, NH, NH_2 associati	L,I	L,I
3000-2920	Stiramento di C-H alif. in CH_2 e CH_3	M	M
1730-1720	Stiramento di C=O, di COOH e chetoni	I	D
1650-1630	Stiramento asimmetrico in COO^-, C=C arom., C=O H-legato, C=O di chinoni o in coniugazione con alcheni	D	I
1560-1540	C=C aromatico o deform. di N-H in ammidi II	S,M	S,M
1420-1320	Deform. di C-H alif., deform. di OH, stiram. di C-O in gruppi fenol., stir. simmetrico di COO^-	M	I
1270-1220	Deformazioni di CH_2 alif.,		
1160-1120	stir. di C-O, deform.di OH in COOH	D	I
1100-1060	Stir. di C-O in polisaccaridi o vibrazioni Si-O in impurezze di Silice	L,I	L,I
890-600	Deformazioni di CH arom. stir. di OH e C-O in gruppi vari.	I	M

I=intensa, M=media, D=debole, L=Larga, S=stretta

La banda tra 1730 e 1720 (principalmente C=O di COOH), è molto più intensa nello spettro della sostanza organica estratta via EUF rispetto a quella di FA, contemporaneamente in quest'ultimo è più intensa la banda tra 1650-1630 (COO^-). Tale evidenza potrebbe indicare una conversione dei gruppi

COOH in COO^-, a cui sono legati ioni o gruppi ionici positivi che mancano nell'estratto anodico EUF.

Cromatogrammi

Tutti i cromatogrammi degli estratti anodici EUF da AS mostrano due picchi (fig.5) relativi a due diverse distribuzioni molecolari. In ciascuna estrazione le aree dei picchi (tabella 6) sono massime nelle frazioni a 5' e vanno diminuendo nelle successive, nello stesso tempo aumenta il rapporto tra l'area del picco della distribuzione a più basso peso molecolare (R_F=4,50) e quella relativa alla distribuzione a più alto peso molecolare (R_F=5,50).

Nelle estrazioni catodiche sia a 20°C che a 80°C compare solo il picco a 4,50 mentre ambedue i picchi compaiono nelle estrazioni in assenza di campo elettrico ad 80°C. Ciò sta ad indicare che, in questo terreno, il potenziale applicato è in grado di orientare solo le molecole a basso ingombro, mentre quelle ad alto ingombro vengono estratte principalmente per effetto della ultrafiltrazione. Inoltre poichè ad 80°C le aree dei picchi sono sempre maggiori di quelle ottenute per le estrazioni a 20°C, l'effetto della temperatura risulta più evidente di quello del potenziale elettrico.

Tabella 6. Aree dei picchi cromatografici relativi ad AS-EUF (estratti anodici)

	EUF_1			EUF_2			EUF_3			EUF_o		
R_F (min.)	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'
4,40	5	3	2	10	5	2	15	7	3	7	5	2
5,50	4	3	2	6	5	3	8	6	4	6	5	3

Tabella 7. Aree dei picchi cromatografici relativi a VS-EUF (estratti anodici)

	EUF_1			EUF_2			EUF_3			EUF_o		
R_F (min.)	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'	5'	10'	15'
4,40	9	-	-	36	32	16	42	33	14	7	6	5
4,50	5	-	-	-	-	-	-	-	-	9	7	6
4,70	-	-	-	5	-	-	8	-	-	2	-	-
4,85	-	-	-	7	-	-	7	-	-	2	-	-
7,40	-	-	-	4	3	2	9	6	2	-	-	-

L'indagine sul VS ha evidenziato nelle frazioni anodiche a 5' degli estratti a 80°C (tabella 7), la presenza di 4 distribuzioni molecolari (R_F= 4,40; 4,70; 4,85; 7,40), i picchi a più alto valore di R_F tendono a scomparire nelle frazioni successive. L'estratto anodico a 20°C e a 5' mostra due piccoli picchi relativi a due distribuzioni molto vicine (R_F=4,40 e 4,50), di cui quella con tempo di ritenzione più

alto non è rilevabile nelle estrazioni a 150mA ma solo in quella a potenziale nullo. Negli estratti catodici non si notano picchi cromatografici: in questo caso dunque il campo elettrico applicato ha avuto un evidente effetto di orientamento all'anodo delle molecole organiche.

L'estrazione di sostanza organica è risultata maggiore in EUF_3; posta uguale a 100 la sommatoria delle aree dei picchi riscontrabili in tutte le frazioni EUF_3, il valore relativo delle sommatorie riferite alle altre estrazioni risulta: EUF_1=11; EUF_2=87; EUF_0=36; EUF_1+EUF_2=98. L'effetto della temperatura è notevole, infatti, passando da EUF_1(20°C) a EUF_2 (80°C) l'efficienza dell'estrazione aumenta di otto volte; anche l'effetto del potenziale applicato è rilevante e da EUF_0 a EUF_3 l'efficienza dell'estrazione aumenta di 2,7 volte.

Il cromatogramma relativo all'estratto fulvico FA ha evidenziato due distribuzioni molecolari: il picco a tempo di ritenzione più basso (R_F=4,16) è relativo ad una distribuzione di molecole di maggior ingombro rispetto a quello evidenziato negli estratti EUF, mentre il picco a tempo di ritenzione maggiore (R_F=4,76) è riscontrabile anche in questi ultimi estratti.

4. BIBLIOGRAFIA

1] Bechold H.- Elektro-Ultrafiltration .Z.Elektrochem. Angew. Phys. Chem.31,496-498,1925.

2] Kottgen P.,Diehl R.-Uber die anwendung der dialyse und Elektro-Ultrafiltration zur bestimmung des nahrstoffbedurfnisses des bodens.Z. Planzenernahr.,Dung., Bodenkd. A14,65-105,1929.

3] Kottgen P.- Die bestimmung der leichtlosilichen nahrstoffe durch elektrischen gleichstrom. Ein hilfsmittel zur ermittlung der fruchtbarkeitsveranlagung unserer kulturboden. Z. Plflanzenernahr.,Dung.,Bodenkd, 29 A, 275-290,1933.

4] Németh K.-The determination of desorption and solubility rates of nutrients in the soil by means of electro-ultrafiltration (EUF). Proc. 9th Colloq.,Int. Potash Inst. 3-12,1972

5] Németh K. - Die effektive und potentielle Nahrstoffverfugbarkeit im Boden und ihre Bestimmung mit Elektro-Ultrafiltration (EUF). Habilitationsschrift, Universitat GieBen. 1976

6] Németh K. -The availability of nutrients in the soil as determined by electro-ultrafiltration (EUF). Adv.Agron. 31,155-187, 1979

7] Németh K.-Application of electro-ultrafiltration (EUF) in agricultural production.Plant and soil 64, 138, 1982

8] Németh K.-Application of electro-ultrafiltration (EUF) in agricultural production. Plant and soil 83, 205, 1985

9] Bufo S.A., Monaco G.A.M., Pizzigallo M.D.R. e Testini C.- Valutazione della disponibilità degli elementi nutritivi tramite EUF, prove preliminari.V Convegno della Società

Italiana di Chimica Agraria. Perugia 27-29 Settembre 1985
10]Bufo S.A., Buondonno A., Pizzigallo M.D.R. e Testini C.- Cinetica di desorbimento del fosforo determinata in EUF su suoli tipici dell'Italia meridionale. Convegno "Fertilità del suolo e nutrizione delle piante". Sorrento 6-8 Maggio 1987
11]Bufo S.A., Buondonno A., Pizzigallo M.D.R. e Testini C.- Cinetica di desorbimento del K determinata in EUF su tre suoli meridionali Convegno "Fertilità del suolo e nutrizione delle piante". Sorrento 6-8 Maggio 1987.
12]Buondonno A., Felleca D., Bufo S.A. - Applicazione dell'elettro-ultrafiltrazione (EUF) nella diagnosi della fertilità dei suoli. II-Riproducibilità di alcune determinazioni di potassio. Convegno " Fertilità del suolo e nutrizione delle piante" Sorrento 6-8 Maggio 1987
13]Buondonno A., Felleca D., Bufo S.A., Pizzigallo M D.R. e Testini C.- Primi accertamenti delle frazioni di potassio di alcuni suoli dell'Italia meridionale secondo il metodo dell'elettro-ultrafiltrazione (EUF). Convegno "Fertilità del suolo e nutrizione delle piante". Sorrento 6-8 Maggio 1987
14]Buondonno A., Felleca D.- Applicazione della elettro-ultrafiltrazione (EUF) per l'estrazione frazionata del pool dei fosfati del suolo. Indagine preliminare. Convegno "Fertilità del suolo e nutrizione delle piante", Sorrento 6-8 Maggio 1987
15]Buondonno a., Felleca D., Bufo S.A., Pizzigallo M.D.R. and Testini C.-Comparison between electro-ultrafiltration and extraction methods for the determination of K fractions in some soils of Southern Italy, Comm. in Soil Sci. Plant Anal. 19, 239-258, 1988
16]Bufo S.A, Buondonno A., Pizzigallo M.D.R.- EUF-K desorption from alfisol and volcanic inceptisol as influenced by temperature and potassium addition . 3th EUF Symposium. Mannheim West Germany, 30-31 May 1988
17]Buondonno A., Bufo S.S., Pizzigallo M.D.R. and Felleca D. -Kinetics of posphorus release from Italian alfisol and volcanic inceptisol as influenced by phosphate additions to soil and by temperature. 3th EUF Symposium. Mannheim West Germany, May 30-31 1988
18]Pizzigallo M.D.R., Scrano L.,Bufo S.A.- Applicazione dell'elettro-ultrafiltrazione per la caratterizzazione dei nutrienti del suolo. Chemioforum '88, Gallipoli 1-4 Giugno 1988
19]Bufo S.A., Pizzigallo M.D.R., Magnifico V. and Cecca N.- Monitoring of soil nitrate residues by electro-ultrafiltration (EUF). 1st Soil Residue Analysis WorKshop, Winnipeg, Manitoba Canada , August 8-10, 1988
20]Schnitzer M. e Khan S.U.-Humic substances in the environment. Marcel Dekker, New York 1972
21]Chen Y.,Senesi N. and Schnitzer M.-Chemical and phisical characteristics of humic and fulvic acids extracted from soils of the mediterranean region. Geoderma, 20, 87-104, 1978
22]Bellamy L.J.- Infra-red spectra of complex molecules.

Wiley, New York, N.Y., 425 pp, 1966.
23]Stevenson F.J. and Goh K.M.- Infrared spectra of humic acids and related substances. Geochimica et Cosmochimica Acta 35, 471-483, 1971
24]Dkhar G.D.,Presad B. and Sinha M.K.-Characterization of humic and fulvic acids of forest and cultivated soil.J. Indian. Soc. Soil Sci. 34, 29-37, 1986

FIGURE

Fig.1 Cella per elettro-ultrafiltrazione

Fig.2 Spettro di fluorescenza per AS-EUF_3, 5'ed FA: eccitazione 230-510nm, emissione fissa a 520nm

Fig.3 Spettro di fluorescenza per AS-EUF_3, 5'ed FA: emissione 380-550nm, eccitazione fissa a 360nm

Fig.4 Spettri di assorbimento FT-IR per AS-EUF_3, 5' ed FA

Fig.5 Cromatogrammi relativi ai campioni AS-EUF_1 a 5' e 10'

fig. 1

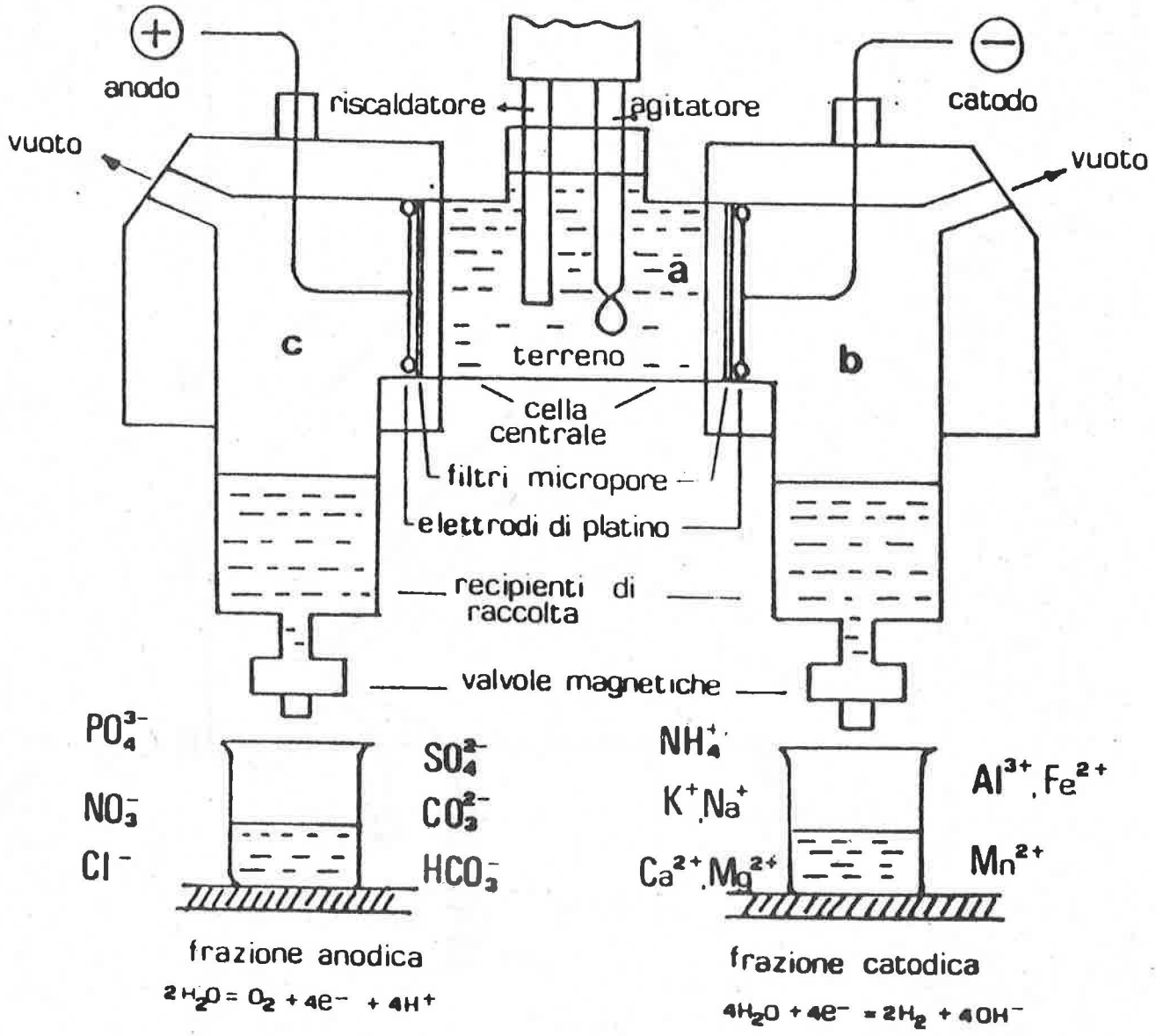

anodo
riscaldatore
agitatore
catodo
vuoto
vuoto
a
c
terreno
b
cella centrale
filtri micropore
elettrodi di platino
recipienti di raccolta
valvole magnetiche
PO_4^{3-}
NO_3^-
Cl^-
SO_4^{2-}
CO_3^{2-}
HCO_3^-
NH_4^+
K^+, Na^+
Ca^{2+}, Mg^{2+}
Al^{3+}, Fe^{2+}
Mn^{2+}
frazione anodica
$2H_2O = O_2 + 4e^- + 4H^+$
frazione catodica
$4H_2O + 4e^- = 2H_2 + 4OH^-$

FIG. 2

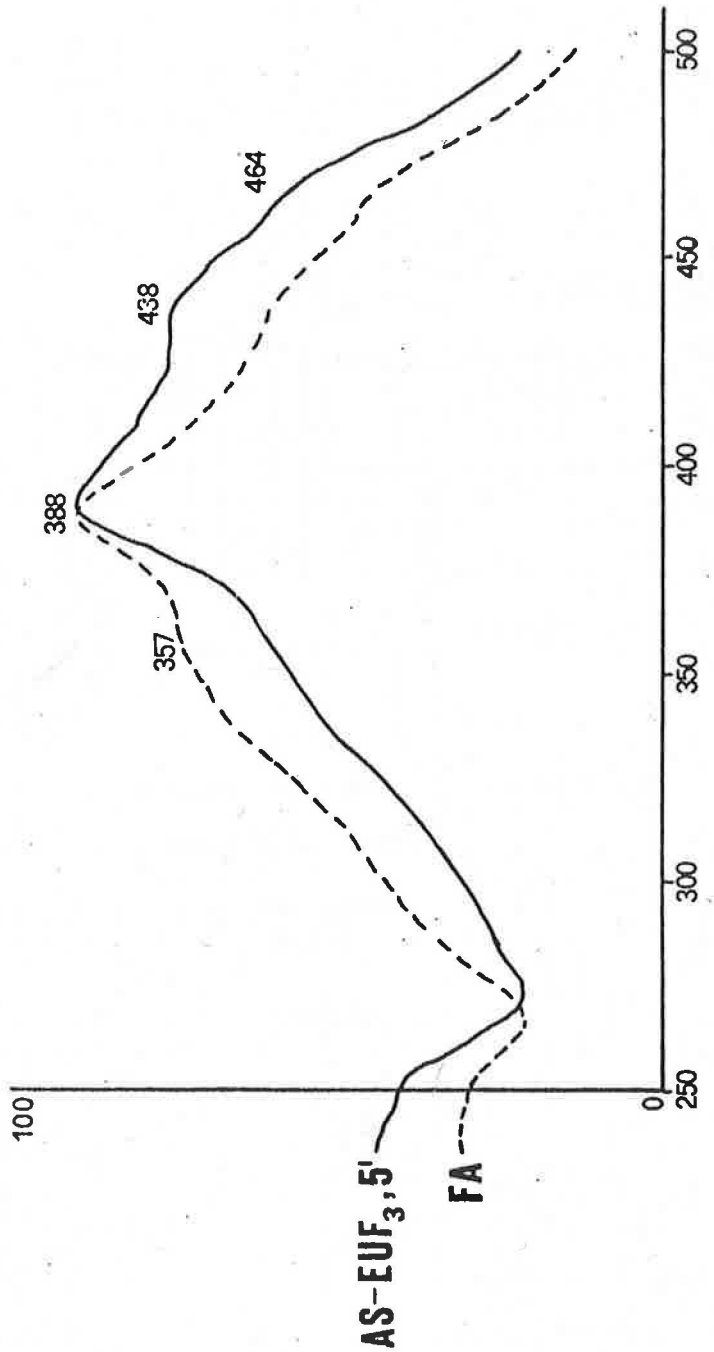


FIG. 3

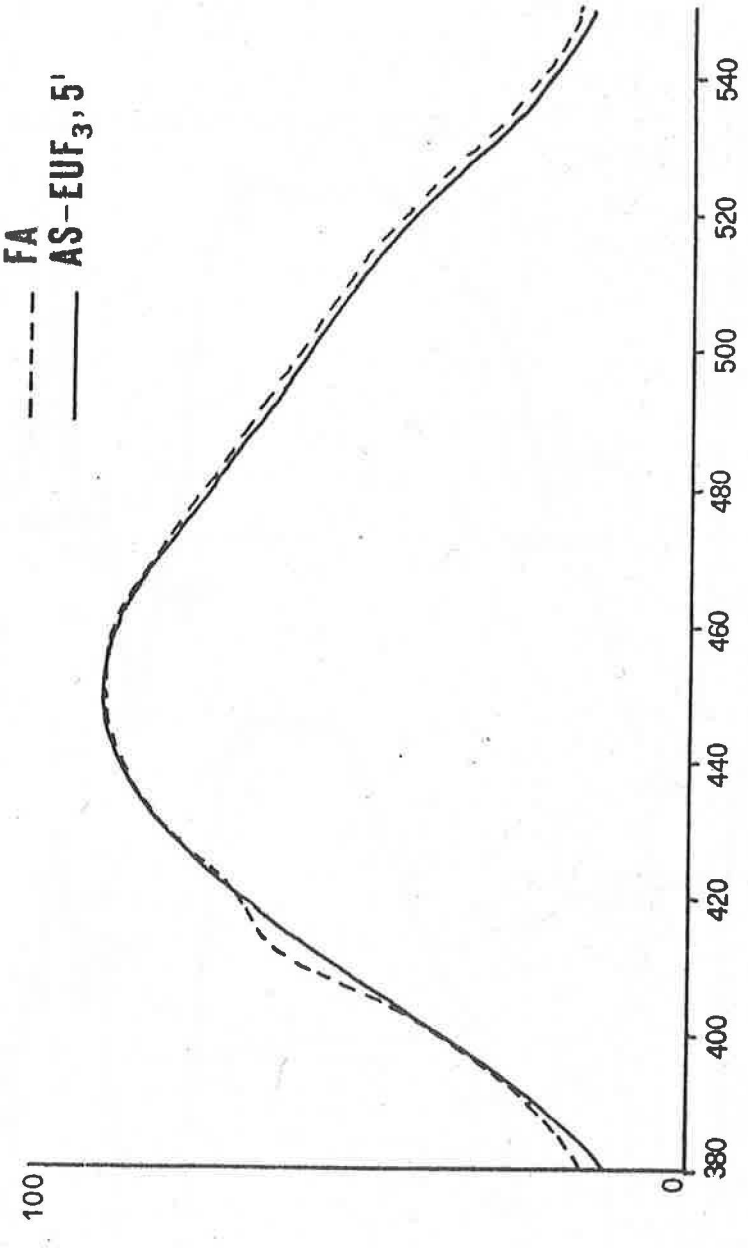
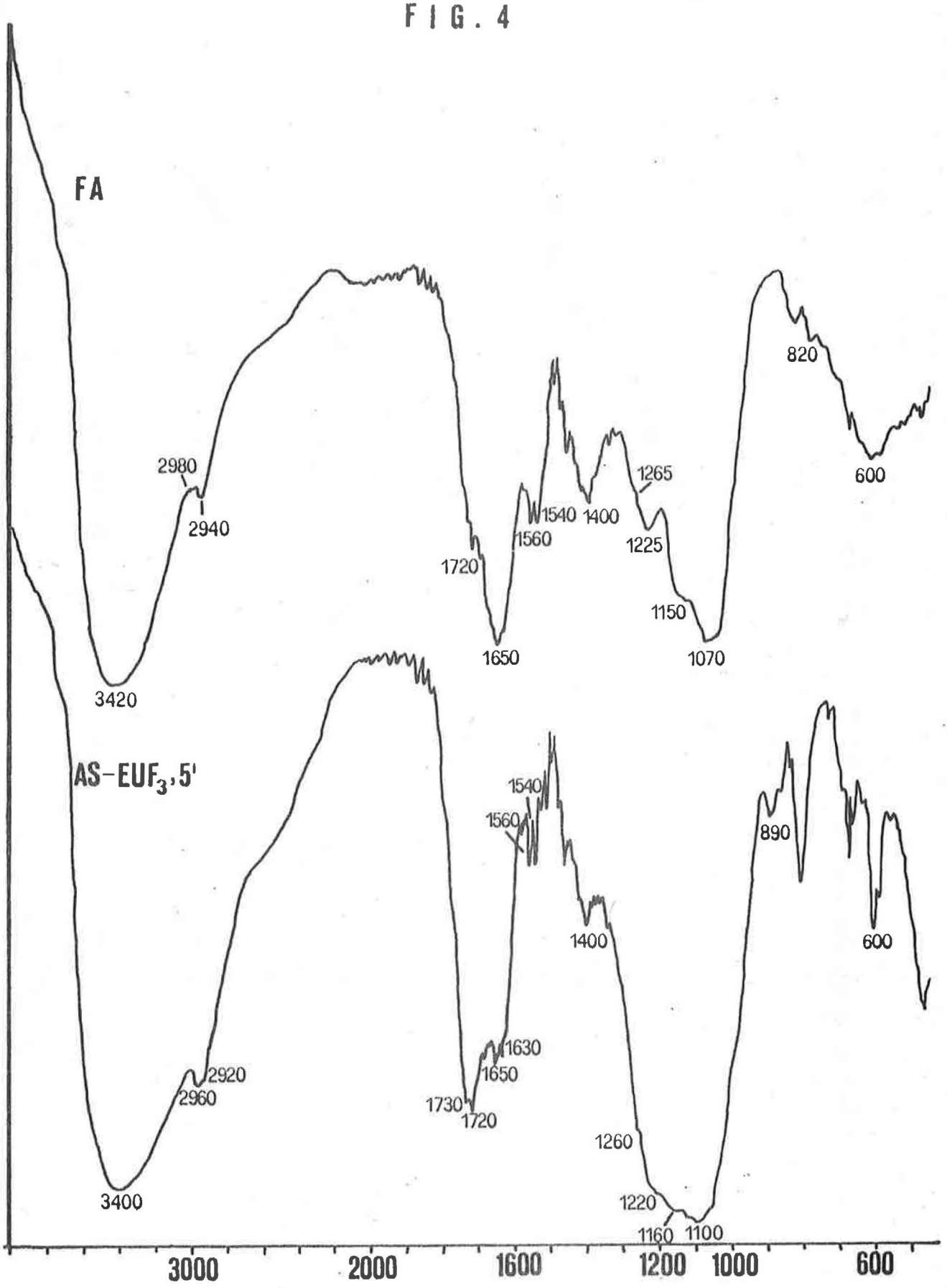


FIG. 4


FA
2980
2940
3420
1720
1650
1560
1540
1400
1265
1225
1150
1070
820
600
AS-EUF3,5'
3400
2960
2920
1730
1720
1650
1630
1560
1540
1400
1260
1220
1160
1100
890
600
3000
2000
1600
1200
1000
600

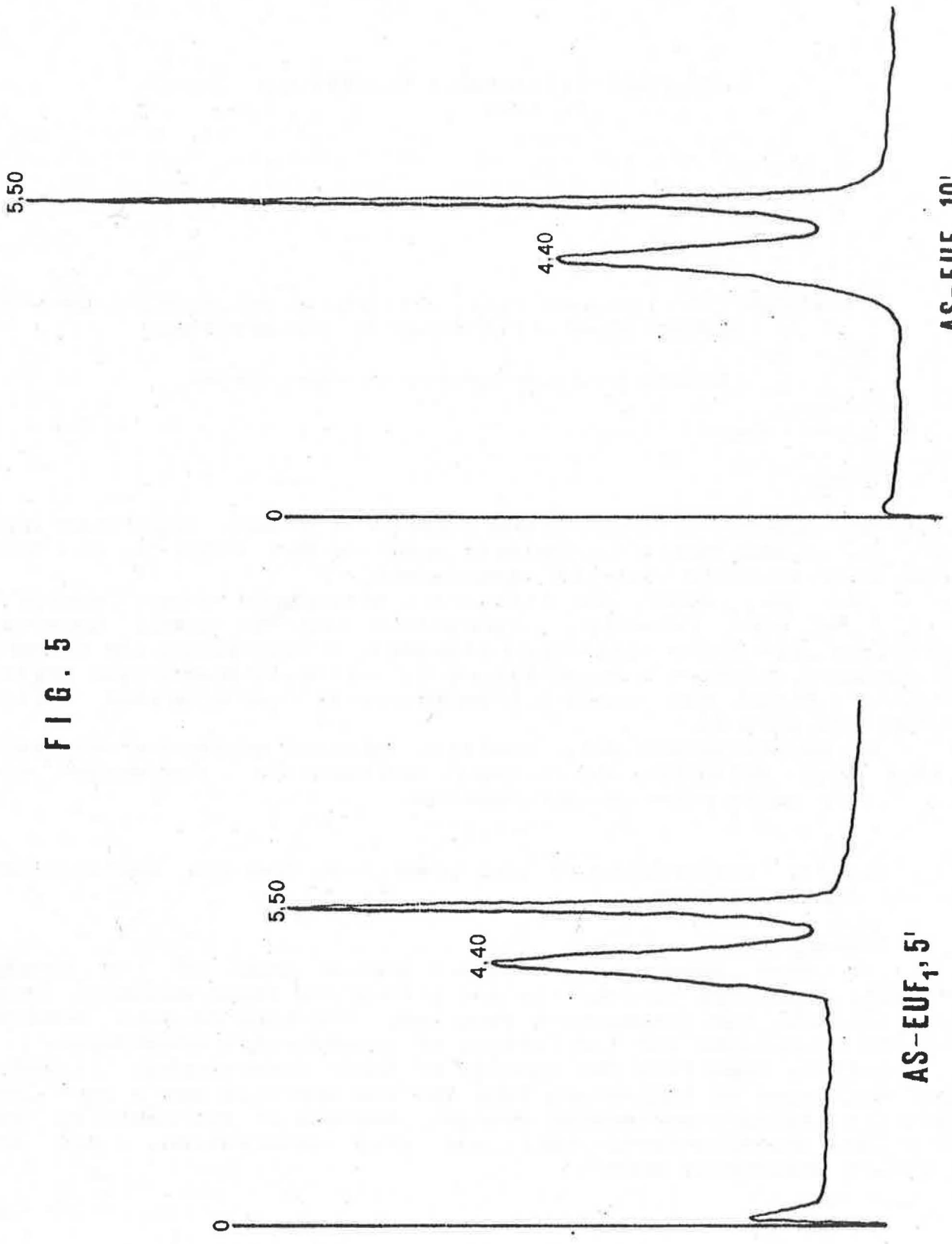


FIG. 5

Verona 1988

ISTITUTO SPERIMENTALE AGRONOMICO
BARI

LA VARIABILITA' SPAZIALE DELLE PROPRIETA' DEL SUOLO E LA SUA APPLICAZIONE NELLE RICERCHE AGRONOMICHE.

Annamaria Castrignanò, Giacomo Lopez

Sunto

In questo articolo viene esposto il metodo geostatistico per lo studio della variabilità spaziale del suolo e la sua applicabilità nelle ricerche agronomiche.

Gli AA., dopo aver illustrato brevemente alcuni esempi, frutto di loro ricerche, concludono che la nuova tecnica analitica, più della statistica classica, è indispensabile quando si desidera valutare e quantificare la variabilità spaziale delle caratteristiche del suolo e l'influenza di quest'ultime sulla produzione agraria.

La geostatistica può, inoltre, giocare un importantissimo ruolo nel definire uno schema sperimentale razionale da utilizzare nelle ricerche agronomiche.

Spatial variability of soil properties and its application in agronomic recearch.

Summary

In this paper, the Authors present some of the basic concepts of spatial variability and illustrate their meaning. They also discuss the assumptions involved, the type of data needed and the advantages and limitations of geostatistic procedures.

After reporting the results of their experimental trials, the AA. come to conclusion that the new approach has a part to play in field experimental design, because of its ability to describe quantitatively soil and crop covariation, and in building predictive models.

Premessa

La distribuzione spaziale delle proprietà del terreno è il risultato di complesse interazioni fra vari fattori,con intensità variabile secondo la direzione e la scala spaziale.

Con questo presupposto, il sistema suolo è considerato come un "continuum", le cui proprietà sono funzioni continue delle coordinate nello spazio.

Il riconoscimento dell'importanza della variabilità spaziale di una determinata superficie - dalle migliaia di km^2 di una regione ai pochi ettari di una azienda o campo sperimentale - ha condotto dallo studio della etereogeneità del suolo su scala globale alla conoscenza della variazione strutturale su microscala.

La natura della variabilità del suolo dipende dalla scala a cui si opera, a causa di fattori e processi pedoagronomici agenti su scale spaziali e temporali molto diverse, per cui l'analisi strutturale della variabilità spaziale dipende dalle proprietà studiate, dalle metodologie usate, dal numero di osservazioni e dall'intervallo di campionamento.

In passato si sono usati i metodi classici della statistica per descrivere le differenze riscontrabili in una o più proprietà diagnostiche del suolo all'interno di una stessa unità cartografica sia su scala regionale che parcellare o di pedons.

I risultati di tali analisi sono stato oggetto di numerosi studi sintetizzati da Beckett e Webster (1971) e da Wilding e Drees (1978, 1979).

Secondo la statistica classica il valore atteso di una proprietà z del suolo, in ogni punto all'interno dell'area di campionamento, è dato da:

$$z(x) = \mu + e(x)$$

dove μ è la media di z ed e rappresenta una dispersione casuale, con media zero, non correlata spazialmente ai valori da cui è stata tratta la media.

I valori medi, in questo caso, sono utilizzati per la stima delle proprietà in luoghi non campionati entro l'unità di studio, mentre la statistica della dispersione (coefficiente di variazione, deviazione standard, errore standard, limiti fiduciali) viene utilizzata per indicare la precisione della media e, quindi, per valutare la variazione del suolo entro l'area di campionamento.

Le procedure statistiche classiche hanno considerato, però, la variazione distribuita casualmente entro l'unità studiata. In realtà, le proprietà del suolo sono delle variabili continue, i cui valori in ogni località possono variare secondo la direzione e la distanza di separazione dal campione più vicino, mostrando, pertanto, una dipendenza spaziale entro un'area più o meno estesa.

Il modello classico risulta, quindi, inadeguato all'interpolazione di variabili dipendenti spazialmente, poichè non tiene conto della correlazione spaziale e della posizione relativa dei campioni.

Diverse tecniche sono state utilizzate per l'interpolazione delle proprietà del suolo; esse sono, però, tutte empiriche e

tecnicamente insoddisfacenti.

I recenti sviluppi della teoria statistica consentono, invece, alla dipendenza spaziale delle proprietà del suolo di entrare direttamente nel processo di interpolazione; essi si basano sulla "teoria delle variabili regionalizzate" (*), che tiene conto delle caratteristiche casuali e strutturali delle variabili per una descrizione ed una valutazione ottimale delle proprietà di un suolo.

L'interpolazione basata sulla dipendenza spaziale dei campioni fu applicata per la prima volta da Krige nel SudAfrica, per la stima dei giacimenti auriferi. I metodi pratici di Krige furono successivamente sviluppati e generalizzati da Matheron (1965, 1971) nella teoria delle "variabili regionalizzate" che oggi forma la base delle procedure (note come "Geostatistica") per l'analisi e la stima delle variabili dipendenti spazialmente.

La teoria geostatistica ha continuato ancora a svilupparsi e attualmente interessa molti altri campi della ricerca oltre quello per cui fu originalmente elaborata, trovando ampia applicazione in idrologia (stima e valutazione delle risorse idriche), in pedologia (classificazione ed utilizzazione dei suoli, indagini territoriali, caratterizzazione diagnostica delle proprietà fisiche, chimiche ed idrologiche del terreno), in archeologia, ecc.

Nella scienza del suolo essa trova applicazione sia su vasta scala (classificazione e caratterizzazione di suoli di territori regionali) sia su microscala (variabilità delle proprietà in un campo o in parcelle sperimentali).

In quest'ultimo caso, la letteratura scientifica mondiale si è arricchita di una notevole documentazione sull'argomento. Un elenco, sia pure sommario, sarebbe tuttavia molto difficile e riuscirebbe, senz'altro, incompleto. Basterà ricordare, solo per citare alcuni autori che hanno affrontato il problema, i lavori di Burgess e Webster (1980a,b), Gajiem et al. (1981), Vieira et al. (1981), Yost et al. (1982a,b), Russo (1984, 1986 a,b), Russo e Bresler (1981, 1982), Castrignanò e Lopez (1988), Castrignanò et al., (1988 a,b), ecc., i quali hanno fornito utili e preziose informazioni sulle variazioni delle caratteristiche pedo-agronomiche su base territoriale o parcellare, con particolare riferimento al movimento dell'acqua e dei soluti nel suolo.

Teoria

In geostatistica il punto di partenza nello studio della variabilità spaziale è la nozione di "campo casuale" o "funzione casuale" in uno spazio a 1, 2 o 3 dimensioni.

Consideriamo una superficie di area S, in cui siano stati

(*) Per "variabile regionalizzata" si intende una variabile che assume differenti valori z secondo la sua localizzazione entro una certa regione.

misurati due insiemi di valori, $\{z_1(x_i)$ e $z_2(x_i)\}$; ad es., la conducibilità elettrica e il potenziale matriciale, ove ciascuna x_i rappresenti una coppia di coordinate (x,y). Per ogni determinato punto x_k, ciascuna $z(x_k)$ può essere considerata come una realizzazione dell'insieme di variabili casuali per tutte le x_i comprese entro S. Questi insiemi di variabili casuali, indicate con $Z_1(x_i)$ e $Z_2(x_i)$ sono stati chiamati, da Journel e Huijbreghts (1978), funzioni casuali.

Per uno studio di questo genere sono necessari alcuni presupposti fondamentali, fra i quali è il concetto di "omogeneità statistica" o di "stazionarietà del secondo ordine", per cui una funzione casuale $Z(x_i)$ è statisticamente omogenea (stazionarietà del secondo ordine) se risultano soddisfatte le seguenti condizioni:

1) la media o il valore atteso $(E\{Z(x_i)\})$ esiste e non dipende dalla posizione di x, cioè:

$$E\{Z(x_i)\} = m \qquad 1)$$

per tutte le x_i all'interno dell'area S;

2) per ciascuna coppia di variabili casuali, $[Z(x_i),Z(x_i+h)]$ la funzione di covarianza, C(h), esiste e dipende solo da h, cioè:

$$C(h) = E\{Z(x_i)\ Z(x_i+h)\} - m^2 \qquad 2)$$

per tutte le x_i all'interno dell'area S.

Vi sono, tuttavia, casi in cui, almeno all'interno dell'area in istudio, Z(x) non si comporta come una variabile omogenea. Per queste situazioni la Scuola Geostatistica Francese' (Matheron, 1971; 1973) ha introdotto la nozione di "funzioni casuali intrinseche", in cui sono gli incrementi o le variazioni ad essere statisticamente omogenei e non le singole variabili. Ciò significa che, per la condizione 1), la varianza dell'incremento $[Z(x_i)-Z(x_i+h)]$ deve essere finita e non dipendere dal punto x_i, ma unicamente dal vettore h; si ha, cioè:

$$Var\{[Z(x_i)-Z(x_i+h)]\} = E\{[Z(x_i)-Z(x_i+h)]^2\} \qquad 3)$$

qualunque sia x_i, all'interno dell'area S.

L'equaz. 3) rappresenta per definizione, il variogramma della variabile casuale Z(x):

$$2\gamma(h) = E\{[Z(x_i)-Z(x_i+h)]^2\} \qquad 4)$$

In pratica, la quantità più usata è $\gamma(h)$ invece di $2\gamma(h)$, a cui si da il nome di semivariogramma; in tal modo, la variabile z può essere stimata dalla seguente formula:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [z_1(x_i)-z_1(x_i+h)]^2, \qquad 5)$$

in cui N(h) rappresenta il numero di coppie possibili di valori separate da un vettore h. Come ogni funzione vettoriale $\gamma(h)$

dipende sia dal modulo che dalla direzione di h; quando il valore del semivariogramma dipende anche dalla direzione di h, si verificano le condizioni di anisotropia. In quest'ultimo caso, le funzioni che descrivono il semivariogramma anisotropico sono spesso sottoposte a trasformazioni tali da ottenere un comportamento isotropico.

In un dominio in cui si sia verificata la condizione 1), il semivariogramma è una funzione crescente da zero ad un valore costante, chiamato "sill" (soglia), che eguaglia approssimativamente la varianza del campione. Molto spesso il semivariogramma presenta una discontinuità in presenza dell'origine, che può essere matematicamente espressa da:

$$\lim_{h \to 0} \gamma(h) = C_0 \qquad 6)$$

dove C_0, detto effetto "nugget", esprime la variabilità su una scala più piccola dell'intervallo di campionamento. Il valore di h, quando il semivariogramma raggiunge il "sill", è chiamato "range"(a) e rappresenta la distanza oltre cui i campioni non sono più correlati (fig. 1).

Il semivariogramma viene quindi usato per caratterizzare la variabilità esistente all'interno di un campo casuale, poichè permette di evidenziare eventuali anisotropie e di stabilire le distanze di correlazione.

Un altro importante uso del semivariogramma, come potente mezzo di interpolazione, è il "kriging", il quale, tenendo conto della correlazione esistente fra campioni adiacenti, permette di stimare il valore interpolato senza errore (cioè il valore stimato nel punto interpolato eguaglia il valore atteso) e con la varianza minima. Sotto queste condizioni si dice anche che lo stimatore z è BLUE (Best Linear Unbiased Estimator).

Il kriging consiste in una media mobile, in cui il predittore lineare assume la forma:

predittore lineare assume la forma:

5)

$$\hat{z}(x_0) = \sum_{i=1}^{N} \beta_i z(x_i), \qquad 7)$$

dove il simbolo ^ indica un valore calcolato, N il numero dei valori misurati $z(x_i)$ che intervengono nella stima del punto non registrato x_0 e β_i i pesi. Se la variabile $z(x_i)$ può essere considerata come una realizzazione particolare di una funzione casuale $Z(x_i)$ che soddisfi almeno l'ipotesi intrinseca, il predittore può essere così riscritto:

$$\hat{Z}(x_0) = \sum_{i=1}^{N} \beta_i Z(x_i) \qquad 8)$$

Il problema si riduce, quindi, alla determinazione dei pesi β_i in modo da soddisfare le seguenti due condizioni:

a) $E\{\hat{Z}(x_0) - Z(x_0)\} = 0 \qquad 9)$

cioè la stima del valore calcolato nel punto x_0 deve coincidere con il valore eventualmente misurato nello stesso

punto;

$$b) \quad \sigma_k^2(x_o) = Var\{\hat{Z}(x_o) - Z(x_o)\} = \text{minimo}, \qquad 10)$$

cioè la varianza della stima deve essere minima.

Lo sviluppo dell'equaz. 9) produce la seguente relazione (Vieira et al., 1982):

$$\sum_{i=1}^{N} \beta_i = 1 \qquad 11)$$

Si può dimostrare, inoltre, che la condizione di varianza minima, soggetta all'equaz. 11) può essere espressa da:

$$\sigma_k^2(x_o) = \Sigma_i \Sigma_j \beta_i \beta_j C(x_i, x_j) + C(0) - 2\Sigma_i C(x_i, x_o) \qquad 12)$$

dove $C(x_i, x_j)$ rappresenta la funzione di covarianza per una coppia di punti campionati (x_i, x_j), $C(0)$ la funzione di covarianza nel caso in cui i due punti coincidono i= j) e $C(x_i, x_o)$ la stessa funzione relativa a coppie formate da ciascun punto campionato e il punto interpolato.

Quando il semivariogramma tende ad un limite finito per h ∞, si può facilmente verificare come esso sia legato alla funzione di covarianza dalla relazione:

$$\gamma(h) = C(0) - C(h)$$

per cui, esprimendo l'equaz. 12) in termini di semivarianza, si ha:

$$\sigma_k^2 = \Sigma_i \Sigma_j \beta_i \beta_j \gamma(x_i, x_j) + 2\Sigma_i \beta_i \gamma(x_i, x_o) \qquad 13)$$

in cui (x_i, x_j) indica un vettore avente origine in x_i ed estremo frecciato in x_j. E' più conveniente utilizzare quest'ultima equazione anzichè la 12), poichè essa richiede che sia soddisfatta solo l'ipotesi intrinseca e non quella più restrittiva della stazionarietà del secondo ordine.

Il problema si riconduce, quindi, a minimizzare l'equaz. 13) con la condizione che:

$$\sum_{i=1}^{N} \beta_i = 1$$

Tale minimizzazione, secondo il metodo lagrangiano, comporta che tutte le N derivate parziali:

$$\delta[\sigma^2_k(x_o) - 2\mu\Sigma_i \beta_i]/\delta\beta_i \qquad 14)$$

siano poste eguali a 0, dove μ è un moltiplicatore Lagrangiano.

Sviluppando queste equazioni, in combinazione con la 13), dopo alcuni passaggi matematici, si ottiene il seguente sistema di kriging:

$$\sum_{j=1}^{N} \beta_j \tau(x_i, x_j) + \mu = \tau(x_i, x_0) \qquad \text{per } i=1,N \qquad 15)$$

$$\sum_{j=1}^{N} \beta_j = 1 \qquad 16)$$

che rappresenta un sistema di N + 1 equazioni in N +1 incognite.

La soluzione di tale sistema fornisce, pertanto, gli N pesi, β_j, e un moltiplicatore di Lagrange μ, che consentono la stima di $Z(x_0)$ e della sua varianza, secondo la relazione 13):

$$\sigma^2_K(x_0) = \mu + \sum_{i=1}^{N} \beta_i \tau(x_i, x_0) \qquad 17)$$

L'equaz. 17) si ottiene facilmente combinando le N equazioni alla 15) e la 16) con la 13).

Supponiamo, ora, di avere due variabili stazionarie di secondo ordine, z_1 e z_2, le cui covarianze incrociate sono definite da:

$$C_{12} = E\{Z_1(x) Z_2(x+h)\} - m_1 m_2 \qquad 18)$$

$$C_{21} = E\{Z_2(x) Z_1(x+h)\} - m_1 m_2 \qquad 19)$$

e il semivariogramma incrociato da:

$$\tau_{12}(h) = \tau_{21}(h) = \tfrac{1}{2} E\{[Z_1(x) - Z_1(x+h)] \cdot [Z_2(x) - Z_2(x+h)]\} \qquad 20)$$

in cui m_1 e m_2 rappresentano i valori attesi, rispettivamente: $E\{Z_1(x)\}$ e $E\{Z_2(x)\}$. Sotto l'ipotesi di stazionarietà del secondo ordine, le tre quantità precedenti sono legate fra loro dalla seguente relazione:

$$2\tau_{12}(h) = 2\tau_{21}(h) = 2C_{12}(0) - C_{12}(h) - C_{21}(h) \qquad 21)$$

in cui $C_{12}(0) = C_{21}(0)$ rappresenta la covarianza fra Z_1 e Z_2 per $h = 0$. Il semivariogramma incrociato può essere calcolato dalla formula:

$$\hat{\tau}_{12}(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [z_1(x_i) - z_1(x_i+h)] \cdot [z_2(x_i) - z_2(x_i+h)] \qquad 22)$$

dove N(h) rappresenta il numero delle coppie del tipo:

$$\{[z_1(x_i), z_1(x_i+h)],\ [z_2(x_i), z_2(x_i+h)]\}.$$

E' da notare come non sia necessario che le due variabili z_1 e z_2 abbiano lo stesso numero di valori, poichè il semivariogramma incrociato può essere calcolato utilizzando solo quei punti in cui le variabili siano state misurate.

Si supponga ora di disporre di un minor numero di misure per la variabile z_2 rispetto alla variabile z_1, in quanto z_2

è più difficile da misurare per un maggior dispendio di tempo e di energie o per un maggior costo finanziario.

In tal caso, risulta molto utile stimare la variabile z_2, utilizzando i valori sia di z_1 che di z_2 e la correlazione incrociata fra tali variabili espressa dal semivariogramma $\gamma_{12}(h)$.

Una tale stima è possibile utilizzando il metodo del "cokrigiMg", il cui predittore assume la seguente forma:

$$\hat{Z}_2(x_0) = \sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} Z_1(x_{1i}) + \sum_{j=1}^{N2} \beta_{2j} Z_2(x_{2j}) \qquad 23)$$

dove β_{1i} e β_{2j} indicano i pesi associati con le variabili Z_1 e Z_2, N_1 e N_2 il numero di valori, rispettivamente, per Z_1 e Z_2, utilizzati per la stima del punto x_0.

Come per il kriging, anche per il cokriging il predittore deve soddisfare le due solite condizioni: essere esatto ed avere la varianza minima.

La prima di queste condizioni si verifica se:

$$\sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} = 0, \qquad 24)$$

$$\sum_{j=1}^{N2} \beta_{2j} = 1 \qquad 25)$$

La condizione di minima varianza, insieme ai vincoli sui pesi, richiede - nel processo di minimizzazione - l'introduzione di un moltiplicatore di Lagrange per ciascuna variabile casuale considerata. La varianza minima viene cosi determinata prendendo le derivate parziali rispetto a ciascun β_{1i} e β_{2j} e ponendo il risultato eguale a zero (Vauclin et al., 1983).

Con tali derivate, dopo aver sviluppato l'espressione per la varianza, con qualche semplificazione si ottiene il sistema di equazioni del cokriging (Journel e Huijbreghts, 1978):

$$\sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} C_{11}(x_{1i},x_{1k}) + \sum_{j=1}^{N2} C_{12}(x_{1k},x_{2j}) - \mu_1 = C_{21}(x_0,x_{1k}) \quad \text{per} \quad k=1,N_1 \qquad 26)$$

$$\sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} C_{21}(x_{21},x_{1i}) + \sum_{j=1}^{N2} C_{22}(x_{2j},x_{21}) - \mu_2 = C_{22}(x_0,x_{21}) \quad \text{per} \quad 1=1,N_2 \qquad 27)$$

$$\sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} = 0 \qquad 28)$$

$$\sum_{j=1}^{N2} \beta_{2j} = 1 \qquad 29)$$

e la varianza minima:

$$\sigma^2_{ck}(x_o) = C_{zz}(0) + \mu_z - \sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} C_{z1}(x_o, x_{1i}) - \sum_{j=1}^{N2} \beta_{2j} C_{z2}(x_{2j}, x_o) \qquad 30)$$

Nell'ipotesi che le funzioni di covarianza incrociata siano simmetriche per h positivo o negativo, la funzione di covarianza può essere sostituita da $-\gamma(h)$ (Vauclin et al., 1983):

$$\sigma^2_{ck}(x_o) = \mu_z + \sum_{i=1}^{N1} \beta_{1i} \gamma_{z1}(x_o, x_{1i}) + \sum_{j=1}^{N2} \beta_{2j} \gamma_{z2}(x_{2j}, x_o) \qquad 31)$$

Dall'esame delle equaz. 26, 27, 28, 29, 30 e 31 si possono trarre le seguenti considerazioni finali:

a) se le variabili $Z_1(x)$ e $Z_2(x)$ non sono correlate, le equaz. si riducono alle ordinarie equazioni di kriging;

b) se invece sono correlate, la varianza calcolata con il cokriging è generalmente minore di quella stimata con il kriging ordinario, poichè il primo metodo offre una maggiore flessibilità nel minimizzare la varianza in virtù dei termini addizionali sul lato destro dell'equaz. 31.

L'applicazione del metodo nelle indagini sul suolo

Come è stato accennato all'inizio, numerose sono, ormai, le applicazioni della metodologia geostatistica alle indagini sul suolo.

In questo paragrafo si vogliono fare, tuttavia, alcune considerazioni derivate principalmente da esperienze descritte in altra sede (Castrignanò e Lopez, 1988; Castrignanò et al., 1988a,b) e da noi effettuate su suoli ed ambienti diversi: un Vertisuolo del Tavoliere pugliese ed un suolo alluvionale del litorale ionico metapontino.

Il nuovo metodo risulta molto promettente nel rappresentare la complessa realtà di campo, dovuta alla distribuzione spaziale delle caratteristiche chimiche, fisiche e idrologiche del suolo. Tale conoscenza è premessa indispensabile per una corretta interpretazione dei risultati delle prove sperimentali e quindi per la formulazione di relazioni matematiche fra causa ed effetto.

I due ambienti edafici portati ad es. - alla luce della elaborazione geostatistica - appaiono fortemente differenti.

Il Vertisuolo risulta abbastanza omogeneo, con un lieve, ma sensibile "trend", sopratutto nei parametri chimici. Oltre che dalla natura della matrice del suolo stesso, ciò può dipendere dalla storia colturale non molto dissimile su tutta la superficie interessata e dalle frequenti lavorazioni che, rimescolando continuamente il terreno, ne provocano una parziale omogeneizzazione.

La realtà del terreno alluvionale del Metapontino, con una storia colturale relativamente più recente, rivela, invece, una variazione molto più accentuata, con zone circoscritte in cui,

gli elevati valori nella concentrazione del sodio solubile, possono pregiudicare sensibilmente la produzione.

Al fine di trovare eventuali anisotropie, lo studio ha mostrato un andamento anomalo del sodio in superficie per angoli α superiori a 40°. Da una tale analisi è risultato che punti più distanti differiscono meno di quelli più vicini, a causa di qualche difformità presente lungo tali direzioni, come ad es., la vicinanza ad un corso d'acqua, variazioni di livello, esistenza di concrezioni di natura diversa.

Il cercare di spiegare simili anisotropie stimola la realizzazione di nuove esperienze sperimentali, al fine di quantificare le relazioni causa-effetto.

Le nostre ricerche, tuttora in corso, sono rivolte proprio secondo questa prospettiva al fine di stabilire relazioni quantitative sia fra la variabilità delle caratteristiche del suolo che fra questa e quella della produzione agraria.

E' evidente che su un tale substrato i dati produttivi rispecchiano sensibilmente le grandi variazioni delle caratteristiche del terreno.

La valutazione della distribuzione spaziale di un elemento tossico per l'accrescimento delle piante agrarie, qual'è il sodio nei suoli alcalini o l'alluminio nei suoli molto acidi, riveste particolare interesse quando ci si prefigge il loro miglioramento attraverso ammendamenti, calcitazioni o altre pratiche, poichè può ridurre sensibilmente i quantitativi necessari da applicarsi in dosi appropriate solo nelle zone particolarmente critiche di una data superficie anomala con notevoli vantaggi finanziari ed ecologici.

D'altro canto, la conoscenza spaziale della distribuzione dei nutrienti, come l'azoto ed il fosforo, può essere utile a razionalizzare le fertilizzazioni al suolo e a ridurne i carichi inquinanti negli affluenti.

Le mappe delle isolinee dell'umidità del suolo alluvionale alle diverse profondità (Castrignanò et al. 1988b), hanno confermato ciò che era già apparso evidente dalla preliminare descrizione del profilo (Lopez et al., 1986). La prevalenza dei componenti più fini nella matrice (*) rende, infatti, praticamente impermeabile lo strato superiore del suolo stesso, impedendo il libero movimento verso il basso delle acque piovane o irrigue. Esaminando le isolinee alle diverse profondità di campionamento, si è potuto osservare, infatti, che i valori di umidità nello strato tra "20/25-40/45 cm è, in media, minore di quello immediatamente sovrastante e che, in una stagione invernale, anche dopo abbondanti piogge autunnali, in questo come in quello immediatamente sottostante, non si raggiungono mai valori di umidità vicini alla capacità di campo.

In particolare, la correlazione sufficientemente elevata, riscontrata fra il contenuto di umidità sempre nel suolo alluvionale e l'indice di stabilità all'acqua ($r=0,58$ per $p<0,58$)

(*) In questo suolo, la somma argilla+limo rappresenta il 90-95% di tutta la terra fina.

ci autorizza ad applicare il metodo più complesso del cokriging al fine di migliorare la precisione della stima dell'umidità (Yates e Warrick, 1987).

Il completamento dell'analisi meccanica ci induce, inoltre, alla luce delle ricerche effettuate da altri ricercatori (Yates e Warrick, 1987) ad utilizzare come variabile ausiliare le componenti granulometriche nel processo di stima mediante il cokriging del contenuto di umidità data la più facile reperibilità e misurabilità delle prime variabili rièpetto a quest'ultima.

Gli esempi qui dati dimostrano chiaramente chiaramente come sia indispensabile,prima di impostare prove agronomiche in cui si pongono a confronto diverse tesi (concimazione, cultivar, irrigazione, ecc.) studiarne l'uniformità del suolo prove agronomiche mediante l'analisi geostatistica.

L'applicazione di questa ultima tecnica ci ha dimostrato che non è del tutto corretto applicare incondizionatamente l'analisi statistica classica della varianza, presupponendo a priori una omogeneità del substrato colturale o tentando di compensare la variabilità, senza misurarla, ricorrendo alla suddivisione in blocchi randomizzati.

La geostatistica si rivela, dunque, uno strumento molto potente nell'individuazione e nella quantificazione delle cause che producono una variazione produttiva. Solo dopo aver quantificato l'"errore" dovuto alla variabilità del suolo, differenziato nei vari punti del campo, è lecito scomporre la varianza residua nelle componenti dovute ai singoli fattori che intervengono nella prova.

A conclusione di queste considerazioni possiamo ribadire la nostra convinzione che la geostatistica sia un potente strumento di indagine da cui non si può prescindere in fase di diagnosi delle condizioni fisiche, chimiche ed idrologiche del terreno.

Come ogni metodo, tuttavia, esso va però impiegato con senso critico, riconoscendo il valore essenzialmente locale del variogramma, il che dovrebbe astenerci dall'effettuare generalizzazioni azzardate.

Bisogna tener presente, inoltre, che l'applicazione della geostatistica si basa sull'assunzione di determinati principi fondamentali venendo meno i quali, nel caso, ad es., di fenomeni molto irregolari, è necessario un surplus di calcolo e il ricorso a funzioni più complesse che garantiscano ancora una qualche stazionarietà.

Conclusioni

Il cokrigring sembra essere un metodo molto promettente per stimare una variabile la cui misura risulta difficile o costosa rispetto ad un'altra ausiliaria ad essa correlata e più facilmente campionabile.

I risultati condotti da Yates e Warrick (1987) dimostrano che, se si dispone di pochi valori della variabile primaria, è molto probabile che si ottenga una stima più precisa, includendo

una variabile secondaria nel processo di cokriging.

La maggiore complessità di quest'ultimo metodo rispetto al kriging ordinario può essere giustificata solo nel caso in cui il coefficiente di correlazione fra le variabili, primaria e secondaria, superi lo 0,5 e la funzione ausiliare sia determinata in un numero di punti superiore a quello in cui è stimata la funzione primaria (Yates e Warrick, 1987).

A conclusione di questa nota, si può affermare che la geostatistica può giocare un ruolo fondamentale nel definire lo schema sperimentale, in quanto è in grado di descrivere quantitativamente - meglio di quanto possa fare la statistica classica - la variabilità nello spazio delle caratteristiche del suolo e delle produzioni agrarie delle colture piantate in esso e la loro covariazione.

Fra le tante applicazioni della geostatistica, nella ricerca agronomica di campo, dunque, due risultano particolarmente interessanti:

a) l'utilizzazione dei semivariogrammi per stabilire le dimensioni e la forma di una parcella sperimentale o di un blocco di esse. Il semivariogramma, infatti, può suggerire forme e dimensioni delle parcelle più idonee ad uno scopo sperimentale: più precisamente, la dimensione più piccola nella direzione di variazione massima, quella più grande, in direzione perpendicolare, con il rapporto dei lati uguale a quello di anisotropia;

b) analisi co-spaziali del suolo e delle colture, per poter stabilire relazioni funzionali fra le variazioni in alcune caratteristiche del suolo e la produzione quali-quantitativa delle colture. E' possibile ottenere tutto ciò combinando i metodi geostatistici con le prove di uniformità. Perchè un tale studio riesca efficace, tuttavia, è necessario che le dimensioni delle parcelle nel dispositivo sperimentale ed il passo della "griglia" di campionamento del suolo siano più piccoli del "range" di dipendenza spaziale.

Attualmente, tuttavia,come già accennato nell'introduzione, vi è una forte carenza di dati quantitativi co-spaziali relativi a suolo e produzione colturale.

E', quindi, auspicabile, che l'esecuzione e l'analisi di prove spazialmente integrate su suolo e colture diventino argomento interdisciplinare fra agronomi, pedologi e statistici.

Bibliografia

Beckett,P.H.T., Webster,R., 1971 - Soil variability: a review. Soils Fert., 34:1-15.

Burgess,T.M., Webster,R., 1980a - Optimal interpolation and isarithmic mapping of soil properties: I. The semivariogram and punctual kriging. J. Soil Sci., 31:315-331.

Burgess,T.M., Webster,R., 1980b - Optimal interpolation and isarithmic mapping of soil properties. II. Block kriging. J. Soil Sci., 31:333-341.

Castrignanò,A., Lopez,G., 1988 - Primo approccio allo studio della variabilità spaziale delle proprietà idrologiche, fisiche e chimiche di un suolo argillo-limoso del Tavoliere pugliese. Atti del Convegno SISS su: "Giornate di studio sull'analisi del suolo", Verona, 19/21 settembre 1988 (in corso di stampa).

Castrignanò,A., D'Agostino,V., Lopez,G., 1988a - Analisi geostatistica di alcune propriewtà di un suolo del Metapontino. Atti del Convegno SISS su: "Giornate di studio sull'analisi del suolo", Verona, 19/21 settembre 1988 (in corso di stampa).

Castrignanò,A., D'Agostino,V., Lopez,G., 1988b - Studio della variabilità spaziale dell'umidità del suolo mediante geostatistica. Atti del Convegno SISS su:"Giornate di studio sull'analisi del suolo", Verona, 19/21 settembre 1988 (in corso di stampa).

Gajem.Y.M., Warrick,A.W., Myers,D.E., 1981 - Spatial dependence of physical properties of a typic Torrifluvent. Soil Sci. Soc. Amer. J., 45:687-691

Journel,A.G., Hujibreghts,Ch.,I.,1978-Mining Geostatistics. Academic Press, New York.

Lopez,G., Ascione,S., Marrone,S., 1986 - Caratteri fisico-chimici dei suoli e delle acque di falda di un ambiente del litorale ionico lucano. Nota I: Descrizione generale del suolo e delle acque di falda. Annali Ist. Sper. Agronomico, Bari, XVII:49-65.

Matheron,G., 1965 - Les variables regionalisées et leur estimation. Masson Ed., Paris.

Matheron,G., 1971 - The teory of regionalized variables and its applications. Les cahiers du Centre de Morphologie Mathématique,5. Centre de Geostatistique, Fontenaibleu.

Russo,D., 1984 - Statistical analysis of crop yield-soil water relationship in heterogeneous soil and trickle irrigation. Soil Sci. Soc. Amer. J., 48:1402-1410.

Russo,D., 1986a - A stochastic approach tothe crop yield-irrigation relationship in heterogeneous soil: I. Analysis of the field spatial variability. Soil Sci. Soc. Amer. J., 50:736-745.

Russo,D., 1986b - A stochastic approach to the crop yield-irrigation relationship in heterogeneous soil: II. Application to irrigation management. Soil Sci. Soc. Amer. J., 50:745-751.

Russo,D., Bresler,E., 1981 - Soil hydraulic properties as stochastic process: I. An analysis of field spatial variability. Soil Sci. Soc: Amer. J., 45:682-687.

Russo,D., Bresler,E., 1982 - Soil hydraulic properties as

stochastic process: II. Errors of estimate in a heterogeneous field. SoilSci. Sci. Amer. J., 46:20-26.

Vauclin,M., Vieira,S.R., Vachaud,G., Nielsen,D.R., 1983 - The use of Cokriging with limited field soil observations. Soil Sci.Soc. Amer. J., 47:175-184.

Vieira,S.R., Nielsen,D.R., Biggar,J.W., 1981 - Spatial variability of field-measurement infiltration rate. Soil Sci. Soc. Amer. J., 45:104o-1048.

Vieira,S.R., Hatfield,J.L., Nielsen,D.R., Biggar,J.W., 1983 - Geostatiscal theory and application to variability of some agronomical properties. Hilgardia, 51:1-75.

Wilding,L.P., Drees,L.R., 1978 - Spatial variability: A pedologist wiew point. ASA special publications No 34 (Diversity of soils in the Tropics), Chapter 1, pp. 1-12.

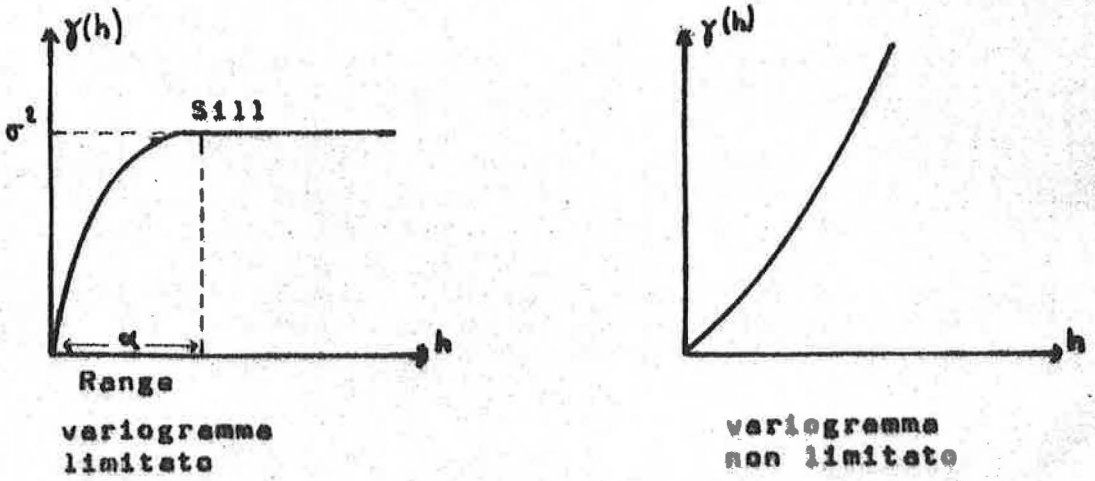
Wilding,L.P., Drees,L.R., 1983 - Spatial variability and pedology. In: Wilding,L.P., Smeck,N.E.,Hall, G.F. (eds.), Pedogenesis and Soil Taxonomy. I-Concepts and interactions. Development in Soil Science. Elsevier Publishing Co., Wageningen, pp. 83-113.

Yates,S.R., Warrick,A:W:, 1987 - Estimating soil water using cokriging. Soil Sci. Soc. Amer. J., 51:123-130.

Yost,R.S., Uehara,G., Fox,R.L., 1982a - Geostastical analysis of soil properties of large land areas: I. Semi-variograms. Soil Sci. Soc. Amer. J., 46:1028-1032.

Yost,R.S., Uehara,G., Fox,R.L., 1982b - Geostatistical analysis of soil properties of large land areas: II. Kriging. Soil Sci. Soc. Amer. J., 46:1033-1037.

FIG. 1


γ(h)
σ²
Sill
a
h
Range
variogramme
limitato
γ(h)
h
variogramme
non limitato

ISTITUTO SPERIMENTALE AGRONOMICO
B A R I

Verona

1988

PRIMO APPROCCIO ALLO STUDIO DELLA VARIABILITA' SPAZIALE DELLE PROPRIETA' IDROLOGICHE, FISICHE E CHIMICHE DI UN SUOLO ARGILLO-LIMOSO DEL TAVOLIERE PUGLIESE.

A. Castrignanò, G. Lopez.

SUNTO

Questa ricerca esamina la struttura spaziale di alcune proprietà idrologiche, fisiche e chimiche di un suolo argillo-limoso (Vertisuolo, Typic Chromoxerert) del Tavoliere Pugliese (Azienda dell'Istituto Sperimentale Agronomico di Bari).

La superficie considerata è costituita da due blocchi di parcelle di m^2 3.200 ognuna (40x80 m), separati da una strada. I punti o aree di campionamento sono stati, a loro volta, ubicati al centro di ogni parcella, ad intervalli di 40 m l'uno dall'altro e lungo due direzioni parallele all'asse maggiore dei blocchi. Su ogni parcella sono state effettuate tre ripetizioni e i dati ottenuti sono stati, successivamente, mediati; essi si riferiscono ad uno strato di suolo compreso fra 0 e 40 cm di profondità.

Le variabili esaminate includono il contenuto in acqua alle tensioni di -30 kPa e -1.500 kPa; la permeabilità, in cm/h; il contenuto delle diverse frazioni della terra fine (sabbia grossa e fine, limo, argilla); il pH; i carbonati totali; la sostanza organica; l'azoto; la P_2P_5 totale e assimilabile; il K in HCl e scambiabile (espressi come K_2O); il rapporto C/N.

L'analisi della variabilità spaziale è stata condotta sia con i metodi della statistica classica che con quelli, più innovativi, della geostatistica.

Per ciascun parametro sono state valutate le funzioni di autocorrelazione e i semivariogrammi, al fine di esaminare la struttura spaziale, di stimare come i campioni fossero più o meno interdipendenti e di stabilire, quindi, la distanza a cui ciò si verifica.

SUMMARY

A FIRST REPORT ON SPATIAL VARIABILITY IN SOME HYDROLOGICAL, PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF A SILTY-CLAY SOIL IN THE APULIAN PLANE.

This paper deals with the spatial structure of some of the hydrological, physical and chemical properties of a silty-clay soil (Vertisoil, Typic Chromoxerert) in the Apulian Plane (Farm of the Experimental Agronomic Institute of Bari).

The study area consists of two blocks of 3.200 m^2 plots (40x80 m) separated by a road.

The sampling sites are in the centre of each block at 40 m intervals along two transects parallel to the longer axis of the blocks.

Three soil samples, collected from a depth of 0-40 cm, were taken for each plot and then their values were averaged.

The variables considered are: soil water content, expressed in % of dry weight at -30 kPa and -1.500 kPa tensions; permeability, in cm/h; content of the different texture classes (skeleton, coarse and fine sand, silt, clay); pH; all carbonates present; organic matter; nitrogen; total and assimilable P_2O_5; soluble in HCl and exangeable K (expressed as K_2O).

The spatial variability of these parameters is described according to both classic statistics and geostatistics.

The method and procedures used in geostatistics are explained in detail, in particular;data analysis, autocorrelation and variogram.

After this, the results of the spatial variability of the above variables are described.

The soil properties are generally spatially related over very small distances, about 1 or 2 lags (1 lag = 40 m); most chemical parameters show local trends in data.

PREMESSA

Negli ultimi decenni la ricerca sul comportamento dinamico del suolo si è basata essenzialmente sulla conoscenza del "processo locale" (Philips, 1974), curando sopratutto lo sviluppo del formalismo matematico riguardante la legge fisica, la risoluzione dell'equazione relativa e, quindi, la simulazione del fenomeno in esame.

Attualmente, tuttavia, si pone il problema di estendere alla realtà di campo i risultati ottenuti dalle analisi di laboratorio e dalle misure puntuali in loco.

Questa necessità si giustifica col bisogno crescente da parte di agronomi e pedologi di compiere delle opportune scelte circa le strategie da seguire al fine di migliorare, dal punto di vista della fertilità e del regime idrico, zone più o meno vaste di terreno.

La caratterizzazione di un'area implica, necessariamente, la determinazione quantitativa della variabilità spaziale delle proprietà fisiche,chimiche e idrodinamiche del suolo, mediante l'applicazione di tecniche appropriate.

Nella statistica classica, basata sull'analisi della varianza proposta da Fisher (1942), implicitamente si trascurava la collocazione spaziale a cui l'osservazione veniva fatta. In sostanza, l'interesse puntava solamente alla stima del valor medio e allo scarto tipo di una data proprietà del suolo all'interno di una determinata area, alla regressione di un dato attributo rispetto ad un altro - relativamente ai loro valori assoluti e non alle rispettive posizioni nello spazio - e, infine, alla differenza fra le medie di una data proprietà fra due aree scelte più o meno arbitrariamente, senza alcun riferimento al proprio sistema di coordinate spaziali.

Il presupposto fondamentale, infatti, per la statistica classica è che le osservazioni siano indipendenti le une dalle altre, di conseguenza un insieme di dati può essere sintetizzato dal suo valore medio e da una misura della distribuzione dei valori intorno a tale media, espressa da una ipotizzata funzione densità di probabilità stimata da un campione di osservazioni, senza alcun riferimento alle loro posizioni spaziali.

Le osservazioni in campo delle proprietà del suolo non sono, però, necessariamente indipendenti spazialmente, ma, al contrario, si deve supporre che misure fatte a distanze vicine siano più simili di quelle fatte a distanze maggiori, cioè che i valori risultino più o meno correlati tra loro.

Su una superficie limitata, quale può essere quella di un'azienda o di un campo sperimentale, si deve prevedere, inoltre, un comportamento ripetitivo nelle osservazioni del suolo, derivato da un particolare ciclo di lavorazioni o di ordinamenti colturali, una sequenza di posizioni topografiche alte e basse con un conseguente maggiore o minore grado di lisciviazione e, infine, una serie di unità di mappa del suolo distribuite non casualmente, in quanto originate da processi di formazione del suolo, ma legate spazialmente alle coordinate dello strato di terreno interessato.

L'applicazione della statistica classica allo studio delle caratteristiche del suolo, inoltre, non risolve alcuni problemi fondamentali, come, ad es., il numero appropriato di osservazioni, la loro distanza e localizzazione, a cui, invece, la geostatistica tenta oggi di dare delle risposte, fissando i confini del dominio caratterizzato da una singola osservazione all'interno dell'area in studio.

Obiettivo di questo lavoro è la caratterizzazione fisica, idrologica e chimica di un suolo argillo-limoso del Tavoliere Pugliese, utilizzando sia la statistica classica che la geostatistica.

MATERIALI E METODI

1) Descrizione del sito sperimentale.

Il presente studio è stato condotto nell'Azienda Sperimentale "124" (Foggia), dell'Istituto Sperimentale Agronomico di Bari, su un suolo argillo-limoso di pianura, profondo (Vertisuolo, typyc Chromoxerert), al centro del Tavoliere Pugliese, le cui principali caratteristiche morfologiche sono riportate qui di seguito:

Orizzonte Ap, 0-30/35 cm; colore dominante 7,5 YR 4/1 (grigio brunastro); tessitura argillo limosa; scheletro scarso, minuto; aggregazione grumosa; presenza comune di radici erbacee; piccole fessurazioni larghe 2-3 cm; assenza di concrezioni e di screziature; ben drenato; limite inferiore chiaro e lineare.

Orizzonte A12, 30/35-70 cm; colore dominante 7,5 YR 4/2 (bruno grigiastro); tessitura argillo limosa; aggregazione poliedrica subangolare, poco consistente; assenza di concrezioni e screziature; presenza di crepacciature orizzontali e verticali; ben drenato; limite inferiore chiaro e lineare.

Orizzonte A13, 70-100 cm; colore dominante 7,5 YR 2/1 (nero); tessitura argillosa; aggregazione media, poliedrica, subangolare; presenza di comuni concrezioni di $CaCO_3$; limite inferiore lineare e abrupto con lingue bianco giallastre che si protendono verso l'orizzonte inferiore.

Orizzonte A14, 100-120/130 cm; colore dominante 7,5 YR 6/2 (bruno grigiastro; argillo limoso, aggregazione poliedrica, subangolare media, poco consistente; presenza di numerose concrezioni calcaree; limite inferiore chiaro e lineare.

Orizzonte $C_{ca}11$, 120/130-170 cm; colore dominante 7,5 YR 6/3 (bruno rosato), argilloso; aggregazione massiva; numerose concrezioni bianche di carbonati di rideposizione (orizzonte calcico); limite inferiore lineare e chiaro.

Orizzonte $C_{ca}12$, >170 cm; colore dominante 7,5 YR 6/3 (bruno rosato); argilloso; aggregazione massiva; numerosissime concrezioni di carbonati e macchie di ossidi di ferro idratato; orizzonte di massimo accumulo calcareo; limite inferiore sconosciuto.

2) Schema di campionamento e procedure analitiche.

Le determinazioni fisiche, chimiche e idrologiche del suolo oggetto di studio sono state effettuate su un dispositivo sperimentale costituito da due blocchi, rispettivamente, di 17 parcelle il primo (blocco I) e di 18 il secondo (blocco II), divisi da una strada aziendale (schema di fig. 1e). I campioni di suolo, in ogni blocco, sono stati prelevati su un'area al centro di ogni parcella di 3.200 m^2 (m 80x40), ad una distanza regolare di 40 m l'uno dall'altro e in direzioni parallele all'asse maggiore dei blocchi. Il prelievo è stato effettuato

sino alla profondità di 40 cm, considerando questo come lo strato più attivo e più interessato sia dall'attività radicale delle colture che dalle tecniche colturali praticate nell'area.

Su ogni area di campionamento sono stati prelevati tre campioni, analizzati separatamente e i cui dati sono stati, però, mediati per l'elaborazione statistica (tab. 1).

Sul terreno, seccato all'aria e setacciato a 2 mm, sono state effettuate le seguenti determinazioni:

a) capacità di campo (CA) e punto di appassimento (PA), mediante la camera a pressione di Richards a membrana di porcellana porosa, rispettivamente, a -30 kPa e -1.500 kPa ed esprimendo i valori in % del peso secco di terreno;

b) conducibilità idraulica (PERM) alla saturazione, secondo Fireman (1944), espressa in cm/h;

c) l'analisi granulometrica (sabbia grossa [SG], sabbia fine [SF], limo [LIM], argilla [ARG]), mediante il metodo classico della pipetta, previa distruzione della sostanza organica e dispersione del terreno con polifosfato di sodio;

d) calcare (CALC), al calcimetro, reazione (pH), sostanza organica, (SO), azoto (N), fosforo totale (PT) e assimilabile (PAS), espressi come P_2O_5, potassio solubile in HCl (KT) e potassio scambiabile (KS), espressi come K_2O, secondo i normali metodi d'analisi.

3) L'elaborazione statistica dei dati.

I metodi statistici classici sono stati applicati per determinare le distribuzioni spaziali delle proprietà dei suoli e i coefficienti di correlazione fra tali variabili.

L'analisi si basa sul presupposto che le osservazioni di una data proprietà siano statisticamente indipendenti, senza alcun riferimento alle loro coordinate spaziali.

Le medie (μ) e le deviazioni standard (σ) sono stimate dalle medie e deviazioni standard del campione di osservazioni ($N = 35$). Un test X^2 e di Kolmogorov-Smirnov è stato effettuato per verificare l'ipotesi relativa al tipo di distribuzione della popolazione da cui è stato tratto il campione.

Oltre all'analisi statistica classica per studiare la variabilità spaziale dei parametri del suolo in esame si sono impiegati altri metodi, tratti dalla teoria dei processi stocastici (Papoulis, 1965) e delle variabili regionalizzate (Matheron, 1971). In breve, si presuppone che una data proprietà del suolo, ad una certa profondità, indicata con u, sia una particolare realizzazione di una funzione stocastica U(x), essendo x un punto di coordinate (α, β) nel piano orizzontale del campo. Poichè si conosce una sola realizzazione di tale variabile, si assume l'ipotesi di "Ergodicità", secondo cui è possibile l'inferenza sui parametri di U(x), basandosi sulle medie spaziali della singola realizzazione u(x).

Una misura del grado di associazione lineare fra coppie di osservazioni è fornita dal coefficiente di autocorrelazione r_h, che è funzione della distanza di separazione (h) o lag ed è definito da:

$$r_{xh} = \frac{\text{autocovar}\,[U(x), U(x+h)]}{\sqrt{\text{var}[U(x)]}\cdot\sqrt{\text{var}[U(x+h)]}} \qquad 1)$$

per una serie di osservazioni relative alla variabile U, lungo una data direzione x.

Il coefficiente di autocorrelazione è dunque il rapporto fra l'autocovarianza a lag = h e la varianza totale o autocovarianza a lag = 0. Esso è legato al coefficiente di correlazione usato nell'analisi di regressione lineare: una regressione lineare di tutti gli x_i per i = 1,....N su x_i+h produrrebbe una stima della pendenza, dell'intercetta e del coefficiente di correlazione; il quadrato di quest'ultimo rappresenta la frazione della variabilità totale in x_i che può essere spiegata dalla variazione di x_i+h.

Il valore di r_{xh}, per lag h, fornisce la stessa informazione; l'insieme dei valori ottenuti per tutti i possibili h produce la funzione di autocorrelazione.

Il calcolo del coefficiente di autocorrelazione richiede che il processo sia casuale con una stazionarietà del secondo ordine, ovvero che le medie e le varianze di tutti i possibili campioni siano eguali.

Trattandosi di un'ipotesi molto restrittiva, si adotta, generalmente, "l'ipotesi intrinseca", che richiede una stazionarietà non della variabile U(x), ma soltanto dei suoi incrementi (Delhomme, 1978).

L'ipotesi intrinseca può essere così espressa: per una funzione casuale intrinseca, per ogni vettore h, l'incremento - [U(x+h) - U(x)] - ha valore atteso nullo:

$$E[U(x+h) - U(x)] = 0 \qquad 2)$$

e la varianza che è indipendente dal punto x:

$$E\{[U(x+h) - U(x)]^2\} = 2\gamma(h) \qquad 3)$$

in cui $\gamma(h)$ è il semivariogramma.

La forma del semivariogramma dà una indicazione della dipendenza spaziale fra i dati relativi ad una proprietà del suolo.

Se per tutti i valori di h piu' grandi di zero, γ rimane essenzialmente costante (effetto "NUGGET" puro), ciò indica che le osservazioni sono spazialmente indipendenti.

Se al contrario, per h>0, γ aumenta fino ad una certa distanza ("range"), mantendendosi quindi pressocche' costante, il valore limite raggiunto ("sill") eguaglia la varianza della struttura spaziale e il "range" può interpretarsi come la massima distanza di autocorrelazione fra i due punti.

L'ultimo caso che può verificarsi è quello di un variogramma non limitato, la cui interpretazione risulta però più difficile (Voltz e Bornand, 1988).

In effetti può trattarsi di un variogramma limitato, considerato per una distanza inferiore al "range", o dell'esistenza di una variazione sistematica ("trend") su vasta

scala, o, infine, di un variogramma di varianza infinita. La scelta fra queste tre diverse interpretazioni non è tuttavia possibile con le sole conoscenze a priori del fenomeno, in quanto queste dipendono essenzialmente dalla scala di osservazione o di lavoro.

In effetti, le variabili relative a proprietà del suolo presentano spesso delle strutture spaziali in cui sono coinvolte scale differenti, alcune delle quali rimangono nascoste alla scala di campionamento scelta o, al più, appaiono sotto forma di una tendenza generale ("trend"). Il significato fisico di un variogramma sperimentale varia, quindi, a seconda delle etereogeneità presenti alle altre scale.

Nell'analisi strutturale i due assi di campionamento sono stati mantenuti distinti per rivelare eventuali differenze del terreno fra le due zone, a destra e a sinistra della strada che separa i due blocchi di parcelle.

RISULTATI SPERIMENTALI

a) Parametri statistici delle distribuzioni.

La tab. I riporta i risultati dalla statistica elementare per le singole variabili misurate. La variabilità appare elevata sopratutto per lo scheletro, la permeabilità, la P_2O_5 assimilabile ed il calcare. Questa variabilità, pur tenendo conto, probabilmente, di una parte importante legata agli errori di misura, è essenzialmente determinata dalla etereogeneità spaziale.

I parametri idrologici statici, quali capacità di campo e punto di appassimento, presentano una bassa dispersione, contrariamente a quanto accade per la permeabilità. In generale, inoltre, i parametri relativi alla granulometria, ad eccezione del contenuto in scheletro, presentano una dispersione minore rispetto a quelli chimici.

Dalla tab. II, si nota che la maggior parte delle distribuzioni sperimentali approssima quella normale; per alcune variabili, tuttavia, moda e media non coincidono, presentando delle distribuzioni asimmettriche leggermente spostate verso i valori più piccoli rispetto alla media.

Questa tendenza è più frequente nei parametri chimici rispetto a quelli fisici, il che sta ad indicare un maggior grado di correlazione fra questi ultimi. La tab. III, dove sono riportate solo le correlazioni statisticamente significative fra le variabili oggetto di studio, conferma tutto ciò. Quasi tutti i parametri chimici sono fortemente correlati fra loro ($r > 0,5$), specialmente fosforo totale e assimilabile con potassio scambiabile (rispettivamente: $r=0,780$ e $r = 0,774$) e calcare con potassio totale ($r = 0,764$).

Una elevata correlazione esiste anche fra i parametri fisici e fra questi e quelli chimici, come sabbia fine con argilla ($r =0,81$), sabbia grossa e fine con potassio scambiabile (rispettivamente, $r=0,711$ e $r=0,654$) e ancora argilla con

potassio scambiabile (r=0,7). Il potassio scambiabile risulta, quindi, un parametro fortemente correlato con la granulometria e i costituenti chimici qui considerati.

Al contrario, i parametri idrologici (capacità di campo, punto di appassimento, permeabilità) non risultano correlati nè tra loro nè con gli altri parametri esaminati.

b) Analisi strutturale

Nelle figg. (1a,b,c,d,e) sono riportati gli andamenti spaziali delle variabili esaminate in funzione del numero d'ordine delle parcelle, ponendo a confronto le due direzioni di campionamento.

In linea generale non esistono differenze sostanziali fra le due direzioni, il che sta ad indicare come, nell'insieme, l'area sperimentale è omogenea.

Ad un'analisi più dettagliata per singola variabile, si nota che i parametri idrologici presentano un andamento casuale, con valori confrontabili per le due direzioni, mediamente più alti solo per la permeabilità lungo la direzione 2.

Anche la tessitura nei due blocchi risulta abbastanza simile, non rilevandosi alcuna variazione sistematica. Un comportamento leggermente differente si ha per lo scheletro: come rilevato dall'analisi precedente, esso mostra un andamento particolarmente irregolare, soprattutto nel blocco 1, dove si registra un valore eccessivamente alto (≈4%) in corrispondenza della parcella 17. Una certa tendenza, invece, alla diminuizione si nota lungo la direzione 2, man mano che si ci sposta verso parcelle con numero d'ordine maggiore.

I parametri chimici esaminati mostrano, invece, una certa tendenza ad una variazione di tipo sistematico.

Il calcare ed il pH, in entrambi i blocchi, tendono ad aumentare col crescere del numero d'ordine delle parcelle, ad eccezione delle parcelle 35 e 36, che presentano un brusco abbassamento del pH. Una tendenza opposta rivelano, invece, la sostanza organica, l'azoto e il fosforo totale nel blocco 2, il fosforo assimilabile, il potassio totale e scambiabile in entrambi i blocchi, con la sola eccezione del rapido innalzamento del potassio scambiabile in corrispondenza delle parcelle 23 e 25.

Per quanto riguarda la sostanza organica e l'azoto, essi non mostrano una variazione sistematica nel blocco 1, mentre nell'altro, raggiungono valori elevati nella parcella 2 e tendono, quindi, a decrescere con l'aumentare del numero d'ordine delle parcelle. L'andamento del rapporto C/N è sempre manifestatamente casuale; tale comportamento si ripete anche per il fosforo totale, ma limitatamente al blocco 1. Per quanto riguarda il blocco 2 si deve notare che le prime parcelle, (2, 4, 6, ma particolarmente la prima), presentano dei valori atipici per il fosforo totale, quello assimilabile ed il potassio scambiabile.

Un tale comportamento, completamente differenziato dal resto del campo, può essere giustificato solo dalla particolare destinazione della parcella 2, impiegata non a prove

sperimentali, ma ad aia dell'azienda e dalla la sua relativa vicinanza alle altre parcelle.

Nelle figg. (2a,b,c,d,e, 3a) le altezze degli istogrammi rappresentano le stime dei coefficienti di autocorrelazione; per entrambe le direzioni le linee tratteggiate sono state tracciate da zero più o meno 2 volte gli errori standard. Questi limiti risultano utili nel determinare il lag oltre il quale tutte le autocorrelazioni non sono significativamente diverse da zero.

Anche in questo caso non si rivelano differenze significative fra i due blocchi.

I parametri idrologici presentano i più bassi coefficienti di autocorrelazione, non significativamente differenti da zero, salvo per il coefficiente a lag=1 della permeabilità del blocco 2.

I parametri relativi alla granulometria del terreno presentano, in generale, coefficienti più alti rispetto ai precedenti; tuttavia, solo quelli relativi a lag=1 per lo scheletro e la sabbia grossa nel blocco 2, il limo nel blocco 1, la sabbia fine e l'argilla in entrambi i blocchi risultano significativamente diversi da zero.

Un comportamento leggermente diverso presentano i coefficienti relativi ai parametri chimici esaminati: in generale risultano più alti,ad eccezione del rapporto C/N, della sostanza organica e dell'azoto, in entrambi i blocchi. I coefficienti di autocorrelazione significativamente diversi da zero sono risultati, sempre per lag=1, quelli relativi al calcare, al pH, al fosforo assimilabile ed al potassio totale in entrambi i blocchi. In particolare, per quest'ultimo parametro si è registrato il coefficiente di autocorrelazione con i valori piu'' alti, dovuto, probabilmente, alla presenza di un "trend" lungo entrambi i due blocchi. Eliminando, infatti, tale "trend" e ripetendo la stima dei coefficienti di autocorrelazione, i valori si abbassano sensibilmente, non risultando, quindi, significativamente diversi da zero, neppure per lag=1.

La determinazione dei coefficienti di autocorrelazione ha evidenziato, pertanto, che per l'area in studio i parametri idrologici risultano essenzialmente non autocorrelati; per le componenti granulometriche del suolo, essenzialmente solo il contenuto in sabbia fine ed argilla presentano un qualche grado di autocorrelazione, solamente fra i dati di parcelle contigue.

I parametri chimici risultano, in generale, più autocorrelati rispetto ai precedenti, sopratutto per quanto riguarda il contenuto in calcare, in fosforo assimilabile ed in potassio totale. Tuttavia, poichè per questi ultimi si rivela la presenza di un trend, è molto probabile che tale autocorrelazione sia essenzialmente dovuta alla componente determimnistica della variabilità spaziale, che tiene conto delle variazioni su larga scala, che non a quella aleatoria, che descrive le variazioni locali attorno a tale "trend".

L'esame dei variogrammi sperimentali delle nostre variabili, per entrambe le direzioni (figg. 3a,b,c,d,e,f,g) mostra l'esistenza dei tre tipi di situazioni illustrati precedentemente, oltrechè di alcuni casi di non facile interpretazione.

I variogrammi relativi ai parametri idrologici, ad

eccezione della permeabilità lungo la direzione 2, si possono considerare del I tipo ("effetto nugget" puro), il che conferma che tali variabili non presentano alcuna autocorrelazione spaziale, almeno alle scale di campionamento scelte. Variogrammi del II tipo, ovvero limitati, si possono considerare quelli della sabbia grossa, con un range pari a 3÷4 lag per la direzione 1 e 4÷5 lag per la direzione 2, della sabbia fine, range 3÷4 lag, del pH, range ≈5 lag; del fosforo totale, range 4-5 lag lungo la direzione 1 e range=3 lag lungo la direzione 2.

Variogrammi del III tipo, ovvero non limitati, si possono considerare quelli dello scheletro lungo la direzionei,del limo e dell'argilla per entrambe le direzioni,della permeabilita' lungo la direzione 2,del calcare,del fosforo assimilabile,del potassio totale e scambiabile lungo entrambe le direzioni.

La spiegazione possibile di tale andamento è l'esistenza di una variazione a scala più grande rispetto a quella di campionamento.

Un andamento più irregolare, difficilmente classificabile nei tre tipi precedenti, presentano, invece, i variogrammi della sostanza organica e dell'azoto, che mostrano una tendenza ad aumentare fino a distanze di oltre 7 lag, e quello del rapporto C/N, decisamente erratico.

Inoltre, i variogrammi della sabbia grossa del blocco 1, dello scheletro e del fosforo totale del blocco 2 presentano un comportamento distinto per piccoli lag (variogramma limitato), con una tendenza nuovamente a crescere per lag grandi.

La difficile interpretazione fisica del variogramma sperimentale è, probabilmente, dovuta - come accennato prima - alla contemporanea presenza nel suolo di etereogeità a scale differenti, che pertanto si manifestano come effetto di "rumore" o di disturbo alla scala di campionamento scelta.

CONCLUSIONI

L'analisi sulle variabili regionalizzate ha posto in evidenza come alcune di esse presentano delle tendenze o "derive" a grande scala che spiegano una parte della loro variabilità. E' dunque possibile, almeno in via teorica, modellare ciascuna variabile regionalizzata come la somma di una "deriva" e di un residuo e, relativamente a quest'ultimo, confrontare il comportamento spaziale fra le variabili.

E', pertanto, necessario quantificare la "deriva", secondo una delle diverse soluzioni proposte (Webster, 1985; Voltz e Barnard, 1988), per separare la componente aleatoria da quella deterministica nella variabilità spaziale e, quindi, interpretare correttamente le correlazioni lineari fra le diverse variabili in studio.

Se si astrae da tale deriva, il nostro studio ha constatato l'assenza di una chiara struttura spaziale almeno a grandi distanze, relativamente allo strato di 40 cm di profondità.

Ciò è facilmente spiegabile dal fatto che le lavorazioni creano delle variabilità importanti, come, ad es., nelle macroporosità alle piccole distanze (Cassel, 1983), che

mascherano le variabilita'"naturali" (di orgine pedogenetica o morfologica).

Da questo studio geostatistico emergono alcune considerazioni metodologiche. E' essenziale determinare la struttura spaziale di una variabile regionalizzata a diverse scale, per poter proporre, in seguito, uno schema di campionamento ottimale tale da fornire informazioni indispensabili ad una successiva interpolazione.

Per evidenziare le caratteristiche spaziali della superficie in studio, occorre quindi progettare un dispositivo sperimentale che permetta il calcolo del variogramma a differenti scale.

Tenendo conto anche delle informazioni preliminari ottenute dalle osservazioni di campo e di laboratorio, potrà essere scelto, secondo i casi, o un dispositivo lineare con passo variabile, diretto secondo i gradienti principali, oppure, una griglia fine quadrata o a triangolo equilatero (isotropia) o rettangolare, allungata nella direzione di minore variabilità (anisotropia) o, infine, una ripartizione aleatoria dei punti di prelievo, quando non appare a priori alcuna struttura particolare.

Si deve notare, tuttavia, che per scopi cartografici il piano di prelevamento dovrebbe essere, preferibilmente, una griglia regolare, in modo da avere una mappa di precisione omogenea.

Un altro problema importante è l'esistenza di dati aberranti, che conviene evidenziare dal momento che essi possono esercitare una influenza notevole nella stima del variogramma (Beucher-Daricau, 1981). Se tali variazioni sono improvvise e poco rappresentative, deve essere chiarita la loro effettiva appartenenza al fenomeno in studio. Anche qui, tuttavia, è un problema di scala: molte di queste etereogeneità, infatti, scompaiono se il fenomeno viene studiato ad una scala maggiore.

In particolare, in questo studio, è stato osservato come la parcella 2, per la sua particolare destinazione, presenta valori eccezionalmente alti nelle variabili chimiche esaminate.Escludendola dall'analisi strutturale, si guadagnerebbe in omogeneità statistica delle variabili regionalizzate per il calcolo del variogramma.

L'approccio statistico qui presentato, tuttavia, deve essere considerato un primo tentativo per risolvere razionalmente problemi inerenti schemi irrigui, di fertilizzazione, di sistemi e tecniche colturali, ecc.

Nel nostro caso, la presenza di una struttura spaziale della varianza solo a lag = 1 e la variazione sistematica nella distribuzione spaziale di alcune proprietà del suolo, dovute alla coltivazione o a precedenti movimenti di terra per la sistemazione della rete irrigua aziendale nei due blocchi, indica che i campionamenti randomizzati devono essere evitati ad ogni costo.

Un'ultima considerazione è che la scelta del modello strutturale è essenzialmente legata alla scala di campionamento e che la validità del variogramma è eminentemente locale. Di conseguenza il significato fisico del "range" e del "sill" risulta considerevolmente ridimensionato e questo ci deve trattenere da una facile generalizzazione dei risultati dell'analisi strutturale.

BIBLIOGRAFIA

BEUCHER.-DARRICAU,H., 1981 - Approche géostatistique du passage des donnèes de terrain aux paramètres des modèles en hydrogéologie. These de docteur ingénieur, E.N.S.M.P., Fontainebleau, 118 p.

CASSEL,D.K., 1983 - Spatial and temporal variability of soil physical properties following tillage on Norfolk loamy sand. Soil Sci. Soc. Am. J., 47:196-201.

DELHOMME,J.P., 1978 - Kriging in the hydroscience. Adv. Water Resour., 1:251-266.

FIREMAN,M., 1944 - Permeability measurements on disturbed soil samples. Soil Sci., 58:337-341.

FISHER,R.A., 1942 - The design of experiments, 3ª ed., Oliver & Boyd, Edimburgo.

MATHERON,G., 1971 - The theorie of regionalized variables and its applications. Ecole des Mines, Fontainebleau (France).

PAPOULIS,A., 1965 - Probability, random variables and stochastic processes. McGraw Hill, New York.

PHILIPS,J.R., 1974 - Fifty years progress in soil physics. Geoderma, 12:265-280.

VOLTZ,M., BORNAND,M., 1988 - Analyse de la variabilité spatiale des proprietés physiques du sol, in: "Calvet,R. (ed.), 1987, Etudes sur les transferts d'eau dans le système sol-plant-atmpsphere, pagg. 101-131". Comptes-rendus des travaux effectés dans le cadre de l'Action thématique programmée "Eau", I.N.R.A., Paris.

WEBSTER,R., 1985 - Quantitative spatial analysis of soil in the field. Adv. in Soil Science, 3:1-69.

TABELLA I - Statistica di base delle proprietà idrologiche, fisiche e chimiche del suolo esaminato (epipedon 0-40 cm).
(Basic statistics of the hydrological, physical and chemical properties of the studied soil (epipedon 0-40 cm).

Caratteristica del suolo		Nr var.	Min.	Med.	Max	D. st.	C.V.
Capacità di campo	%	35	36,50	40,06	46,50	2,06	5,15
Punto di appassimento	"	35	18,57	20,95	23,00	1,07	5,08
Permea.	cm/h	35	0.50	3,45	30.70	4,95	143,16
Scheletro	%	35	0	1,63	30,90	5,15	315,03
Sabbia gr.	"	35	2,70	5,65	10,40	1,81	32,08
Sabbia fine	"	35	12,50	17,99	24,60	3,44	19,15
Limo	"	35	22,10	28,88	36,20	3,65	12,62
Argilla	"	35	34,30	47,34	56,70	5,87	12,41
Calcare	"	35	0	5,26	13,70	2,90	55,03
Sos. Org.	"	35	2,02	2,46	7,63	0,94	37,96
Reazione	pH	35	7,62	8,06	8,35	0,19	2,39
C/N		35	6,86	7,49	8,11	0,32	4,27
Azoto	%	35	1,13	1,39	1,94	0,15	11,14
P_2O_5	"	35	1,17	1,66	3,40	0.45	26,83
K_2 sol. in HCl	"	35	11,48	14,47	17,38	1,67	11,54
P_2O_5 ass.	p.p.m.	35	2,94	87,80	477,00	79.00	89,98
K scam. (come K120)	"	35	1284,00	1739,49	3226,00	342,92	19,71

Tabella 2 - Modelli di distribuzione delle variabili esaminate secondo le due direzioni.
(Distribution models of the studied variables along the two transects).

Variabili	Direzione I Modello di distribuzione	Direzione II Modello di distribuzione
Capacità di campo	log normale	normale
Punto di appassimento	log normale	normale
Scheletro	Weibull	log normale
Sabbia grossa	normale	normale
Sabbia fine	normale	log normale
Limo	normale	normale
Argilla	normale	normale
Permeabilità	log normale	log normale
Calcare	normale	log normale
pH	normale	log normale
Sostanza organica	log normale	log normale
Azoto	log normale	normale
Rapporto C/N	log normale	normale
P_2O_5 totale	log normale	log normale
P_2O_5 assim.	log notmale	normale (*)
K_2O totale	log normale	log normale
K scambiab.	log normale	log normale

(*) In tale distribuzione non sono stati presi in considerazione i 3 valori più alti relativi alle prime tre parcelle.

Tabella 3 - Coefficienti di correlazione risultati statisticamente significativi fra le variabili esaminate.
(Statistical significant correlation coefficients between the studied variables).

Variabili	Coefficiente	Variabili	Coefficiente
SG-SF	0,623 **	ARG-KT	0,400 *
SG-ARG	0,642 **	ARG-KS	0,700 **
SG-pH	0,535 **	CAL-N	0,353 *
SG-N	0.339 *	CAL-C/N	0,419 *
SG-PT	0.686 **	CAL-KT	0,764 **
SG-PAS	0,548 **	pH-PT	0,549 **
SG-KT	0,481 **	pH-PAS	0,470 **
SG-KS	0,717 **	pH-KT	0,610 **
SF-ARG	0,810 **	pH-KS	0,415 *
SF-pH	0,442 **	SO-N	0,454 **
SF-PT	0,524 **	N-PT	0,667 **
SF-PAS	0,472 **	N-PAS	0,649 **
SF-KT	0,493 **	N-KT	0,454 **
SF-KS	0,654 **	N-KS	0,579 **
LIM-ARG	0,608 **	PT-PAS	0,774 **
LIM-CAL	0,391 *	PT-KT	0,556 **
LIM-C/N	0,462 **	PT-KS	0,786 **
ARG-pH	0.468 **	PAS-KT	0,581 **
ARG-PT	0,582 **	PAS-KS	0,774 **
ARG-PAS	0,471 **	KT-KS	0,527 **

** significativo a P = 0,01
* significativo a P = 0,05

DIDASCALIE DELLE FIGURE

Figg. 1a,b,c,d,e - Andamento delle variabili per funzione del n° d'ordine delle parcelle per la direzione 1 e 2 e schema dell'azienda.
(Graphs of the studied variables versus plot number along the transects one and two and scheme of the experimental farm.

Figg. 2a,b,c,d,e - Grafico dei coefficienti di autocorrelazione in funzione del numero di lag delle variabili esaminate per la direzione 1 e per CA, PA, PERM, SC, SG, LIM, ARG, SF, CAL, pH, SO, C/N ed N per la direzione 2.
(Graphs of the autocorrelation coefficients of the studied variables along the transect one and of CA, PA, PERM, SC, SG, LIM, ARG, SF, CAL, pH, SO, C/N, N alomg the transect two versus the number of lags.

Figg. 3a,b,c,d,e,f - Grafico dei coefficienti di autocorrelazione in funzione del numero di lag per le variabili PT, PAS, KT, KS per la direzione 2 e variogrammi sperimentali delle variabili esaminate per le direzioni 1 e 2.
(Graphs of the autocorrelation coefficients of PT, PAS, KT, KS along the transect versus the number of lags and the experimental variograms of the studied variables along both transects.

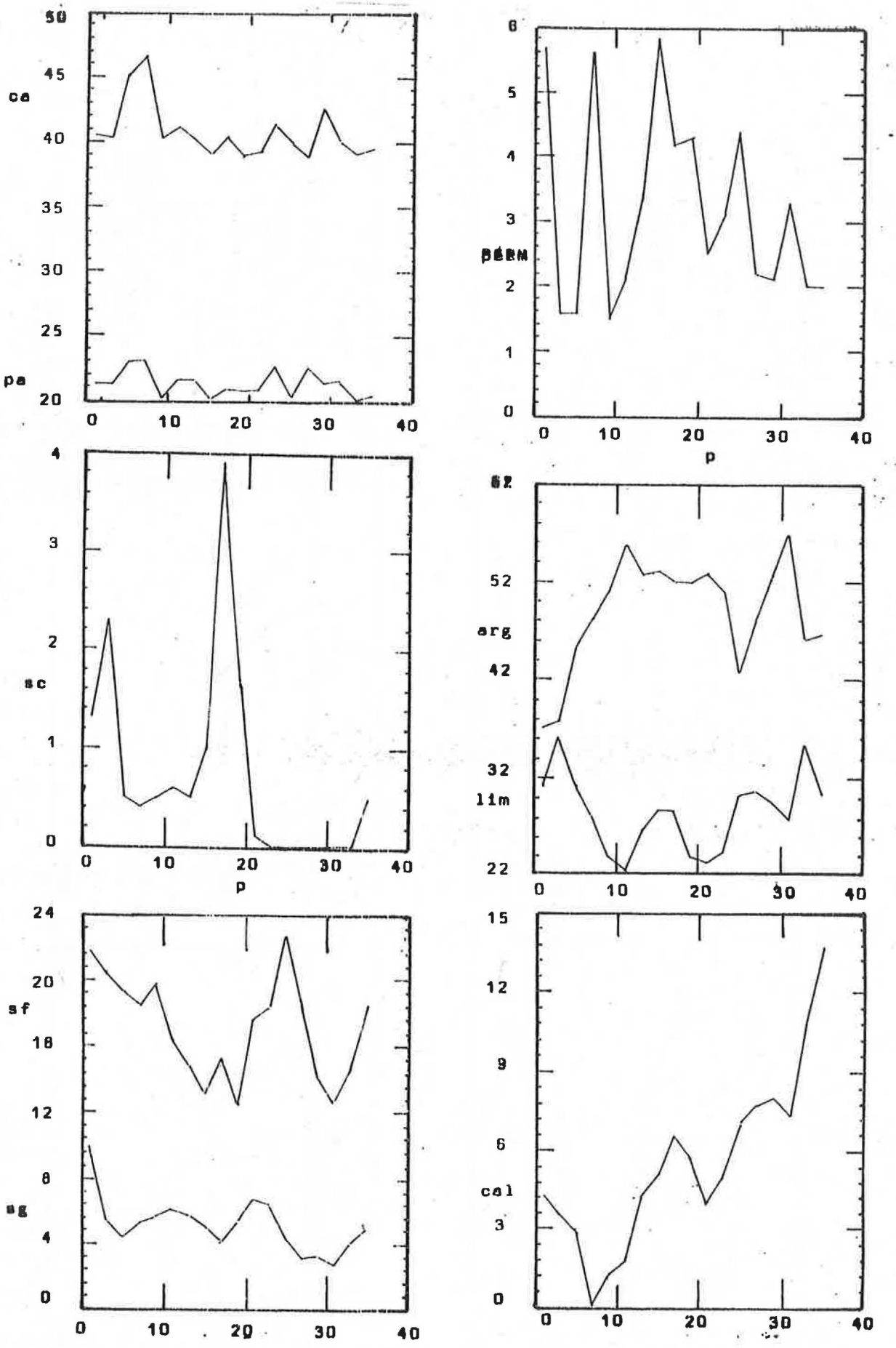


FIG. 1a

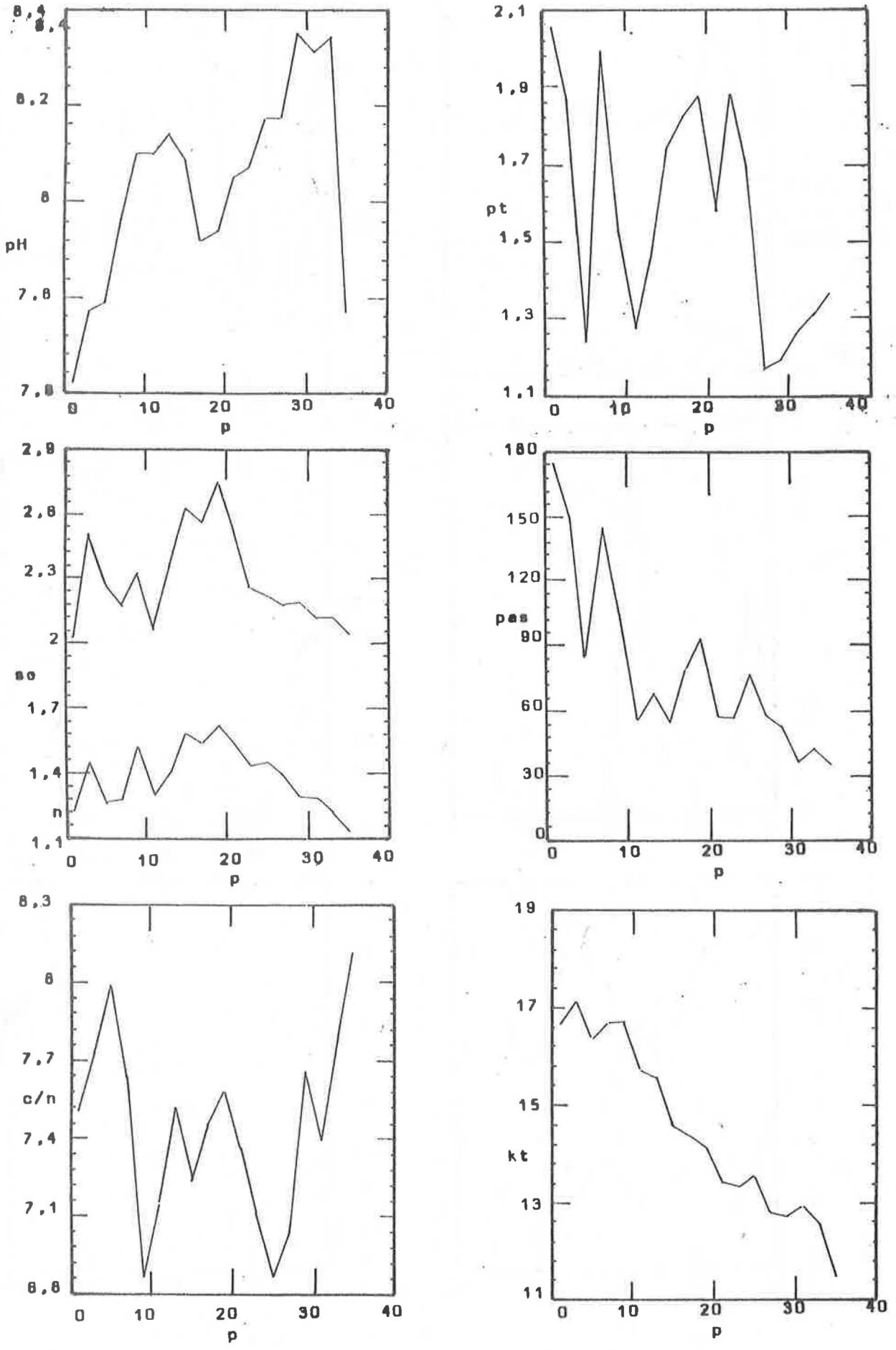


FIG. 1b

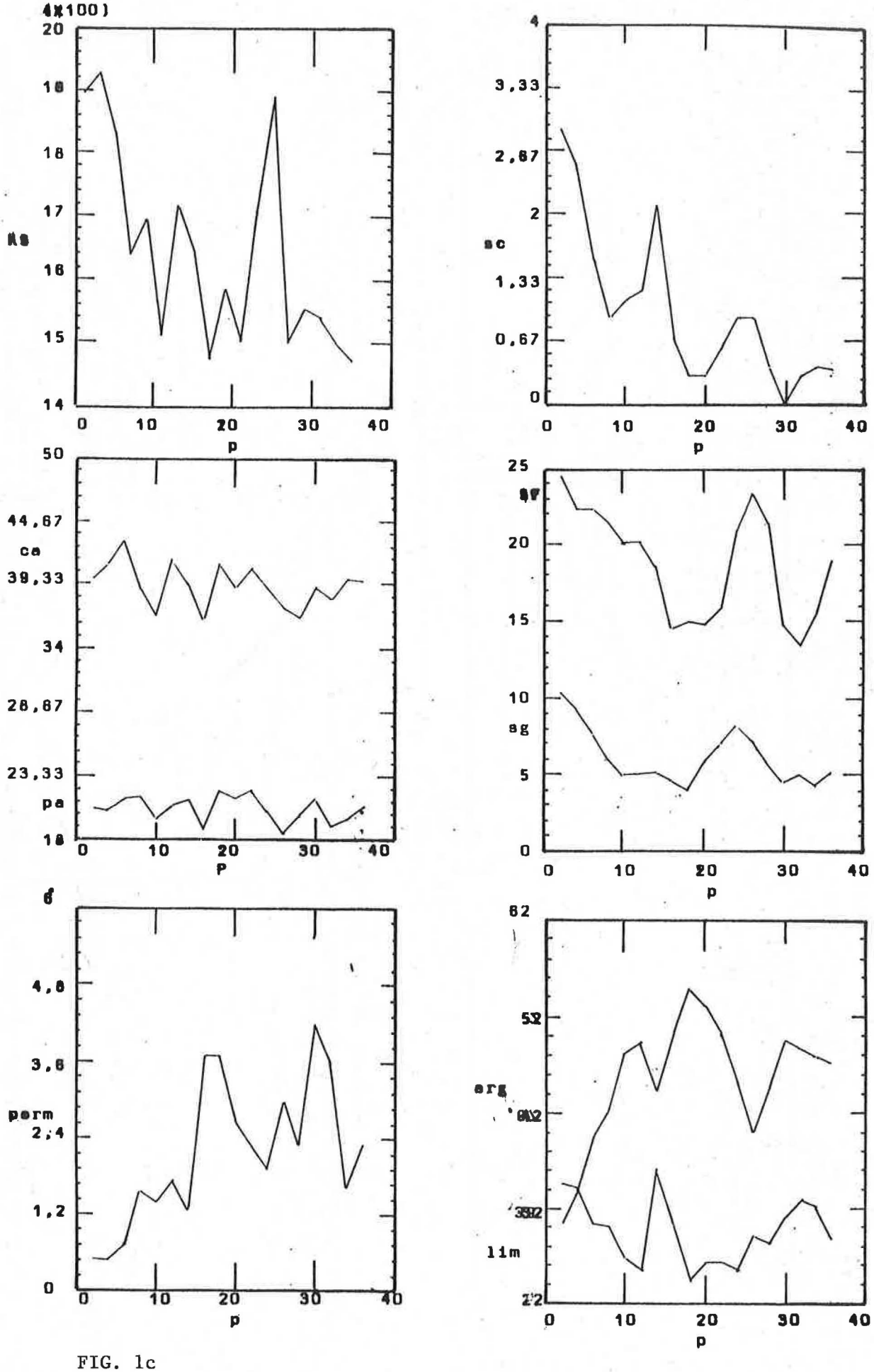

(x100)
20
18
18
17
16
15
14
0
10
20
30
40
p
4
3,33
2,67
2
1,33
0,67
0
50
44,67
39,33
34
28,67
23,33
18
25
20
15
10
5
0
6
4,8
3,6
2,4
1,2
0
62
52
42
32
22

FIG. 1c

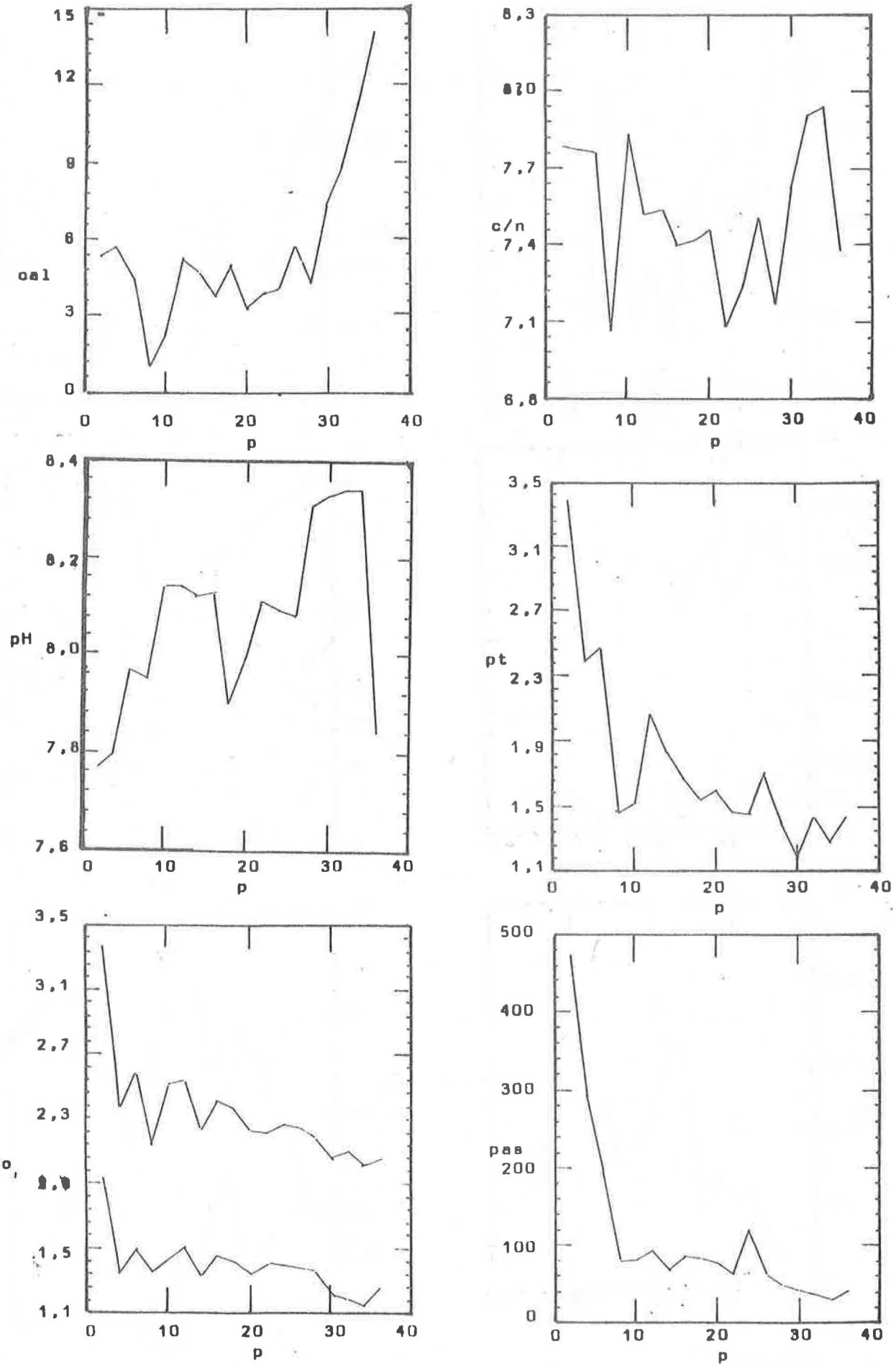

15
12
9
6
3
0
oal
0 10 20 30 40
p
8,3
8,0
7,7
c/n
7,4
7,1
6,8
0 10 20 30 40
p
8,4
8,2
pH
8,0
7,8
7,6
0 10 20 30 40
p
3,5
3,1
2,7
pt
2,3
1,9
1,5
1,1
0 10 20 30 40
p
3,5
3,1
2,7
2,3
1,5
1,1
0 10 20 30 40
p
500
400
300
pas
200
100
0
0 10 20 30 40
p

FIG. 1d

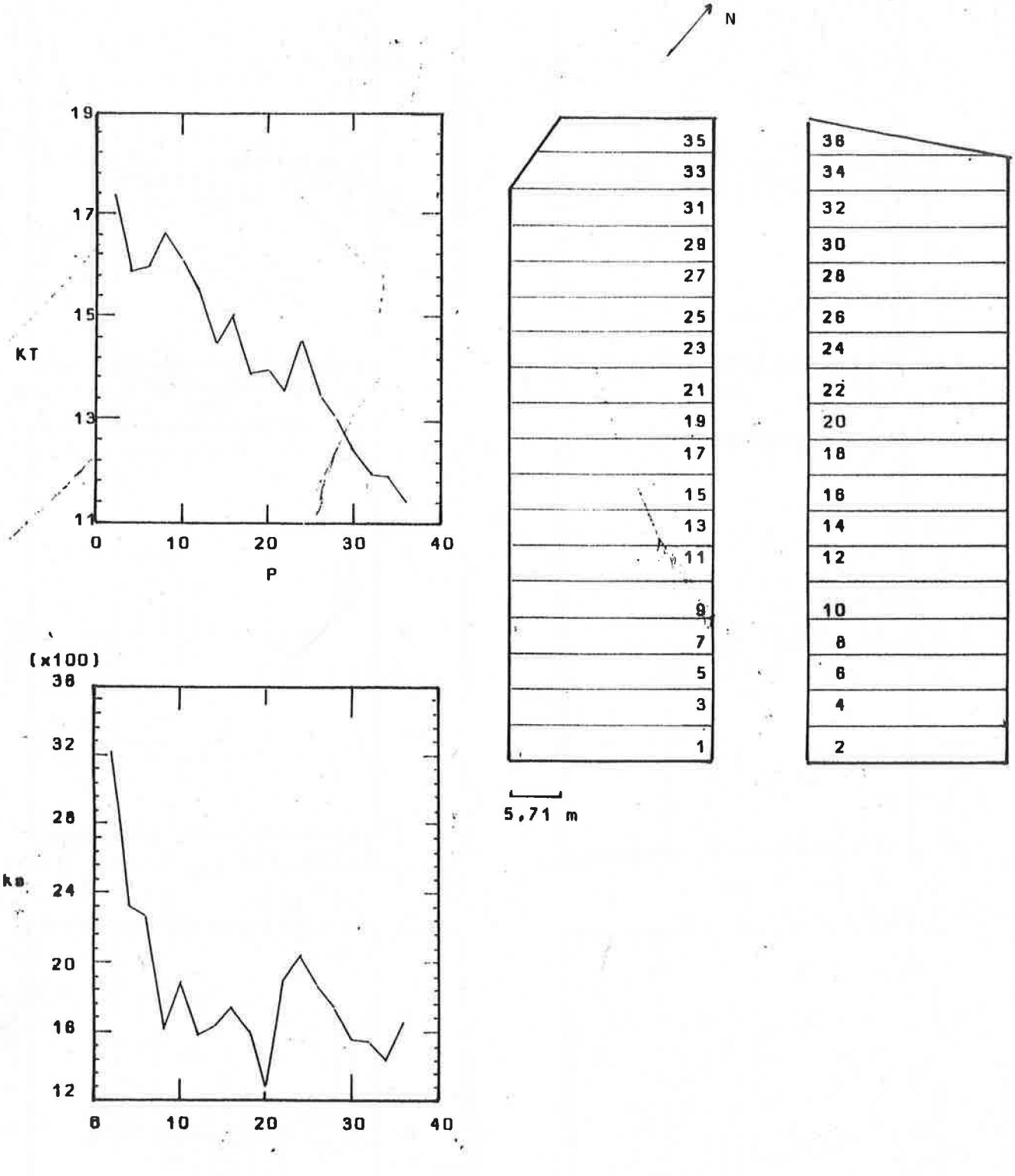

N
KT
19
17
15
13
11
0
10
20
30
40
P
(x100)
36
32
28
24
20
16
12
kg
6
10
20
30
40
35
33
31
29
27
25
23
21
19
17
15
13
11
9
7
5
3
1
38
34
32
30
28
26
24
22
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
5,71 m

FIG. 1e

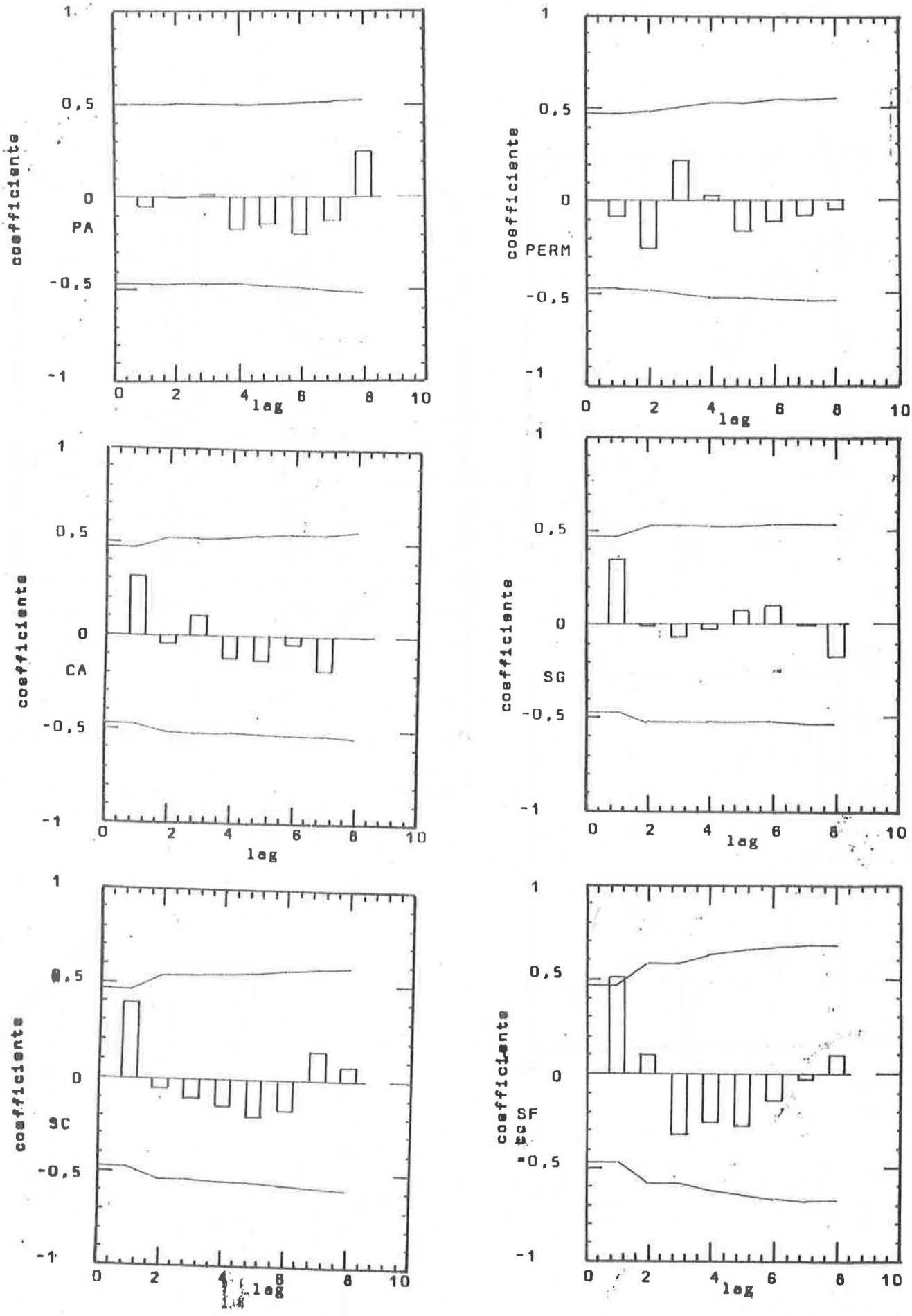


FIG. 2a

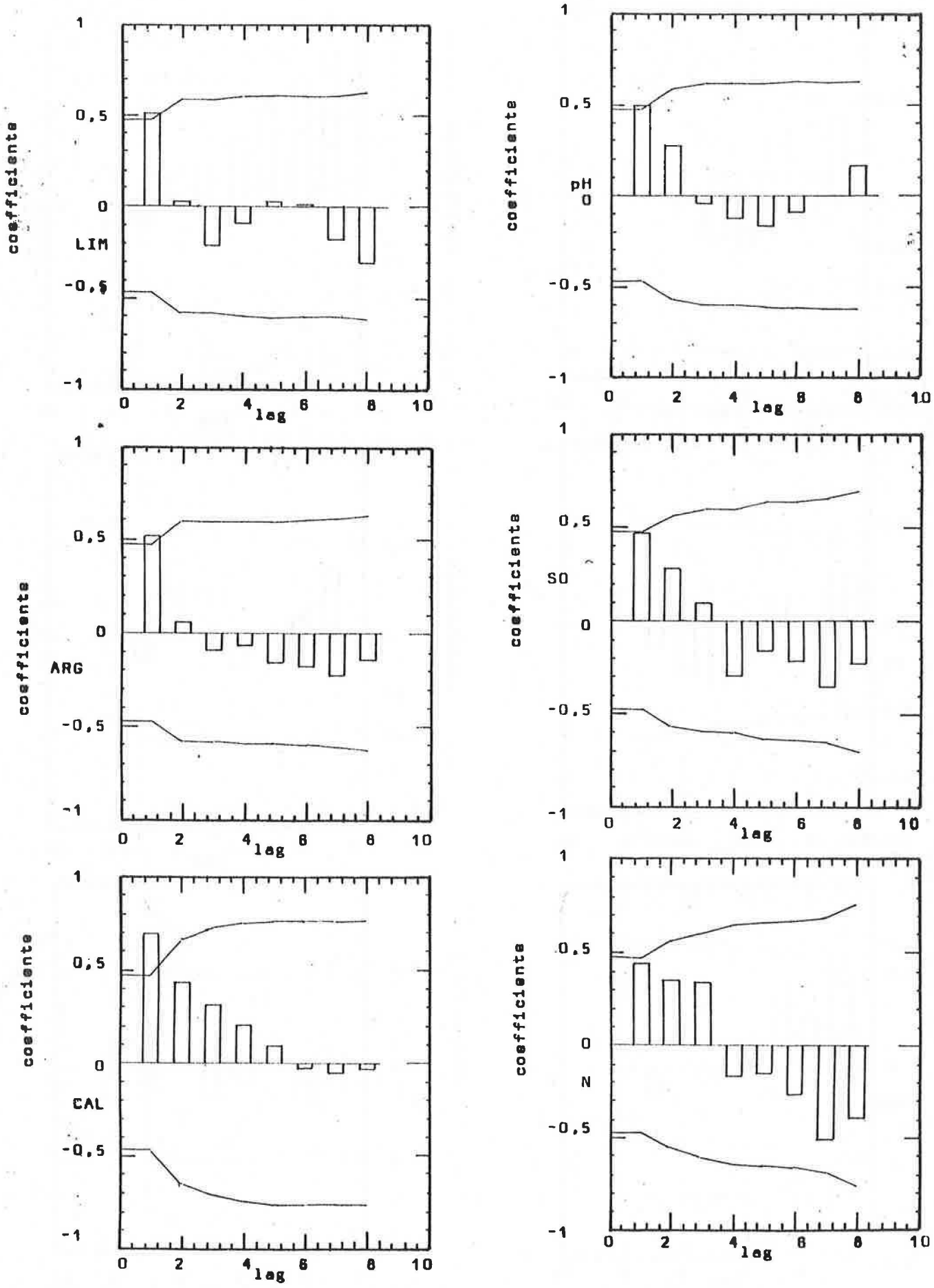


FIG. 2b

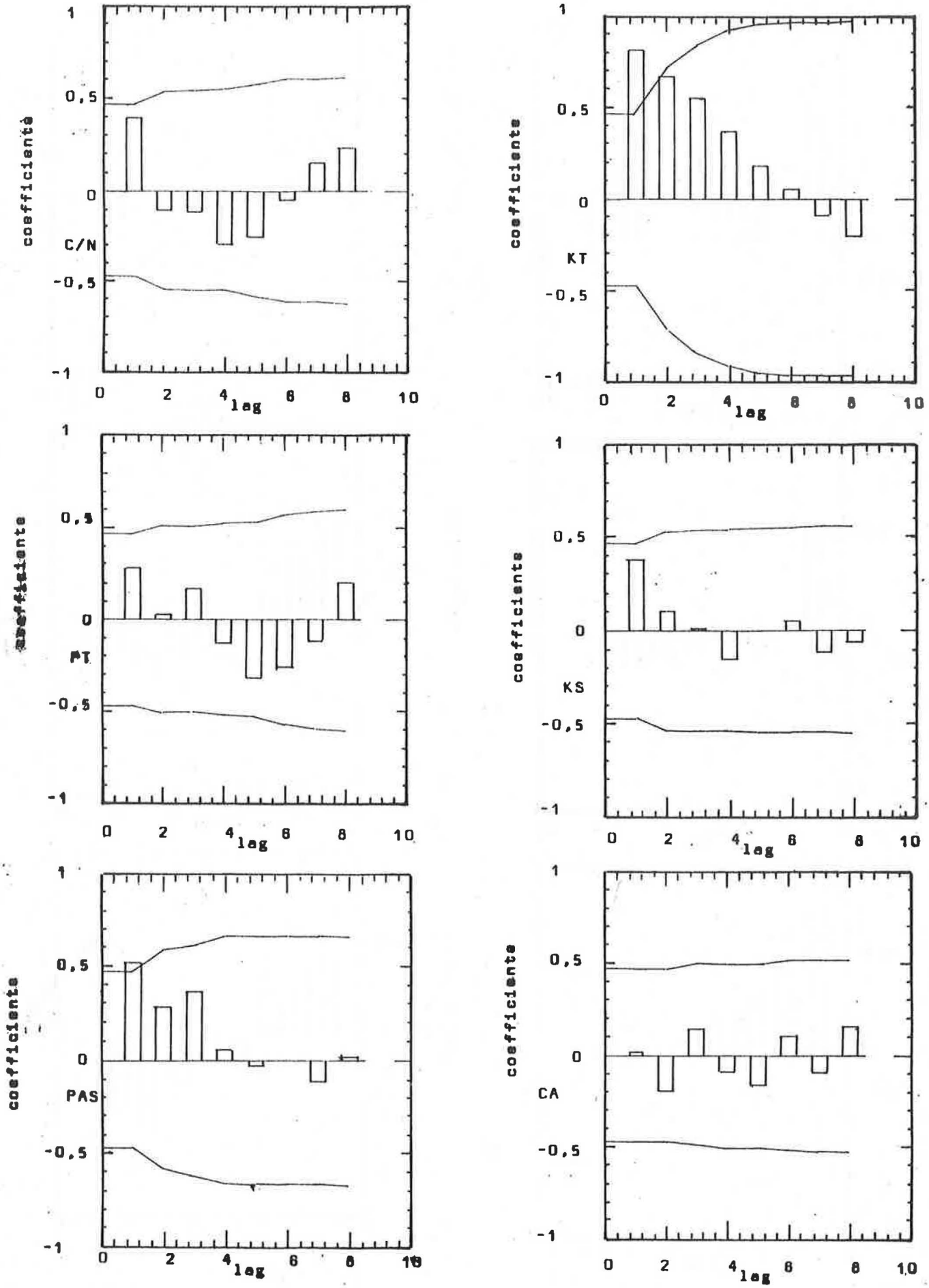


FIG. 2c

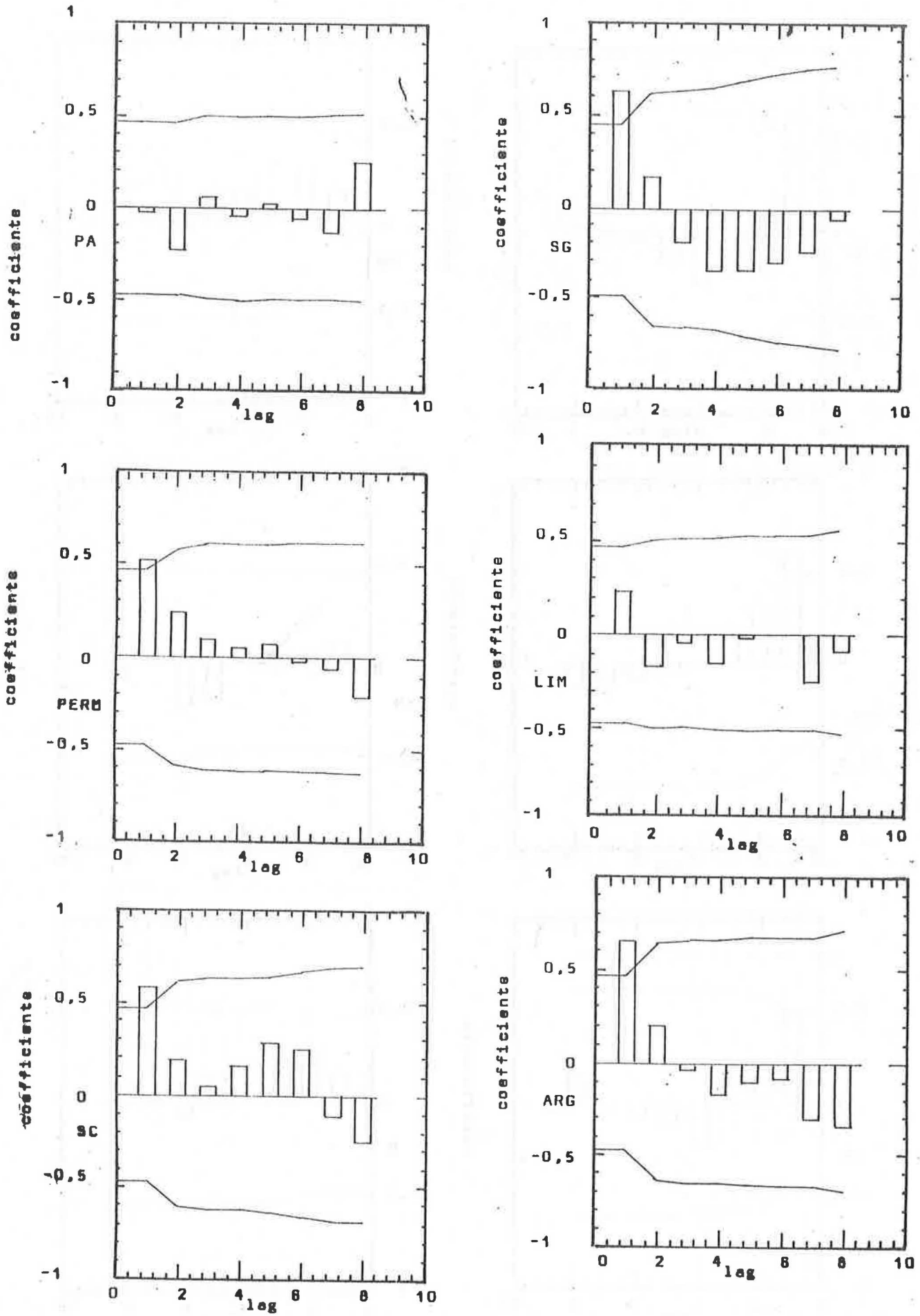


FIG. 2d

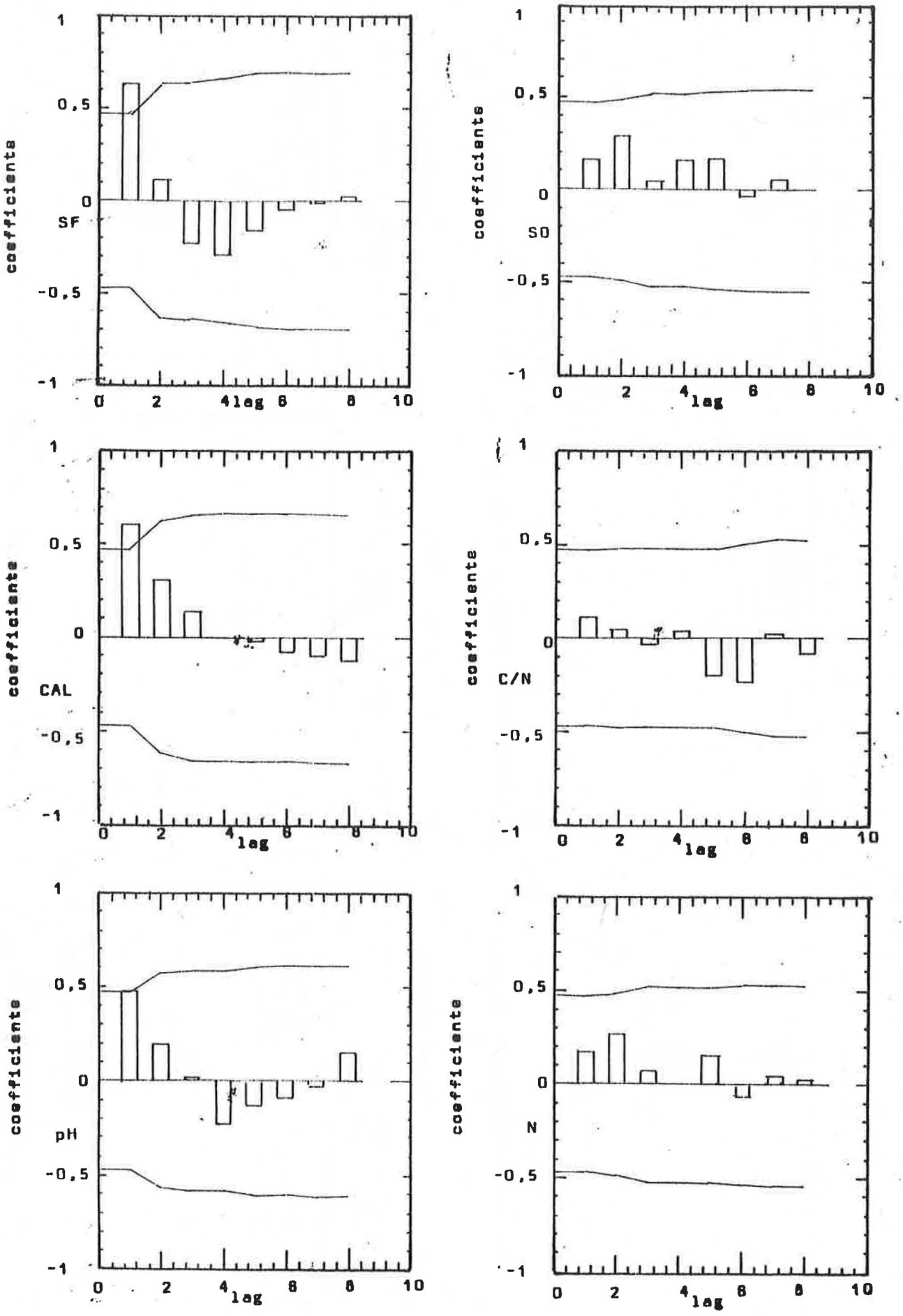


FIG. 2e

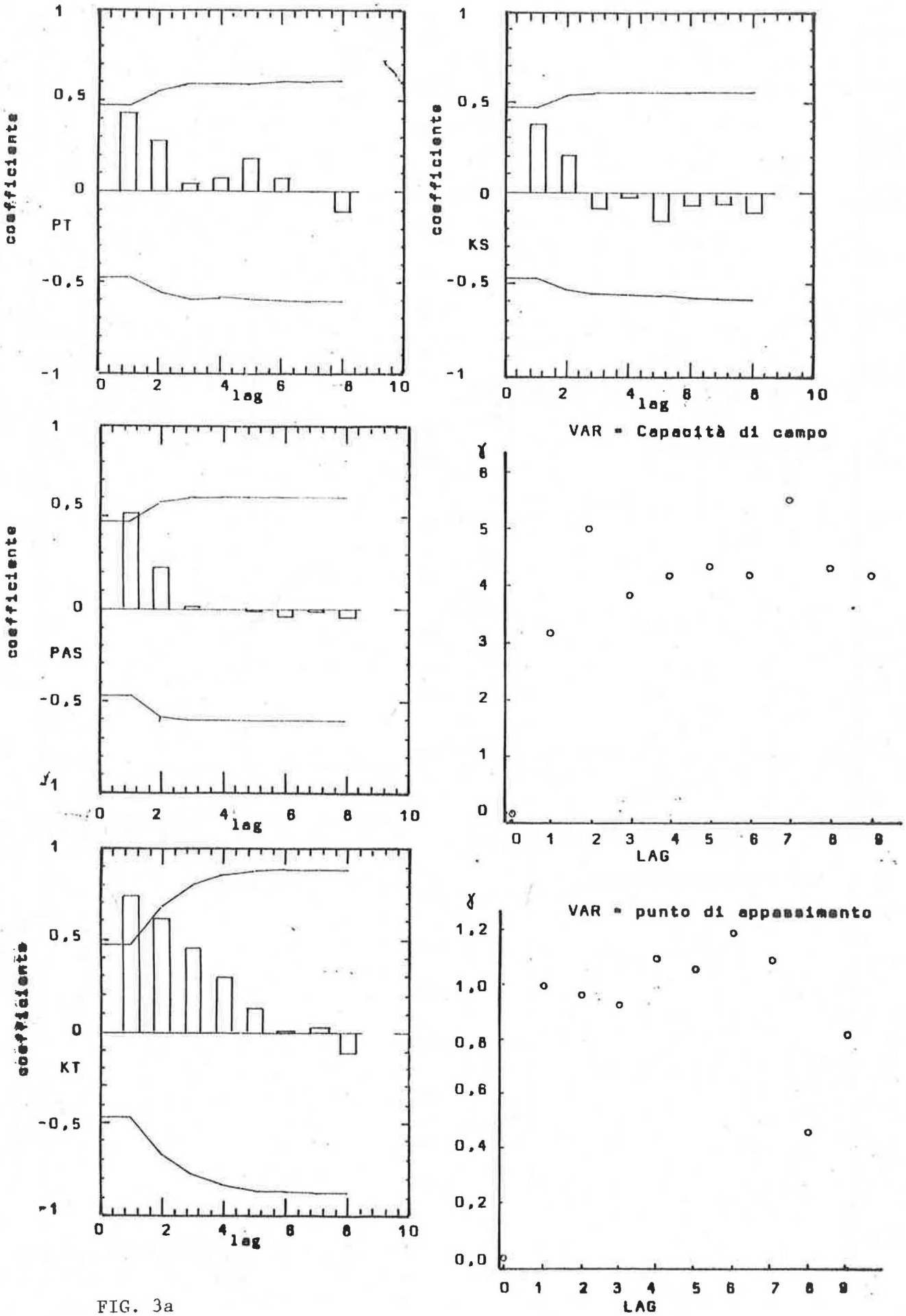

coefficiente
PT
KS
PAS
KT
lag
VAR = Capacità di campo
VAR = punto di appassimento
LAG

FIG. 3a

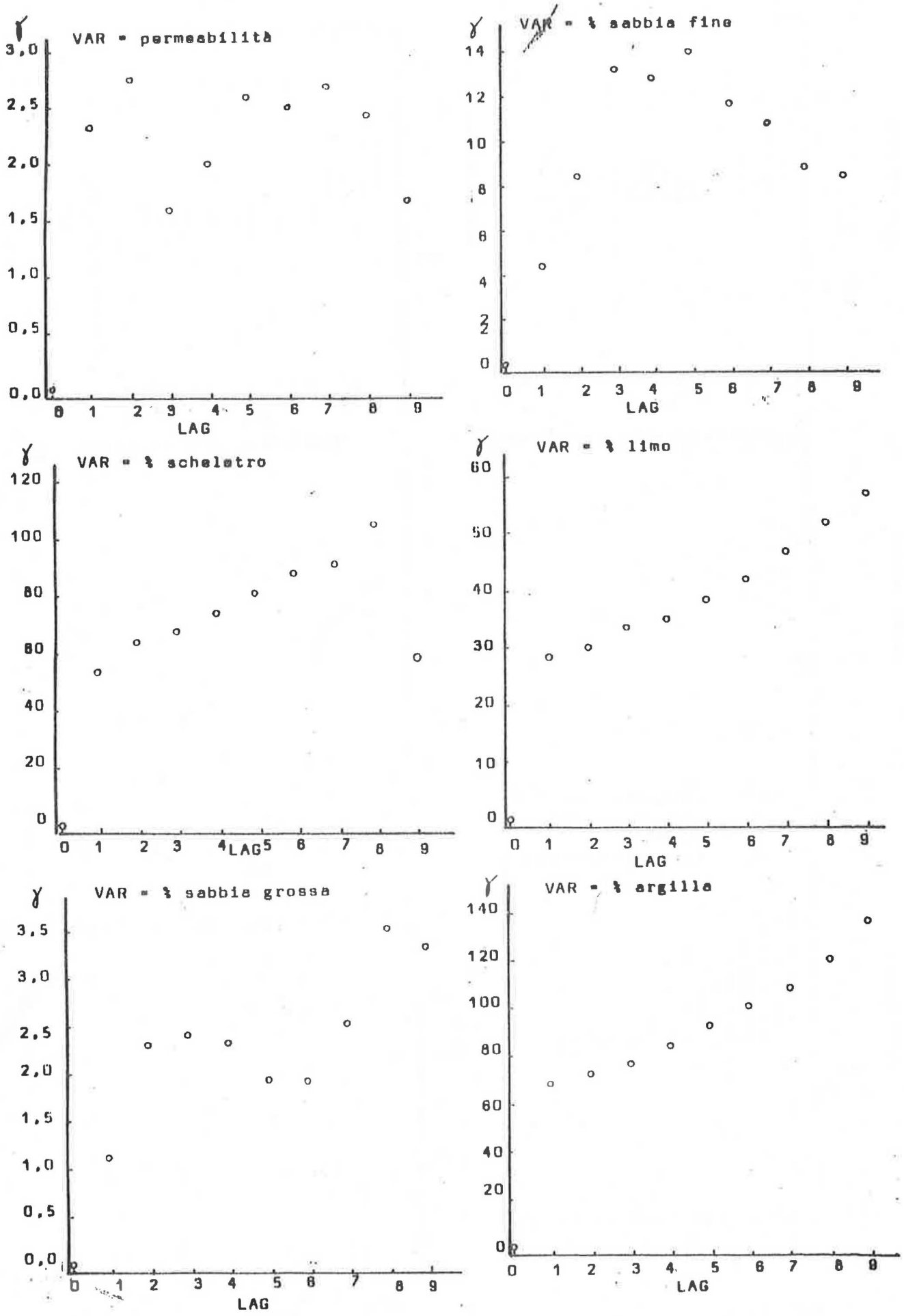
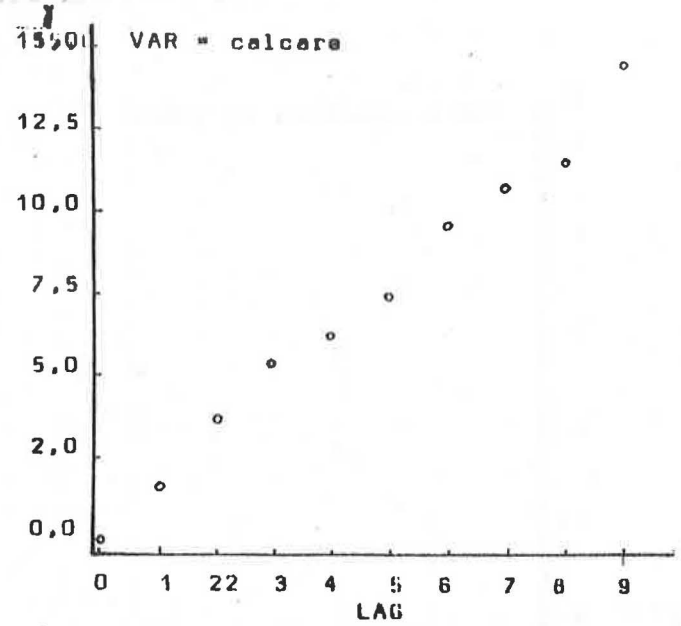
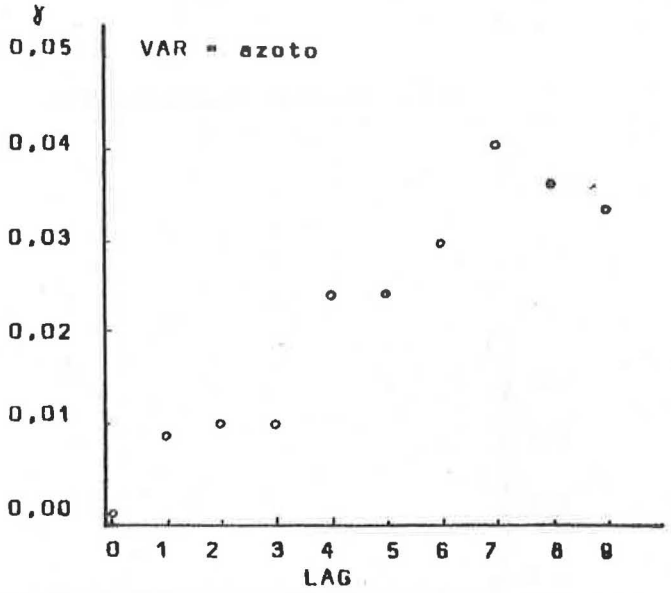
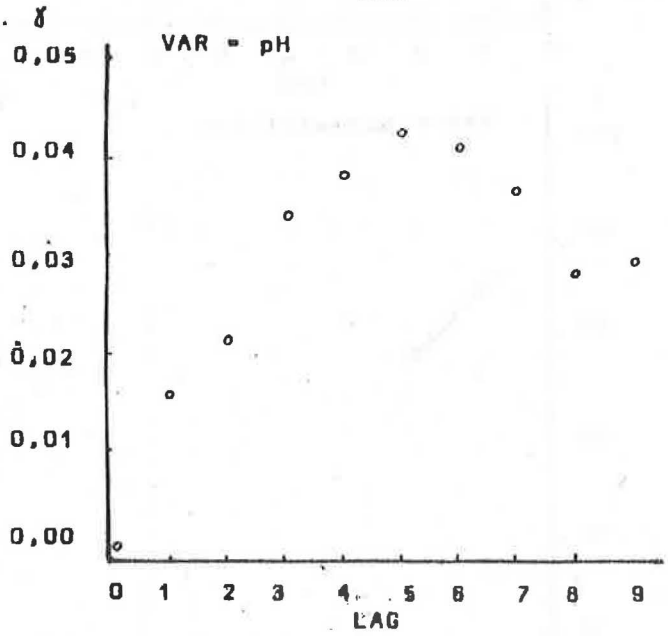
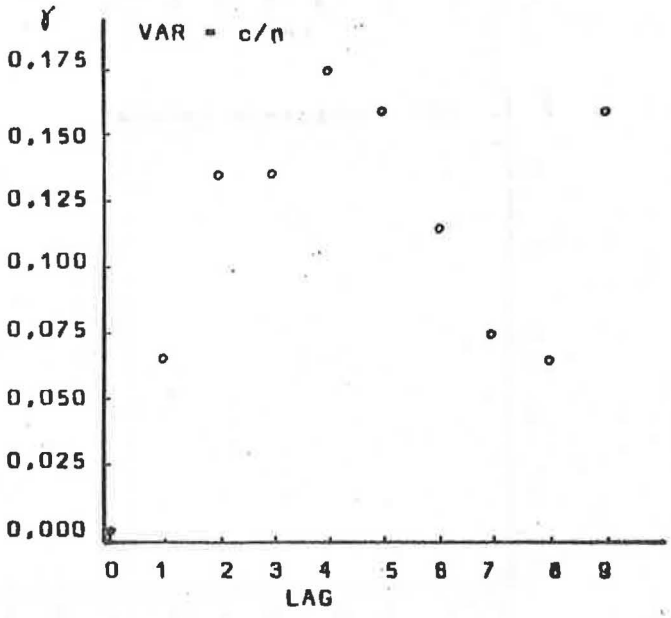

γ
VAR = permeabilità
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG
γ
VAR = % sabbia fine
14
12
10
8
6
4
2
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG
γ
VAR = % scheletro
120
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG
γ
VAR = % limo
60
50
40
30
20
10
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG
γ
VAR = % sabbia grossa
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG
γ
VAR = % argilla
140
120
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG

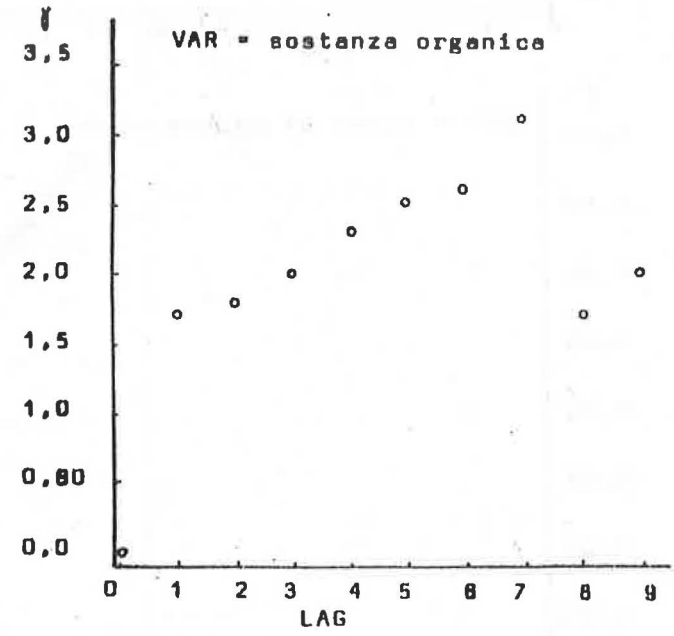
FIG. 3b


γ
VAR = calcare
15,0
12,5
10,0
7,5
5,0
2,0
0,0
0 1 22 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = azoto
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = pH
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = c/n
0,175
0,150
0,125
0,100
0,075
0,050
0,025
0,000
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = sostanze organica
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,80
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG

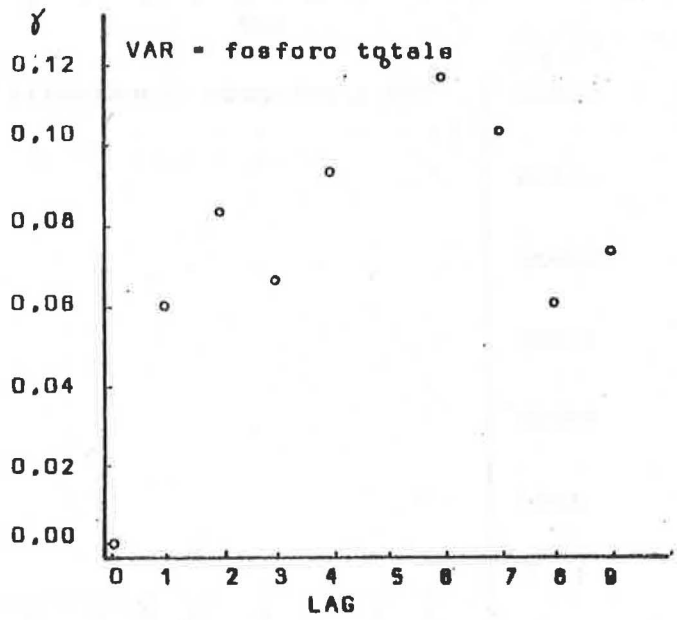
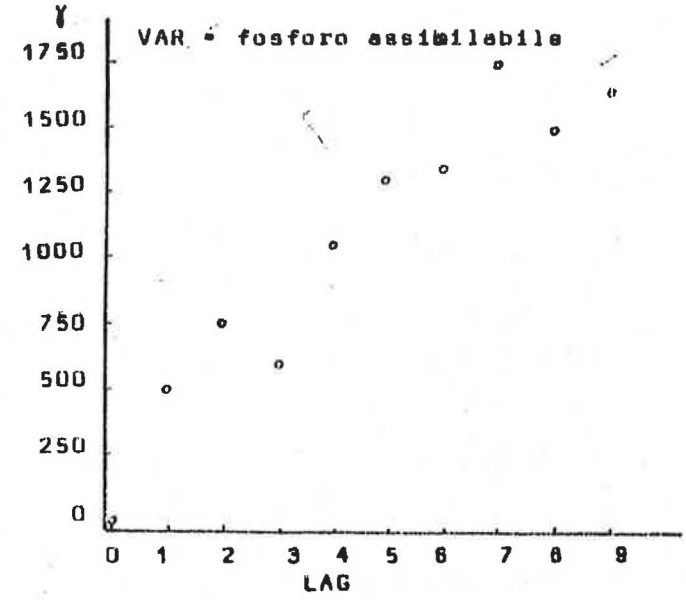
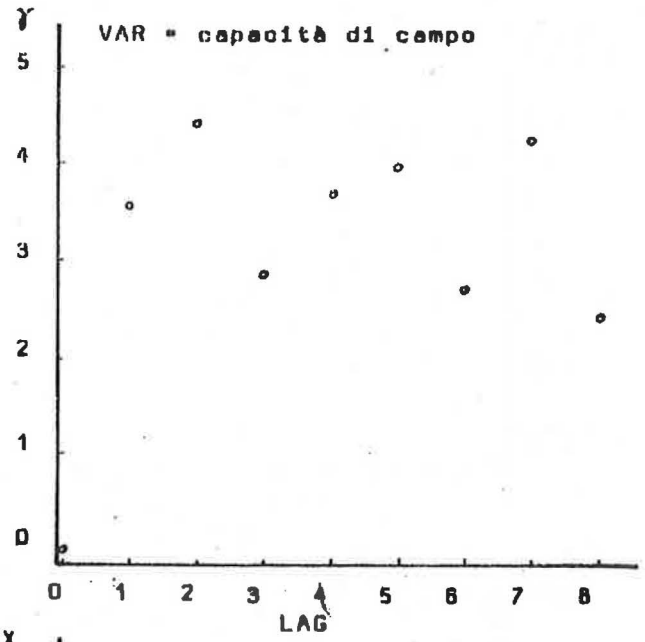
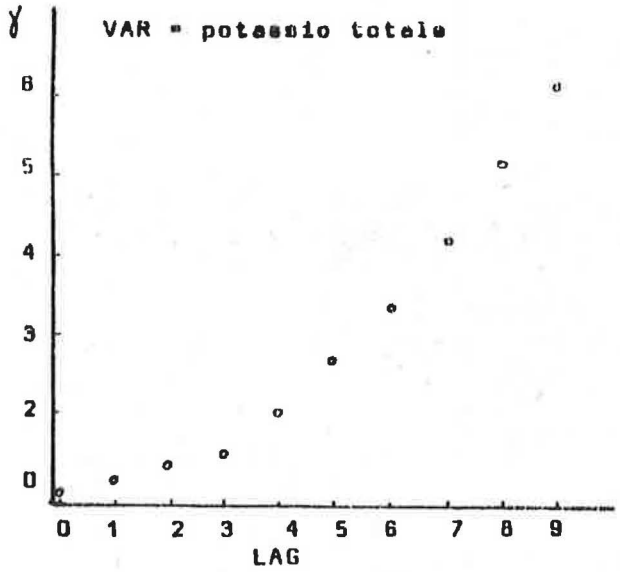
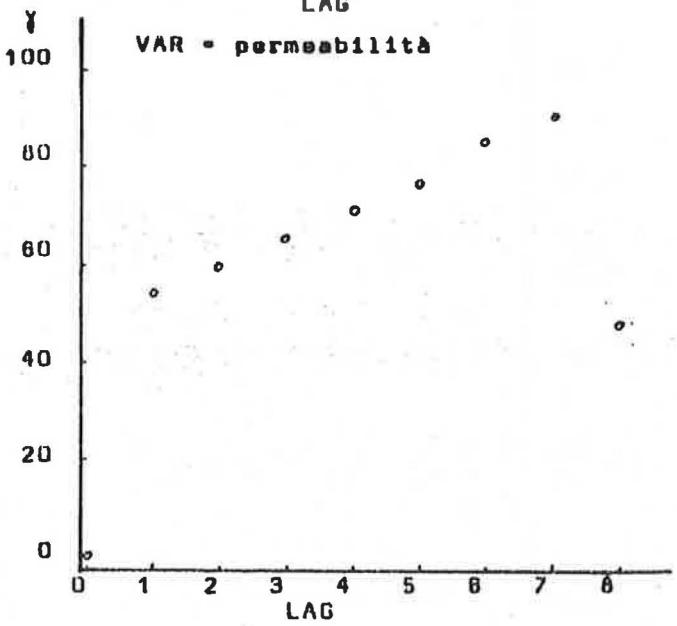

γ
VAR = fosforo totale
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG

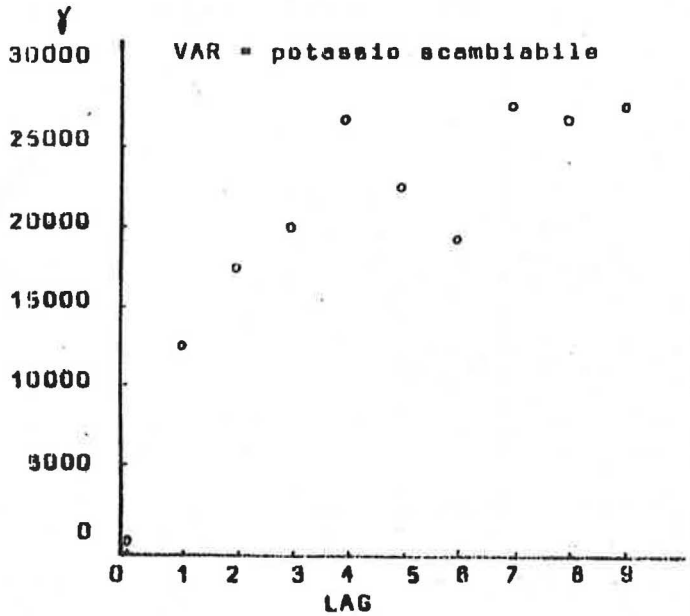
FIG. 3c


γ
VAR = fosforo assimilabile
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = capacità di campo
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = potassio totale
8
5
4
3
2
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG


γ
VAR = permeabilità
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = potassio scambiabile
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9
LAG

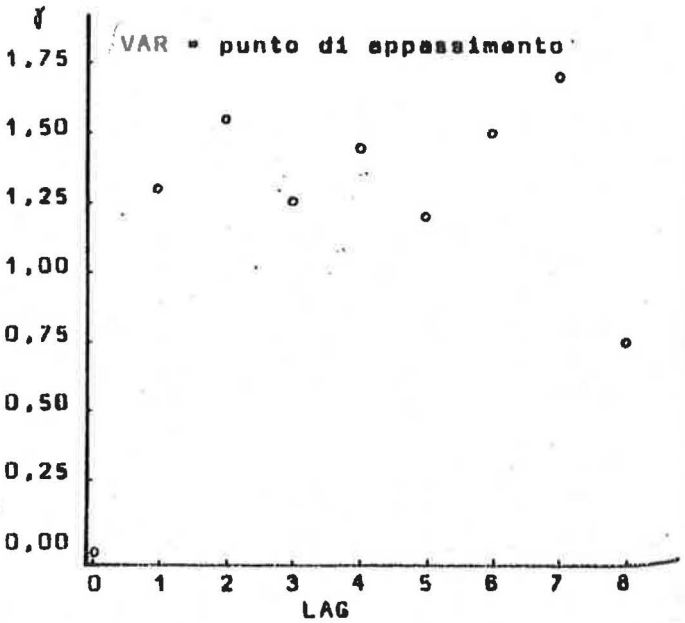
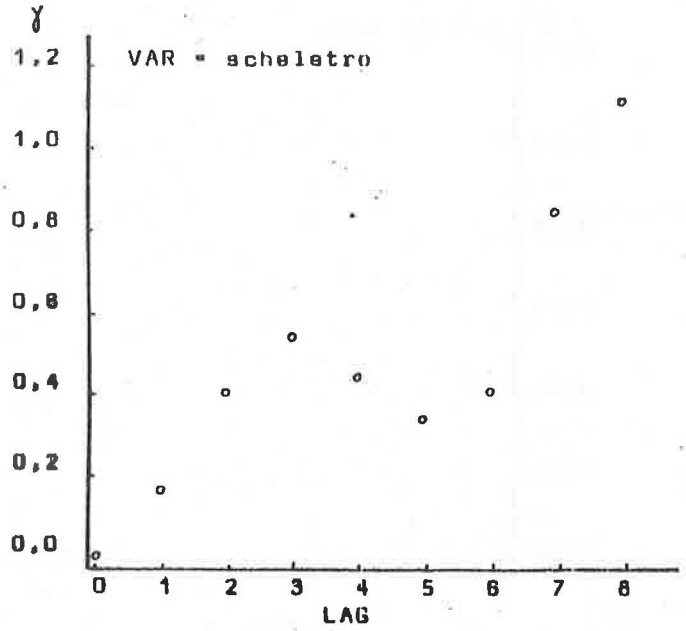
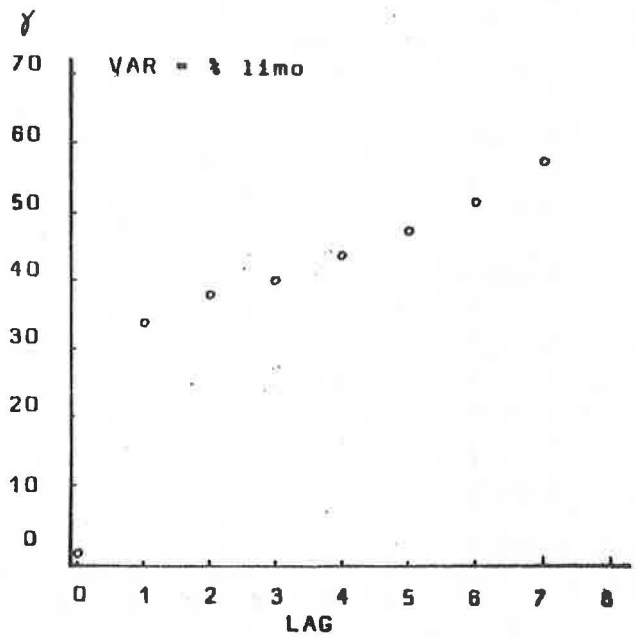
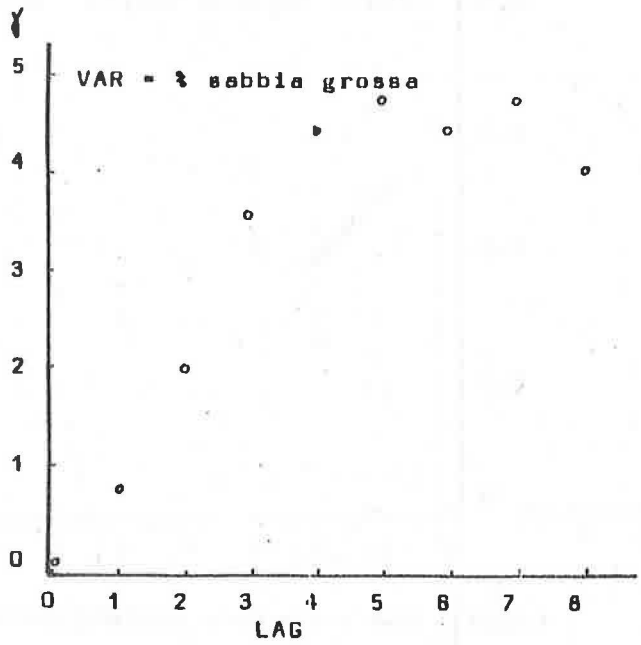
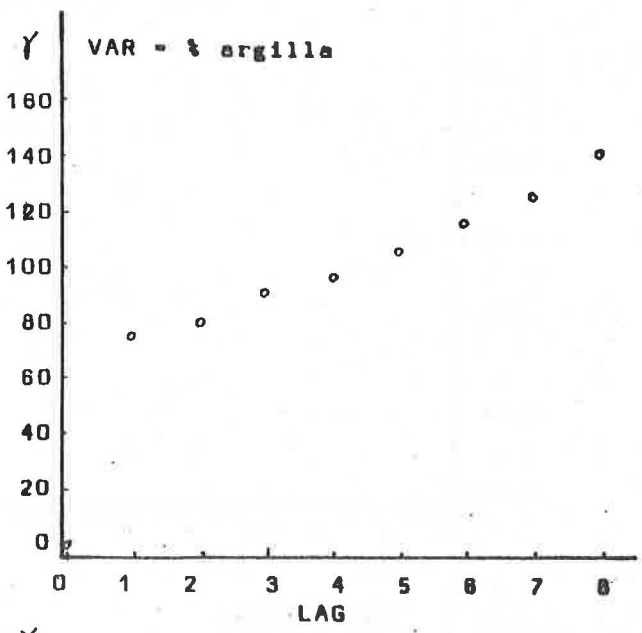

γ
VAR = punto di appassimento
1,75
1,50
1,25
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG

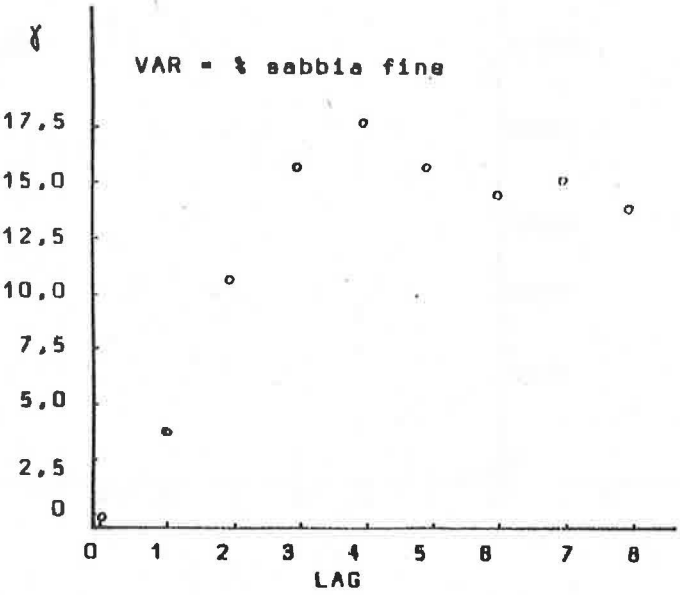
FIG. 3d


γ
VAR = scheletro
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = % limo
70
60
50
40
30
20
10
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = % sabbia grossa
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = % argilla
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG


γ
VAR = % sabbia fine
17,5
15,0
12,5
10,0
7,5
5,0
2,5
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG

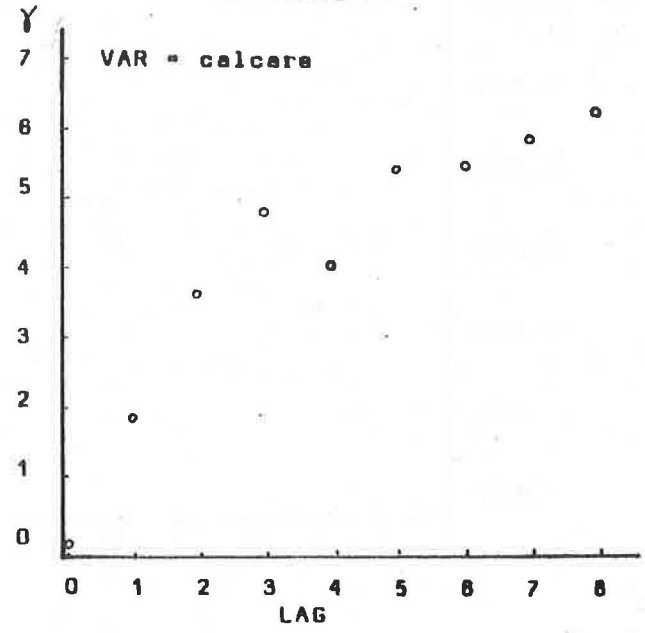

γ
VAR = calcare
7
6
5
4
3
2
1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG

FIG. 3e

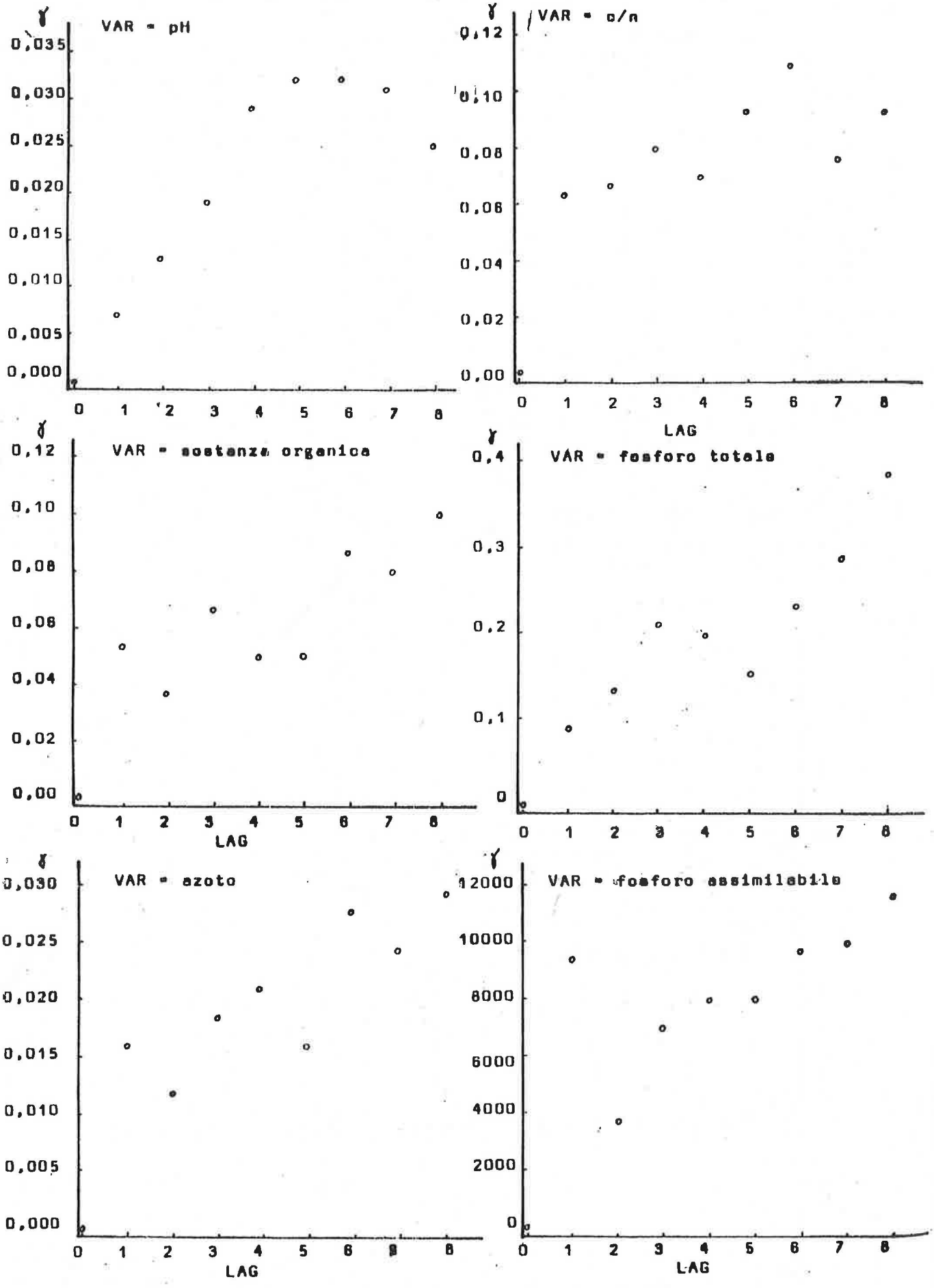

γ
VAR = pH
0,035
0,030
0,025
0,020
0,015
0,010
0,005
0,000
0 1 2 3 4 5 6 7 8
γ
VAR = c/n
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG
γ
VAR = sostanza organica
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG
γ
VAR = fosforo totale
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
γ
VAR = azoto
0,030
0,025
0,020
0,015
0,010
0,005
0,000
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG
γ
VAR = fosforo assimilabile
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG

FIG. 3f

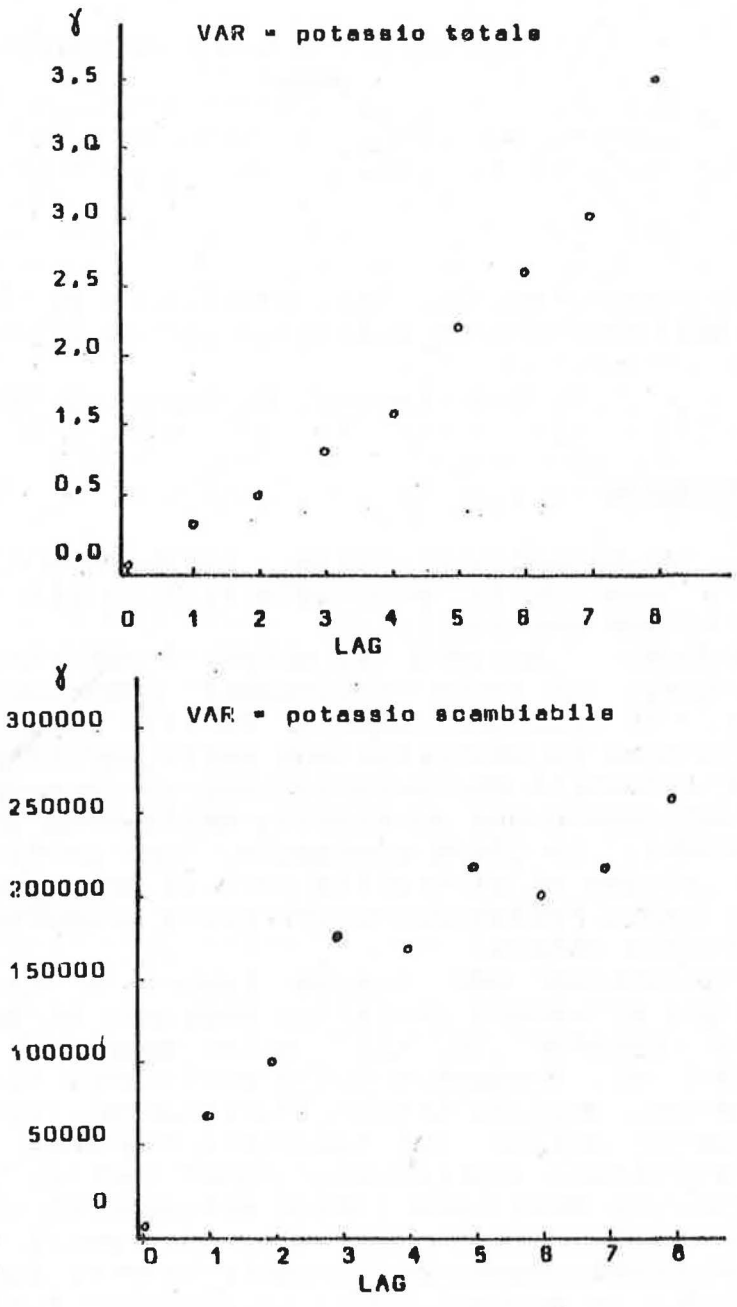

γ
VAR = potassio totale
3,5
3,0
3,0
2,5
2,0
1,5
0,5
0,0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG
γ
VAR = potassio scambiabile
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8
LAG

FIG. 3g

Verona 1988

ISTITUTO SPERIMENTALE AGRONOMICO
BARI

DISTRIBUZIONE DI PARTICELLE DI SUOLI DIFFERENTI NELL'INTERVALLO 0.63÷12.7 µm CON IL COULTER COUNTER TA II

A. Castrignanò, G. Lopez, G. Marrone

RIASSUNTO

La distribuzione delle particelle elementari, la tessitura, è una delle proprietà fisiche più importanti per la caratterizzazione dei suoli.

Recentemente, accanto ai metodi tradizionali per l'analisi granulometrica, si sono sviluppati con successo i metodi elettronici. Il Coulter Counter TA II, utilizzato in questo studio, determina la distribuzione delle particelle, misurando il numero e l'intensità delle variazioni di impedenza elettrica che si verificano quando una particella attraversa un campo elettrico.

Poichè, in tale passaggio, una particella di tereno sposta un volume di elttrolita pari al proprio, la variazione prodottasi nella resistenza elettrica è proporzionale al volume della particella stessa.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di sviluppare una procedura analitica mediante il metodo elettronico del Coulter Counter TA II, allo scopo di confrontare le distribuzioni di frequenza delle particelle elementari di due suoli: il primo, argillo-limoso (Vertisuolo, Typic Chromoxerert) su Quaternario antico del Tavoliere Pugliese (Foggia) ed il secondo, argilloso (Entisuolo, Aquic Vertic Xerofluvent), su alluvioni recenti dell'arco ionico metapontino (Matera).

Le distribuzioni di frequenza per i due suoli sono risultate statisticamente differenti: per il suolo alluvionale, più simmetrica e centrata nell'intervallo 2,52÷3,17 µm, cioè nella classe del limo fine, mentre per il Vertisuolo risulta più spostata verso le particelle più fini e centrata nell'intervallo 1-1.26 µm,nella classe dell'argilla.

L'analisi elettronica ha confermato i risultati della analisi granulometrica classica (metodo alla pipetta): nello Xerofluvent, infatti, vi è una componente maggiore di limo rispetto al Vertisuolo,che contribuisce,con l'alto contenuto di argilla, a caratterizzare la tessitura ancora più fine del primo

suolo rispetto al secondo.

PARTICLE SIZE DISTRIBUTION OF TWO SOILS IN THE RANGE 0.63-12.7um USING THE COULTER COUNTER TA II

SUMMARY

Particle size distribution, or texiture, is one of the most informative physical properties of soil. Electronic particle size analysis has become widely used in soil science over the past few years.

The Coulter Counter, model TA II, used in this study determines particle size distribution by measuring the number and magnitude of resistance changes produced when particles pass through an electrical field. Since a particle will displace its own volume of electrolyte, a change in resistance is proportional to the particle volume.

The aims of this study were to develop suitable operational procedures for electronic particle size distribution analysis of soils and to compare the frequency distributions obtained for two different soils.

Samples of two soils: a Vertisoil, Typyc Chromoxerert (Foggia) and an Entisoil Aquic Vertic Xerofluvent (Metaponto), taken at different sampling points and depths, were analysed with the Coulter Counter TA II.

The particle size distributions for the two soils were compared and found to be statistically different. The shape of the Metaponto distribution curve was more symmetric, with its peak falling in the 2.52-3.17 μm interval, i.e. in the fine silt class. The Foggia distribution curve is more skewned towards the smaller diameters, with its peak in the 1-1,26 μm interval, i.e. in the clay class.

Electronic analysis has confirmed that the silt content in the Metaponto soil is greater than in the Foggia one.

INTRODUZIONE

La distribuzione delle particelle di terreno in classi di differenti dimensioni (tessitura) è una delle più importanti proprietà fisiche del suolo, costituendo essa la base per poter fare delle previsioni sulla sua capacità a formare aggregati più o meno stabili (struttura), sul suo comportamento all'acqua (curve tensiometriche) o, ancora, sui processi di rimozione e trasporto per percolazione e dilavamento (illuviazione).

Oltre che influire su proprietà del suolo di indubbio interesse agronomico, essa può essere un valido mezzo d'indagine negli studi pedogenetici, quali, ad es., l'identificazione di suoli di origine eolica e loro proprietà (Lewis et al., 1984) o sedimentologici, dove il trasporto massico del suolo è fortemente influenzato dalle dimensioni delle particelle più fini

(Tamura, 1976).

Sebbene sia ormai universalmente riconosciuta l'importanza della distribuzione delle particelle nella caratterizzazione dei suoli e dei materiali pedogenetici, la sua determinazione analitica richiede, tuttavia, un lungo dispendio di tempo. Attualmente, infatti, tranne rare eccezioni, (Smith, 1942; Swineford e Frye, 1951; Franzmeier, 1970; Dellino et al, 1987), i dati di tessitura disponibili riguardano solo suddivisioni arbitrarie delle frazioni di suolo <2 mm nelle classi generali di sabbia grossa e fine, limo grossolano, medio e fine e argilla.

In questi ultimi anni, tuttavia, si è venuta sviluppando rapidamente l'analisi elettronica delle particelle che, per i risultati ottenibili, si è già dimostrata un valido strumento d'indagine nel campo delle scienze terrestri; essa, infatti, ha già trovato applicazioni in sedimentologia (Walker et al., 1974), in vulcanologia (Dellino et al., 1987), e nella scienza del suolo (Muller e Tisue, 1977; Pennington e Lewis, 1979; Catone et al., 1986).

Walker et Hutka (1971) hanno usato un contatore elettronico di particelle, il Coulter Counter mod. B, per la determinazione della tessitura nell'intervallo del limo e dell'argilla di 5 suoli australiani. Jarvis e McCave (1973), utilizzando un contatore multicanale tecnologicamente avanzato, il Coulter Counter TA II, hanno determinato la quantità di sabbia fine e grossolana in campioni di sabbie fluviali, trovando il metodo accurato e rapido. Schideler (1976), analizzando, sempre con il Coulter Counter TA II, la distribuzione delle particelle nelle frazioni del limo e dell'argilla in fanghi marini, ha ammesso che - con una opportuna standardizzazione delle tecniche di laboratorio - l'analisi elettronica può essere superiore per velocità e convenienza al classico metodo della pipetta.

I principi operativi del Coulter Counter sono stati poi attentamente rivisti da diversi autori, come Scheldon e Parsons, (1967); Allen, (1974, 1978).

In sintesi, il Coulter Counter TA II, determina la distribuzione delle particelle di suolo, misurando il numero e l'intensità delle variazioni di impedenza prodotte dal passaggio di una singola particella attraverso un campo elettrico; poichè, in tale passaggio, una particella sposta un volume di elettrolita pari al suo, la variazione elettrica prodottasi è proporzionale al volume della particella stessa.

La carica e la forma delle particelle non influenzano significativamente l'analisi elettronica (Coulter, 1975), tuttavia, per l'affidabilità dei risultati, è necessario che siano rispettate le seguenti due condizioni:

a) le particelle devono avere una resistività differente da quella dell'elettrolita;

b) devono attraversare il campo elettrico una alla volta; il passaggio simultaneo di più particelle attraverso l'apertura del capillare, sede del campo elettrico, è detto "coincidenza".

Soddisfare il primo criterio non è un problema per particelle di suolo aventi generalmente un'alta resistività elettrica, purchè venga scelto opportunamente un elettrolita con una conducibilità relativamente più alta. Per minimizzare

l'errore di coincidenza, invece, è necessario operare una sufficiente diluizione del campione.

Obiettivo di questo lavoro è stato quello di mettere a punto, mediante l'analisi elettronica con il Coulter Counter TA II, una metodologia idonea a caratterizzare la distribuzione delle particelle di suolo, utilizzando il solo orifizio di 50 µm di apertura e di verificare la capacità discriminatoria dell'apparecchio, pur operando in un ristretto intervallo di dimensioni.

MATERIALI E METODI

a) Preparazione del campione

Per questo lavoro sono stati utilizzati 6 campioni di suolo di due diverse località (Foggia e Metaponto), ognuno con tre ripetizioni e prelevato a profondità diverse.

Il suolo di Foggia è un Vertisuolo, Typic Chromoxerert, su Quaternario antico del Tavoliere Pugliese, a tessitura argillo limosa molto profondo, ben drenato e con un orizzonte di arricchimento calcareo oltre un metro di profondità; il suolo di Metaponto è, invece, un Entisuolo, Aquic Vertic Xerofluvent, su alluvioni fluviali recenti fra i F. Bradano e Basento, a tessitura nettamente argillosa, molto profondo, non drenato e con una falda idrica salmastra superficiale.

Su una parte aliquota (20 g) di ogni campione, seccato all'aria e setacciato a 2 mm, è stata effettuata l'analisi granulometrica con il metodo classico alla pipetta, previa distruzione della sostanza organica e dispersione del campione con esametafosfato di sodio.

Nella tabella 1 vengono riportati i dati della granulometria ottenuti con il metodo classico della pipetta e raggruppati nelle quattro classi di grandezza del Sistema Internazionale di analisi meccanica.

Le sospensioni di limo-argilla, ottenute per sedimentazione delle frazioni più grosse, sono state fatte passare in un bagno agli ultrasuoni della frequenza di 47,6 KHz ± 10 % al fine di favorire la completa dispersione ed evitare la chiusura della piccola apertura del capillare. E' da notare che la disaggregazione rappresenta una fase delicata nella preparazione del campione per la relativa facilità con cui alcuni aggregati possono frammentarsi.

Secondo Walker e Hutka (1971), i campioni consistenti in limo fine e argilla, trattati con gli ultrasuoni nell'elettrolita opportuno, possono essere analizzati direttamente al Coulter.

Successivamente, gli stessi AA. (1973), hanno dimostrato che i comuni bagni ultrasonici disponibili in commercio (frequenza: ≈20 KHz e potenza: ≈125 watt) generalmente sono sufficienti a disaggregare i campioni nell'intervallo del limo-argilla e risultano meno distruttivi per gli aggregati più deboli di quanto non lo siano i comuni metodi consistenti

Tabella 1 - Tessitura media ottenuta con il metodo alla pipetta dei campioni esaminati.
(Averaged results of the particle size analysis with the pipette method for the soil samples considered).

Campione	Località	Profondità cm	Granulometria			
			Sabbia grossa %	Sabbia fine %	Limo %	Argilla %
3	Foggia	0÷40	10,36	17,55	24,40	47,69
4	"	0÷40	4,70	17,10	27,21	51,01
5	Metaponto	0÷20	0,95	4,93	41,95	52,12
6	"	20÷40	1,47	6,92	44,74	46,89
7	"	20÷60	1,31	6,98	45,60	46,13
8	"	0-20	1,94	6,09	41,53	50,45

nell'agitazione dei campioni. Naturalmente l'impiego degli ultrasuoni è legato all'uso di agenti alcalini disperdenti,come l'esametasfosfato di sodio, largamente impiegato per mantenere la stabilità colloidale (Hutton, 1955).

Nella nostra ricerca è stata seguita la procedura ad apertura singola di 50 µm (Manuale Coulter, 1975) per ottenere la distribuzione delle particelle con diametro da 0,63 a 12,6 µm. L'elettrolita usato è stato l'ISOTON II (Coulter Electronics Ltm), una soluzione filtrata all'1 % che, nel caso di piccole aperture, assicura il più basso rumore di fondo (Pennington e Lewis, 1979).

Durante il conteggio, furono usate le misure con una deflessione di meno del 5 % dell'indice di concentrazione nel pannello dello strumento, in quanto tali letture consentono di minimizzare l'errore per coincidenza.

L'uscita dal Coulter Counter è proporzionale al volume effettivo delle particelle; tuttavia, effettuando la calibrazione con sfere di latex di dimensioni note (2,07 µm per l'apertura di 50 µm), è possibile esprimere tale uscita in termini di diametro di una sfera di volume equivalente a quello rivelato per la particella misurata. Per sospensioni polidisperse, un analizzatore multicanale, dividendo l'intervallo di risposta dello strumento in 16 parti, produce un istogramma delle frequenze, espresse in percentuale, del volume delle particelle sferiche equivalenti.

E' da notare che con questa procedura non è necessario conoscere l'esatta concentrazione e il volume del campione.

L'ANALISI STATISTICA DEI DATI

I dati in uscita dal Coulter Counter, essendo di tipo categorico, in quanto possono venir rappresentati da una tabella di contingenza, sono stati analizzati utilizzando la procedura "CATMOD", del pacchetto di programmi di analisi statistica SAS/STAT.

E' stata effettuata un'analisi della varianza, usando come variabile dipendente il diametro equivalente delle particelle e come effetto principale le ripetizioni all'interno di ogni campione, al fine di rilevare differenze significative.

Tale analisi fu quindi ripetuta per località, considerando come effetto principale i singoli campioni; infine, tutti i dati furono globalmente analizzati, considerando come effetto principale le località.

L'analisi della varianza è stata quindi ripetuta per l'insieme dei dati comprendenti i campioni 5, 6, 7, che costituiscono un profilo completo, al fine di rilevare eventuali differenze significative fra i singoli strati; infine fra i dati relativi ai campioni 5 e 8, che rappresentano due prelievi alla stessa profondità e località, è stato effettuato un test t appaiato.

RISULTATI

L'analisi della varianza ha mostrato che non si rilevano differenze significative al livello di $p<0,01$ fra le singole ripetizioni di uno stesso campione nè fra i campioni di una stessa località. Anche gli strati di uno stesso profilo o i campioni prelevati ad una stessa profondità (0-20 cm per i campioni 5 e 8), non sembrano diversificarsi significativamente allo stesso livello di probabilità.

Includendo, quindi, nell'errore residuo la varianza associata alle ripetizioni più quella dei campioni, l'effetto principale "località" è risultato significativo, per $P<0,01$.

La differenziazione fra i due suoli appare ancor più evidente nei rispettivi grafici delle frequenze percentuali in funzione del diametro medio delle particelle per singolo canale esplorato dal Coulter Counter (figg. 1, 2). La scala orizzontale dei diametri non risulta essere lineare in quanto, come si è già detto, l'uscita dello strumento è proporzionale al volume delle particelle e non alle loro dimensioni.

Dal confronto dei due grafici risulta evidente come la distribuzione di frequenza del suolo alluvionale di Metaponto sia più simmetrica, con il picco in corrispondenza dei canali 2,52÷3,17 µm, cioè nella classe granulometrica del limo fine. La distribuzione relativa al Vertisuolo di Foggia risulta più asimmetrica, spostata verso i valori più bassi del diametro delle particelle, con il picco centrato nei canali 1÷1,26 µm, cioè nella classe granulometrica dell'argilla.

L'analisi spettroscopica al Coulter Counter TA II oltre a confermare i risultati dell'analisi meccanica classica (Tab. 1), che ha dato una componente di limo superiore per il suolo alluvionale rispetto al Vertisuolo, ha aggiunto ulteriori

informazioni, mostrando quali classi granulometriche sono più popolate. Queste informazioni risultano di particolare importanza nei processi di flusso dell'acqua nel suolo, in quanto le dimensioni delle sue particelle sono uno dei fattori principali determinanti le dimensioni dei pori e, di conseguenza, la tensione a cui l'acqua è trattenuta negli spazi vuoti, secondo la relazione ricavata da Washburn (*).

Altro fatto interessante rivelabile dai due grafici è che, per diametri inferiori a 2 μm, le frequenze percentuali relative al Vertisuolo di Foggia risultano superiori a quelle del suolo alluvionale, rivelando, così, una maggiore componente argillosa. La maggiore componente limosa del suolo alluvionale, tuttavia, unita nella sua minore o trascurabile quantità di sabbia, come si rileva facilmente dalla classica suddivisione granulometrica di tab. 1, caratterizza la tessitura ancora più fine di questo suolo rispetto al Vertisuolo e ne accentua i suoi caratteri negativi.

La capacità discriminatoria del Coulter Counter TA II risulta anche evidente analizzando le figg. 3, 4, dove sono riportati gli istogrammi delle frequenze cumulate in funzione del diametro equivalente delle particelle. In essi appare chiaro come le frequenze cumulate relative al Vertisuolo di Foggia risultano maggiori rispetto a quelle dell'altro suolo, nell'intervallo 0,63÷4 μm, con differenze via via crescenti fino a 1,26÷1,58 μm; per attenuarsi dopo e, quindi, invertertirsi per diametri equivalenti superiori a 4 μm,per cui le differenze risultano molto meno accentuate.

CONCLUSIONI

Dai primi risultati ottenuti da questo studio, inteso ad elaborare una metodologia di analisi della distribuzione delle particelle di suolo con il Coulter Counter TA II, si possono trarre alcune considerazioni.

E' importante notare, prima di tutto, che la tecnica proposta non è universalmente applicabile, ma va opportunamente modificata e adattatta secondo il campione analizzato, specie in funzione della concentrazione dei sali solubili e dei carbonati presenti.

Il Coulter Counter si è rivelato un mezzo rapido per analizzare la distribuzione di particelle del suolo, ma la sua eventuale utilizzazione dipende dalla precisione delle

---

(*) La relazione ricavata da Washburn nel 1921, può essere espressa nella forma:

$$p = 2\tau \cos \theta / r$$

ove:p è la tensione, in valore assoluto, con cui l'acqua è trattenuta nei pori di raggio r, assumendo che abbiano geometria cilindrica; τ e θ rispettivamente la tensione superficiale e l'angolo di contatto dell'acqua con le pareti dei pori.

determinazioni. A sostegno della sua accuratezza si possono citare i risultati di un'analisi di regressione fra i valori ottenuti con il metodo alla pipetta e quelli con il Coulter Counter, che hanno dimostrato un sufficiente accordo (Pennington e Lewis, 1979; Catone et al., 1986).

Uno dei vantaggi del metodo elettronico è la sua velocità e flessibilità; temperatura ambiente, forma e densità delle particelle, inoltre, non influenzano in modo significativo la sua determinazione.

Poichè l'analisi elettronica suddivide i dati in 15 classi di dimensioni, lo strumento riesce particolarmente utile negli studi di classificazione del suolo e pedogenesi, in cui può risultare interessante considerare le caratteristiche di una particolare frazione di particelle. E' possibile, pertanto, confrontare campioni differenti di suolo dalle loro distribuzioni delle particelle mediante un test statistico, quale ad es., il test Kologorov-Smirnov (Daniel, 1978; Lewis et al., 1984), al fine di stabilire l'esistenza di differenze significative ad un determinato livello di probabilità.

Dalle variazioni nella forma delle curve di tali distribuzioni (essenzialmente nei parametri di asimmetria e curtosi) ottenute con il Coulter Counter, è possibile valutare più accuratamente alcuni processi che sfuggirebbero ad un'analisi più grossolana di tessitura; quali, ad es., l'individuazione di fenomeni (tempeste, venti dominanti) che determinano il formarsi sul terreno di depositi di materiali particolari o la presenza a distanza di probabili sorgenti inquinanti.

Il suo uso, inoltre, può contribuire all'identificazione di materiali di differente composizione mineralogica e può essere di notevole aiuto nei problemi di mappatura e classificazione del suolo.

Per ottenere la necessaria precisione, però, è necessario che: a) il campione sia abbastanza rappresentativo; b) siano eliminate le impurezze dell'elettrolita, causa del "rumore di fondo"; c) sia fatta una diluizione del campione sufficiente a ridurre l'errore di coincidenza; d)il campione sia continuamente mescolato durante la fase di conteggio.

I dati relativi alla distribuzione delle particelle si basano, infatti, sulla dispersione completa dei campioni; per ottenere stime affidabili, è necessario, quindi, che gli aggregati siano completamente dispersi e che nessuna riaggregazione avvenga durante la misura (Protz e Arnaud, 1964; Lameris, 1964; Catone et al., 1986).

Anche se in alcuni studi particolari può essere necessario mantenere lo stato naturale di aggregazione, tuttavia, poichè sorgono grossi problemi tecnici nel determinare con precisione lo stato iniziale di aggregazione naturale e nel conservarlo inalterato in tutte le fasi dell'analisi, è consigliabile di operare, quanto più possibile, su campioni completamente disaggregati (Walker et al., 1974).

Le concentrazioni del campione devono essere mantenute al di sotto della deflessione del 5 % dell'indice relativo alla concentrazione sul pannello del Coulter Counter, il cui valore ottimale è intorno al 2÷4 % , il che consente di minimizzare l'errore di coincidenza.

In conclusione si può affermare che l'analisi della distribuzione delle particelle offre notevoli vantaggi, tali da poterla rendere anche un'alternativa pratica ai metodi convenzionali di laboratorio di analisi tessiturale.

DIDASCALIE DELLE FIGURE

Fig. 1 - Istogramma delle frequenze percentuali in funzione del diametro equivalente delle particelle nell'intervallo 0,63÷12,7 µm, per la località di Foggia.
(Percent frequency histogram of equivalent particle diameter classes, 0,63÷12,7 µm range from Foggia).

Fig. 2 - Istogramma delle frequenze percentuali in funzione del diametro equivalente delle particelle, nell'intervallo 0,63÷12,7 µm, per la località di Metaponto.
(Percent frequency histogram of equivalent particle diameter classes, in 0,63÷12,7 µm range, for Metaponto).

Fig. 3 - Istogramma delle frequenze percentuali cumulate in funzione del diametro equivalente delle particelle nell'intervallo 0,63÷12,7 µm per la località di Foggia.
(Percent cumulative frequency histogram of equivalent particle diameter classes, in 0,63÷12,7 µm range, for Foggia).

Fig. 4 - Istogramma delle frequenze percentuali cumulate in funzione del diametro equivalente delle particelle nell'intervallo 0,63÷12,7 µm per la località di Metaponto.
(Percent cumulative frequency histogram of equivalent particle diameter classes, in 0,63÷12,7 µm range, for Metaponto).

Bibliografia

Allen, T., 1974 - Particle size measurement. Chapman and Hall, London.

Allen, T., 1978 - Particle size measurement. Chapman and Hall, London.

Catone,I., Mbagwu,Y.S.C., Bazzocchi,P., 1986 - Effect of dispersion techniques and methods of determination of particle size distribution of soils. Annali Ist. Sper. per lo Studio e la Difesa del Suolo, XVII:33-40.

Coulter Electronics, Inc:, 1975 - Operator's manual for the Coulter Counter model TA II. Hialeah, Florida.

Daniel,W.W.,1978-Applied nonparametric statistics.Houghton Mifflin,Boston.

Dellino,P.F., Frazzetta,G., La Volpe, L., 1987 - Depositi di wet surge alla fossa di Vulcano, meccanismi deposiz Estratto da Bollettino 1987 del Gruppo Nazionale per la Vulcanologia.

Franzmeier,P.H., 1970 - Particle size sorting of proglacial eolian materials. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 34:920-924.

Hutton,Y.T., 1955 - A method of particle size analysis. Report 11/55, pag. 13.

Jarvis,Y., McCave,I.N., 1973 - Use of Model T Coulter Counter in size analysis of fine to coarse sand. Sedimentology, 20:305-315.

Lameris,C.L.,1964- The mechanical analysis of soils in general and in particular. Netherland J. Agric. Sci., 12:40-56.

Lewis,G.C., Fosberg,M.A., Falen,A.L., Miller, B.Y., 1984 - Identification of loess by particle size distribution using the Coulter Counter TA II. Soil Sci., 137(3).172-176.

Muller,R.N., Tisue,G.I., 1977 - Preparative scale size fractionation of soils and sediments and an application to studies of plutonium geochemistry. Soil Sci., 124:191-198.

Pennington,K.L., Lewis,G.C., 1979 - A comparison of electronic and pipet methods for mechanical analysis of soils. Soil Sci., 128:280-284.

Protz, C.L.,Arnaud,R.Y., 1964 - The avaluation of four pretreatments used in particle size analysis. Can. J. Soil Sci., 44:345-351.

Schideler,G.L., 1976 - Comparison of electronics particle counting and pipette techniques in routine mud analysis. Coulter Electronics, Inc., Hialeah, Florida.

Sheldon,R.W., Parsons,T.R., 1967 - A practical manual use of Coulter Counter in marine science. Coulter Electronics, Inc., Hialeah, Florida.

Smith,G.D., 1942 - Illinois loess. variations in its properties and distribution. Illinois Agric. Exp. Stat., Bull. 490.

Swineford,A., Frye,Y.D., 1951 - Petrography of Peoria loess in Kansas. J. Geol., 59:306-322.

Tamura,T., 1976 - Physical and chemical characteristics of plutonium in existing contamined soils and sediments. IAEA/ERDA Symposium on Transuranium Nuclides in the environment. IAEA-SM-199/52.

Walker,P.H., Hutka,Y., 1971 - Use of the Coulter Counter (model B) for particle size analysis of soils. C.S.I.R.O., Division of soil, Tech. Paper, No 1.

Walker,P.H., Hutka,Y., 1973 - Grain fragmentation in preparing samples for particle-size analysis. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 37:278-280.

Walker,P.H., Woodyer,K.D., Hutka,Y., 1974 - Particle-size measurements by Coulter Counter of very small deposits and low suspensed sediment concentrations in streams. Journal of Sedim. Petr., 44:673-679.

Washburn,E.W.,1921-Note on a method of determining the distribution of pore sizes in a porous material.Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.,7:115-116.

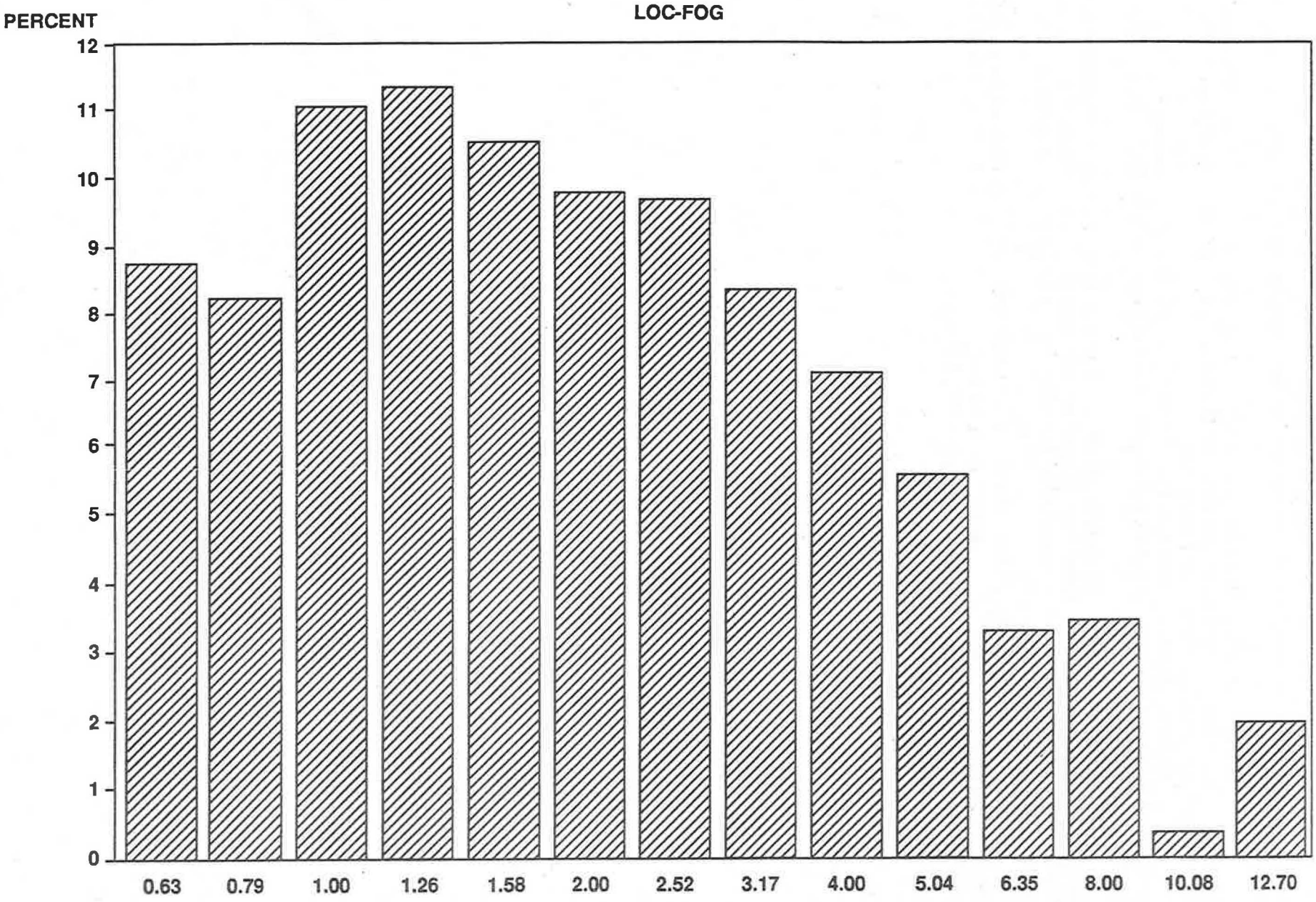

LOC-FOG
PERCENT
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0.63
0.79
1.00
1.26
1.58
2.00
2.52
3.17
4.00
5.04
6.35
8.00
10.08
12.70
D

FIG. 1

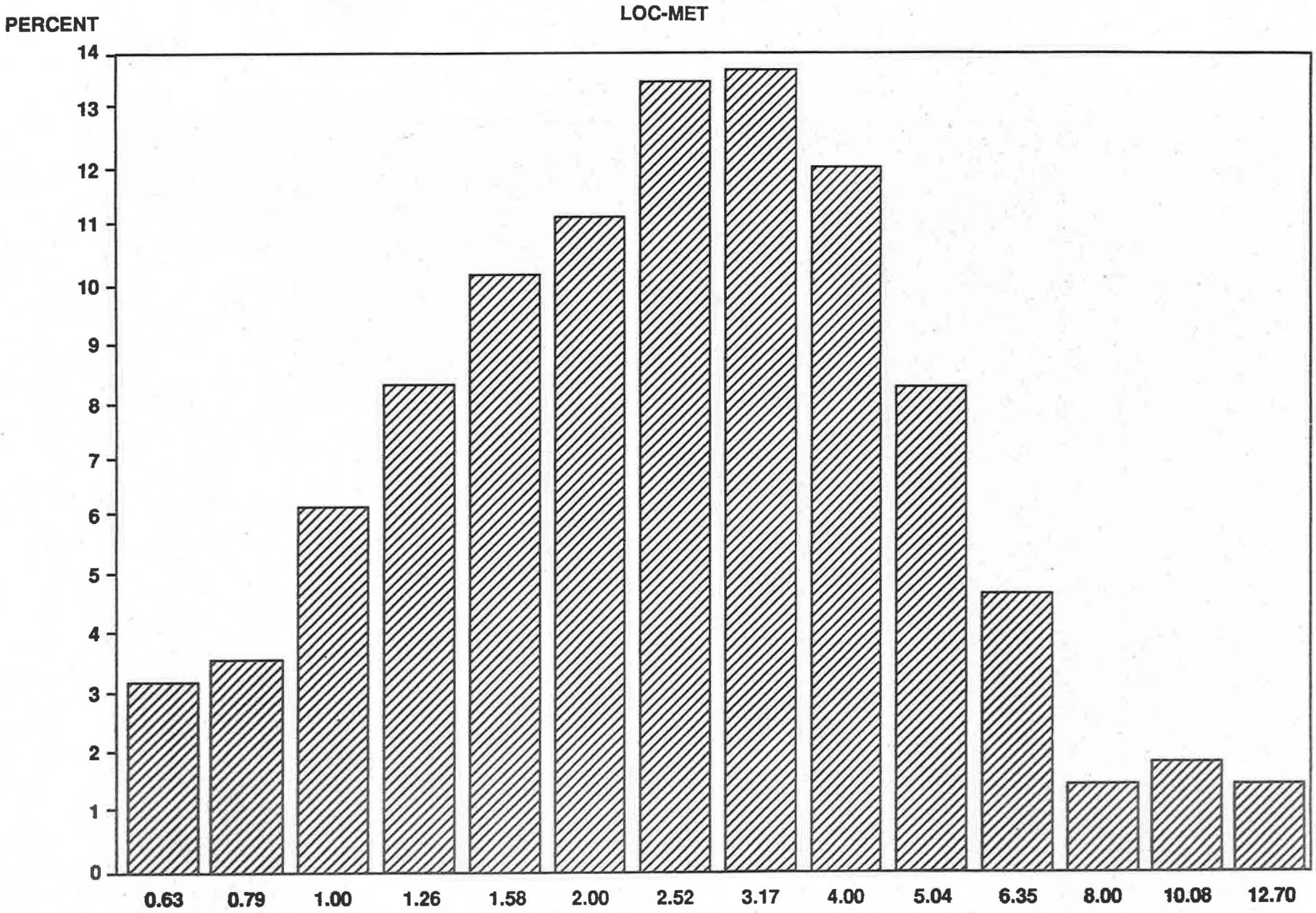

LOC-MET
PERCENT
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0.63
0.79
1.00
1.26
1.58
2.00
2.52
3.17
4.00
5.04
6.35
8.00
10.08
12.70

FIG. 2

D

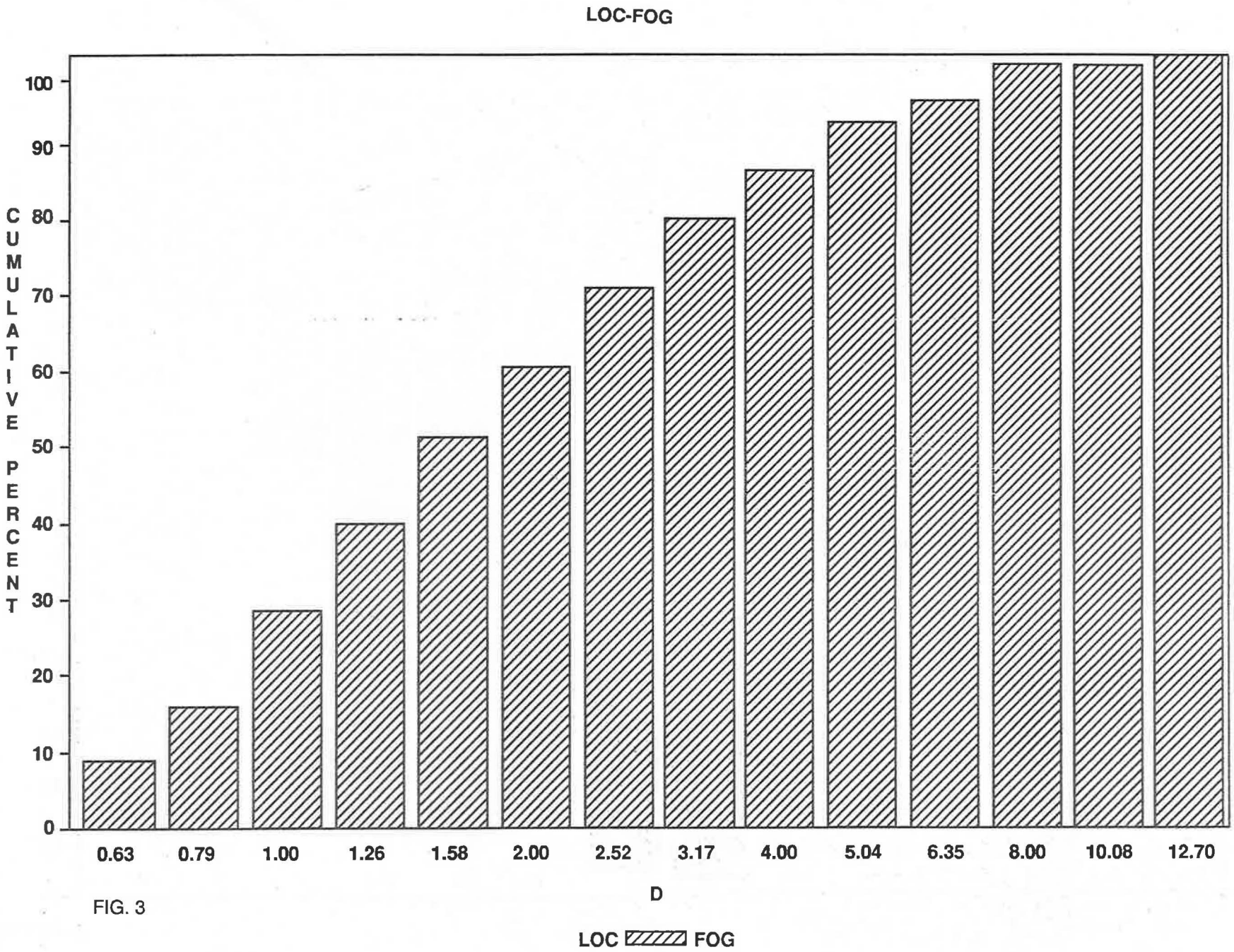

LOC-FOG
CUMULATIVE PERCENT
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0.63
0.79
1.00
1.26
1.58
2.00
2.52
3.17
4.00
5.04
6.35
8.00
10.08
12.70
D
LOC
FOG

FIG. 3

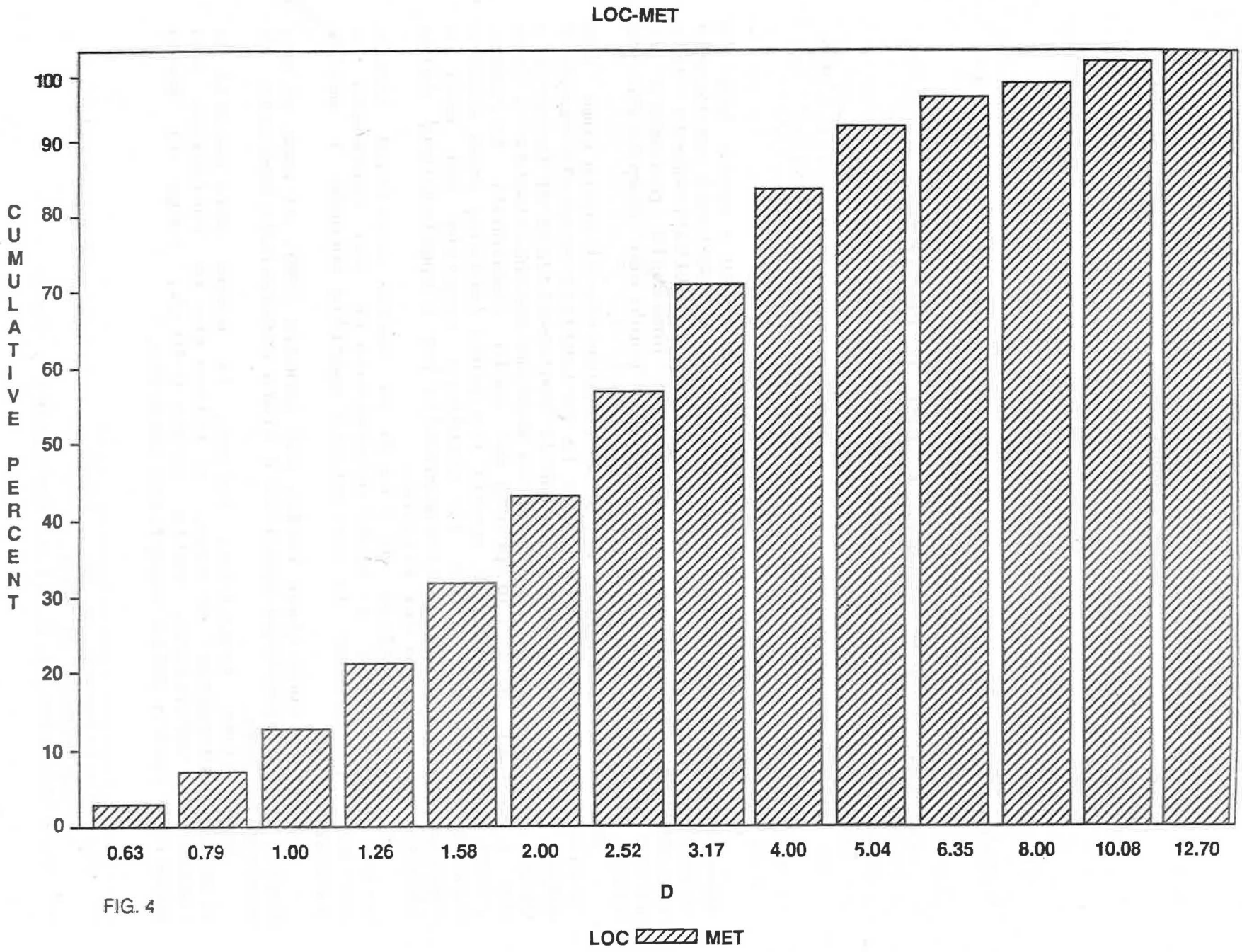

LOC-MET
CUMULATIVE PERCENT
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0.63
0.79
1.00
1.26
1.58
2.00
2.52
3.17
4.00
5.04
6.35
8.00
10.08
12.70
D
LOC
MET

FIG. 4

Verona 1988

ISTITUTO SPERIMENTALE AGRONOMICO
BARI

Studio della variabilita' spaziale dell'umidita' del suolo mediante la geostatistica.

A. Castrignanò*, V. D'Agostino**, G. Lopez*

SUNTO

Le proprietà del suolo variano da punto a punto sia in senso orizzontale che in senso verticale. E' pertanto necessario stabilire un metodo capace di descrivere quantitativamente tale variabilità spaziale in modo che sia possibile prevedere il valore assunto dalla variabile in un punto non campionato da valori registrati altrove.

Un tentativo è stato fatto di considerare il suolo come una funzione casuale e di descrivere la variabilità spaziale usando i metodi della teoria delle variabili regionalizzate di Matheron o della geostatistica. Tale teoria esprime essenzialmente l'idea che i valori di una proprietà del suolo campionati in punti vicini siano più simili di quelli fra punti lontani; essa inoltre esprime quantitativamente la struttura spaziale dei dati e rappresenta la premessa indispensabile per l'applicazione della tecnica interpolante del Kriging.

Su una superficie di 3 ha di un suolo argilloso (Aquic Vertic Xerofluvent) è stato determinato il suo contenuto in umidità, studiandone la variabilità spaziale secondo i metodi geostatistici.

Le misure sono state fatte, nel gennaio 1987, ai nodi di una maglia e la dipendenza spaziale è stata determinata mediante il semivariogramma.

Sono state tracciate, infine, le mappe dell'umidità a diverse profondità; da esse, si rileva che le variazioni più rapide si verificano, nello strato 0-40 cm, lungo il bordo superiore destro della superficie studiata.

*) A. Castrignanò e G. Lopez, Istituto Sperimentale Agronomico di Bari.
** V. D'Agostino, C.S.A.T.A.-Technopolis, Bari.

Viene presentata anche una mappa della varianza di kriging che misura la precisione del metodo d'interpolazione.

Summary

Spatial variability of soil water content using geostatistics.

Soil varies from place to place, both laterally and vertically. Methods are needed to describe this variation in such a way that values at unrecorded points can be predicted or estimated from sample values taken elsewhere.

An attempt has been made at treating the soil as a random function and describing it using the methods of geostatistics.

This theory essentially espresses the idea that values of a soil property at point near one another are likely to be similar, whereas those at points far from one another are not. It does so quantitatively and is the basis of kriging, a technique for local interpolation.

The spatial variability of the moisture content at a 3 ha clay-soil field (Aquic Vertic Xerofluvent) was studied using geostatistics.

The measurements were done at the nodes of a grid on january 1987 and spatial dependence was measured with a semivariogram that was then used to draw contour maps of moisture content at different depths.

The analysis of these maps shows that the contour lines generally smooth and the fastest change in moisture content are at the field boundaries.

At the end of this paper a map of kriging variance is given which measures the precision of this interpolation method.

1. INTRODUZIONE

Il suolo varia da punto a punto sia lateralmente che verticalmente: é necessario, pertanto, applicare un metodo che descriva tale variabilità per poter prevedere i valori di determinate caratteristiche del suolo stesso in punti ove non c'è stato il campionamento.

La variazione verticale, lungo il profilo, ha costituito per molti anni l'interesse dei pedologi, i quali la descrivono individuandone degli strati od orizzonti, ciascuno dei quali viene trattato separatamente.

Anche la variazione laterale è trattata in maniera similare.

I geomorfologi individuano quelle zone in cui date proprietà del suolo subiscono una brusca variazione e vi tracciano dei confini, in modo da suddividere il suolo in unità cartografiche o paesaggistiche.

Il valore assegnato a ciascuna unità è il valore medio dei punti campionati all'interno delle stesse, mentre la variazione che permane dentro ogni unità è considerata così piccola da essere trascurata oppure é tollerata fino ad un certo livello (effetto spurio che non può essere eliminato).

In entrambi i casi, tuttavia, la variazione intorno al valor medio, cioe' l'errore, non e' "modellato", in quanto e'considerato variabile indipendentemente dalla posizione.

Il trascurare la dipendenza spaziale dei punti campionati ha portato, tuttavia, a stime di medie indebitamente ritenute conservative e di intervalli fiduciali più ampi di quanto in realtà fossero (Webster, 1977).

Di conseguenza, nel pianificare gli schemi di campionamento, al fine di raggiungere un certo grado di precisione, i ricercatori hanno sovrastimato il numero di osservazioni necessarie, talvolta in maniera così seria da indurli a rinunciare all'indagine.

Finchè si opera su scala regionale o nazionale e con un numero limitato di punti, questo modo di procedere può anche essere accettabile, anche se non tiene conto della variazione graduale del suolo sia nel passaggio da una unità ad un'altra sia all'interno della stessa unità.

Il ricercatore, invece, che tratta le proprietà idrologiche del suolo, quali il contenuto idrico e il potenziale matriciale, opera sicuramente in condizioni differenti dalle precedenti.

Nell'analisi dei rapporti acqua-terreno si desidera, infatti, modellare le variazioni del suolo e quindi ottenere descrizioni quantitative in ciascun punto desiderato, piuttosto che per grandi classi, superando anche l'ipotesi di un errore che varia indipendentemente dalla posizione assunta nello spazio.

La possibilità della modellizzazione mediante più ipotesi di lavoro permette di adottare di volta in volta quella più idonea al caso in esame.

Nel presente lavoro è stato fatto, pertanto, il tentativo di trattare il suolo come una funzione casuale e di descriverlo usando la teoria delle variabili regionalizzate sviluppata da

Matheron e dalla Scuola francese di Morfologia Matematica (Matheron, 1971, 1972).

All'interno di tale approccio vi é il superamento dei limiti imposti dalle metodologie tradizionali, poichè il processo stocastico, che descrive la variabilta' del suolo, e' scomposto in due componenti: la prima tiene conto dell'andamento medio, del "trend" su larga scala della variabile; l'altra descrive le variazioni locali intorno a tale trend.

Con la seconda componente, dunque, si ha la possibilita' di "modellare" l'errore locale , altrimenti assunto indipendente dalla posizione.

I metodi di previsione del processo (interpolazione del Kriging, co-Kriging, simulazioni stocastiche, Kriging disgiuntivo) (Carr e Myers, 1985; Carr et al., 1985; Yates e Warwick, 1986) operano, dunque, una stima puntuale su basi concettuali piu' "flessibili" ed adattabili alle diverse circostanze pratiche.

Se lo sperimentatore ipotizza un andamento stazionario della variabile in esame indipendente dalla direzione (isotropia), potrà impostare tali condizioni nel processo di interpolazione; analogamente nel caso opposto (anisotropia in qualche direzione, non stazionarietà).

2. FONDAMENTI TEORICI

2.1. Generalità

Geostatistica è il termine coniato da Matheron (1971, 1972) negli anni '70 per identificare un insieme di modelli probabilistici, elaborati al fine di analizzare e descrivere spazialmente i fenomeni piu' vari, dalla localizzazione di giacimenti minerari alla caratterizzazione del suolo, dall'inquinamento alla meteorologia, dalla cartografia sottomarina alla prospezione geofisica, ecc.

In particolare, nella scienza del suolo, questa metodologia ha trovato applicazione sia su vasta scala (classificazione e caratterizzazione dei suoli compresi entro unità territoriali) sia su microscala (variabilità delle proprietà pedo-agronomiche delle parcelle di un campo sperimentale).

Nella letteratura scientifica mondiale esiste, ormai, una notevole documentazione sulla variabilità spaziale del suolo. Una citazione, seppure sommaria, dei problemi affrontati e risolti con le metodiche geostatistiche sarebbe molto difficile e riuscirebbe senz'altro incompleta.

Basterà ricordare, solo per citarne alcuni, i lavori di Webster (1985), Trangmar e al. (1985), Webster e Burgess (1984), Gajem e al. (1981), Viejra e al. (1981), Yost e al. (1982a,b), Russo (1984, 1986a, b), McBratney (1985), i quali hanno fornito utili e preziose informazioni fondamentali sulle variazioni delle caratteristiche del suolo su base territoriale o parcellare, con riferimenti particolari ai movimenti dell'acqua e dei soluti e ai loro rapporti con le produzioni colturali ottenibili (Russo, 1986a, b).

I fenomeni a cui tale scienza presta attenzione presentano una caratteristica molto importante: sono unici, non ripetibili.

In altri termini, nella stessa posizione spaziale non si potrà mai avere piu' di una misura del fenomeno e qualora ciò fosse ipotizzato (si vedano, per esempio, le variabili meteo-climatiche), tale variazione deve essere addebitata a differenti istanti temporali in cui é avvenuta la rilevazione (analisi spazio-temporali) oppure ad errori strumentali (previsti, tra l'altro,all'interno della geostatistica).

Tutto il metodo geostatistico può essere suddiviso in due fasi:

- l'analisi strutturale;
- l'interpolazione.

Prima e dopo queste fasi esistono rispettivamente l'acquisizione dei dati e la restituzione cartografica, solitamente per linee di isolivello.

Con l'analisi strutturale si adattano le ipotesi più congrue al fenomeno da analizzare in base all'esperienza dello sperimentatore.

Le ipotesi riguardano la distribuzione di probabilita' della variabile causale Z(x) e, in particolare , del suo momento primo e secondo.

Le semplificazioni che ne derivano permettono l'inferenza statistica dei parametri e l'interpolazione puntuale.

2.2. L'analisi strutturale

E' la prima fase che lega l'aspetto fisico-spaziale del fenomeno a quello concettuale del modello.

L'ipotesi più restrittiva, applicabile al caso di fenomeni molto regolari, è la stazionarietà del primo e del second'ordine con la quale si suppone che:

$$\Sigma[Z(x)] = m$$
$$\Sigma[(Z(x+h)-m(x+h))(Z(x)-m(X))] = \Sigma[Z(x)Z(x+h)]-m^2 = C(h)$$

cioè, il valore atteso della funzione Z in ciascun punto x e la funzione di covarianza tra ciascuna coppia di punti (x, x+h) sono indipendenti dal punto x e quest'ultima dipende esclusivamente dal vettore distanza.

Una ipotesi meno forte, riguardante la distribuzione di Z, è l'ipotesi intrinseca che applica le precedenti condizioni di stazionarietà agli incrementi Z(x+h)-Z(x) della funzione: per ciascun vettore h l'incremento ha una varianza indipendente dal punto x:

$$\text{var}\,[Z(x+h)-Z(x)] = 2\gamma(h)$$

mentre non si fa nessuna ipotesi sul trend.

La funzione $\gamma(h)$ è chiamata semivariogramma (o più brevemente variogramma).

Per fenomeni meno regolari può essere, pertanto, applicabile

quest'ultima ipotesi.

Se esistono, infine, grandi fluttuazioni del fenomeno, diventa necessario guardare a modelli più complessi pur nella necessità di preservarsi una qualche forma di stazionarietà tale da permettere l'inferenza statistica sulla base di una singola realizzazione della variabile casuale.

2.2.1. Il variogramma

Il concetto di struttura spaziale permette di risponedere a quesiti del tipo:

-esistono direzioni previlegiate entro cui la dispersione intorno al trend ha un comportamento differenziato?

-esiste un trend globale che si può sottrarre ai dati?

-è dunque possibile studiare la variazione intorno a tale trend e strutturarla con un modello di variogramma?

-nel caso in cui non sia individuabile e separabile il trend, è possibile indagare su altri fattori che influenzano la dispersione?

-la dispersione ha un andamento completamente aleatorio?

In geostatistica è preliminare la conoscenza delle risposte ai precedenti quesiti, mentre diventa un momento conseguenziale l'interpolazione che si avvarrà di tutti i risultati dell'analisi strutturale.

L'aspetto centrale dell'analisi strutturale è la determinazione del variogramma sotto l'ipotesi intrinseca.

La funzione di covarianza C(h) è direttamente derivabile da un variogramma "limitato" (fig. 1), essendo

$\gamma(h) = C(0)-C(h)$

Come si vedrà in seguito,non è detto che un variogramma sia limitato: la presenza di un trend sui dati, infatti,fa tendere $\gamma(h)$ all'infinito.

Se esiste tale evenienza, non è possibile applicare l'ipotesi di stazionarietà e, quindi, inferire statisticamente la funzione C(h).

Pertanto si può concentrare l'attenzione sulle proprietà e le caratteristiche del variogramma.

In tale paragrafo si affronterà, quindi, il problema dell'inferenza statistica di un variogramma da un campione di misure:

$$(Z(x_1),.....Z(x_n))$$

Il variogramma di una funzione aleatoria intrinseca è definito come:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2} \text{ var } (Z(x+h)-Z(x))$$

Se si assume che $\Sigma[Z(x+h)-Z(x)] = 0$, γ è metà del valore quadratico medio delle differenze $Z(x+h)-Z(x)$, cioè:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2} \Sigma[(Z(x+h)-Z(x))^2]$$

Si può praticamente usare la seguente formula per calcolare un variogramma sperimentale:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^{n(h)} [(x_i+h)-Z(x_i)]^2 / n(h)$$

dove n(h) è il numero di coppie la cui distanza è compresa nell'intervallo considerato.

Si suppone, cioè, che l'intervallo limitato inferiormente da zero e superiormente dalla massima distanza fra le coppie di punti, sia diviso in intervalli di eguale ampiezza ("LAG") (fig. 2).

Il LAG deve essere più grande della minima distanza di campionamento fra le coppie dei dati, affinchè possa essere statisticamente significativo il calcolo dei punti del variogramma sperimentale.

Il grafico di $\gamma(h)$ rispetto ad h presenta generalmente il seguente comportamento: parte da zero; è crescente; è costante da un certo valore in poi.

Il RANGE rappresenta la massima distanza di influenza fra due punti, al di sopra della quale Z(x) e Z(x+h) sono non correlati.

In corrispondenza del RANGE, il variogramma può apparire limitato da un valore, detto "SILL", che rappresenta la varianza totale del campione (fig. 1).

Infatti, quando Z(x+h) e Z(x) non sono più correlati si ha:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2} \text{ var } (Z(x+h)-Z(x)) = \frac{1}{2} (\text{var } Z(x+h)+\text{var } Z(x)) = \text{var } Z(x)$$

Un altro aspetto da considerare è l'andamento del variogramma vicino all'origine, a cui è associata la continuità e la regolarità spaziale del fenomeno.

Si possono avere quattro forme tipiche di variogramma:

a) parabolica: si ha per Z(x) continua e differenziabile diverse volte; puo' rilevare anche la presenza di un trend sui dati;
b) lineare: si ha per Z(x) continua ma non differenziabile;

continua in ogni altro punto diverso dall'origine; tale effetto puo' dipendere da:
- micro-strutture,
- errori di misura,
- errori di localizzazione;

d) curva piatta: si ha per $Z(x)$ e $Z(x+h)$ non correlate per qualsiasi valore di h; si è in presenza, cioè, di un fenomeno puramente aleatorio.

Altre proprieta' del variogramma sono :
- $\tau(h)$ é simmetrico, cioé $\tau(h)=\tau(-h)$;
- $\tau(h) \geq 0$ e $\tau(0)=0$, cioé τ é positivo o nullo;
- $\lim \tau(h)/h^2 = 0$.

Quest'ultima proprietà è essenziale per comprendere, dal grafico di un variogramma sperimentale, la presenza di trend; in pratica, cioè, il variogramma deve crescere più velocemente di h^2.

Un'ultima considerazione riguarda i modelli teorici di variogrammi da adattare a quello sperimentale, affinchè le proprietà sopra esposte vengano garantite. Si adattano, cioè, ai dati delle forme teoriche appartenenti ad un famiglia di funzioni definite positive:

- monotona : $\tau(h) = \varrho \|h\|$
- sferica : $\tau(h) = \varrho \ (3/2 \ \|h\|/a - \frac{1}{2} \ \|h\|^3/a^3$ per $h \leq a$
- esponenziale : $\tau(h) = \varrho \ (1 - \exp(-\|h\|/a)$
- gaussiana : $\tau(h) = \varrho \ (1 - \exp(-\|h\|^2/a^2)$

Le funzioni τ possono essere quindi scelte fra le funzioni precedenti o, comunque, fra altre forme definite positive.

Lo studio del variogramma al variare delle direzioni può rilevare delle anisotropie qualora si notino andamenti differenti.

2.2.2. L'interpolazione

Vi è un altro importante uso del semivariogramma come potente metodo di interpolazione,chiamato KRIGING che ,tenendo conto della correlazione esistente fra campioni adiacenti,permette di stimare il valore interpolato senza errore(ovvero il valore stimato nel punto interpolato eguaglia il valore atteso) e con la varianza minima.Sotto queste ipotesi si dice che lo stimatore $\hat{Z}$ è BLUE (BEST LINEAR UNBIASED ESTIMATOR).

Il KRIGING consiste in una media mobile pesata,in cui il predittore lineare assume la forma:

$$\hat{Z}(x) = \Sigma \ \delta_k z_k, \text{ con } z_k = Z(x_k), \quad k=1,..,n$$

ove:
il simbolo $\hat{}$ sta ad indicare il valore calcolato; n è il numero dei valori misurati z_k che intervengono nella stima del punto interpolato e δ_k sono i pesi. Il problema si riduce, pertanto, alla determinazione di tali pesi in modo che siano soddisfatte le predette due condizioni.

La condizione di correttezza dell'estimatore produce la seguente relazione (Viejra e al.,1981):

$$\sum_{k=1}^{n} \delta_k = 1 \qquad (1)$$

$$\sum_{k=1}^{n} \delta_k = 1 \qquad (1)$$

La condizione di minima varianza comporta la minimizzazione della varianza della stima, soggetta alla (1). Applicando il metodo Lagrangiano, si ottiene il seguente sistema del KRIGING:

$$\sum_{k=1}^{n} \delta_k \tau(x_i, x_k) + \mu = \tau(x_i, x_o) \qquad i=1,\ldots,n$$

$$\sum_{k=1}^{n} \delta_k = 1 \qquad (2)$$

ove:
$\tau(x_i, x_k)$ rappresenta il semivariogramma per ogni coppia di punti campionati (x_i, x_k); $\tau(x_i, x_o)$ la stessa funzione relativa alla coppia formata da ciascun punto campionato (x_i) e il punto interpolato (x_o); μ è un moltiplicatore Lagrangiano.

Le (2) costituiscono un sistema di (n+1) equazioni in (n+1) incognite, la cui soluzione fornisce gli n pesi e il moltiplicatore, consentendo quindi la stima di $Z^{\wedge}(x_o)$ e della sua varianza (σ^2_{KR}), secondo la seguente relazione:

$$\sigma^2_{KR}(x_o) = \mu + \sum_{K=1}^{n} \delta_k \tau(x_k, x_o) \qquad 3)$$

3. METODI E RISULTATI OTTENUTI

3.1. L'area di prova.

Il suolo in esame é di tipo alluvionale alcalino, argilloso (Aquic Vertic Xerofluvent),influenzato da una falda idrica sub-superficiale fluttuante e salmastra, localizzato presso la foce del fiume Basento lungo la costa jonica della Basilicata.

Su una superficie di circa 3 ha di tale terreno, utilizzata per ricerche agronomiche ancora in corso e intese a introdurre nuovi ordinamenti colturali in queste difficili condizioni ambientali, sono state prescelte 28 postazioni disposte a reticolo, secondo lo schema illustrato nella fig. 3a.

In queste postazioni, attraverso prelevamenti periodici trimestrali,sono state seguite le variazioni nel tempo e nello spazio dell'umidita' del suolo, campionato a tre diversi livelli sino alla profondita' media di radicamento della maggior parte delle colture erbacee (circa 60/70 cm).

In particolare qui si riferisce sulla variabilita' spaziale dell'umidita' dello strato di suolo campionato in data 16 gennaio 1987, prelevato a tre profondità (0-20/25 cm; 20/25-40/45 cm; 40/45-60/70 cm).

L'umidità, espressa in % del peso secco del suolo è stata

determinata per via gravimetrica,essiccando i campioni in stufa alla temperatura di 100-105 gradi centigradi per 16-18 ore

3.2. L'applicazione del metodo

L'intervallo di variazione dell'umidità alle tre diverse profondità è riportato nella tab. 1.

Tabella 1 - Valori minimi e massimi dell'umidità del suolo al 16/1/1987.
(Minimum and maximum values of soil moisture on the 16th January 1987).

PROFONDITA' in cm	UMIDITA'in % del peso secco min	max
0-20/25	25.0	35.0
20/25-40/45	14.0	33.0
40/45-60/70	17.0	32.0

Le ipotesi prescelte sono state quelle di stazionarieta' del primo e del second'ordine degli incrementi (ipotesi intrinseca) e inoltre si é supposto di lavorare in assenza di anisotropia.

Il variogramma sperimentale é stato calcolato sulla base di 210 coppie di punti del piano $((x_i, y_i), (x_j, y_j))$ le cui distanze euclidee sono date da:

$$d_{ij} = \sqrt{((x_i-x_j)^2+(y_i-y_j)^2)}$$

L'istogramma "ottimale" delle distanze dij è presentato in fig. 4; in questo modo per ogni intervallo si ha almeno una coppia di punti per cui è possibile calcolarsi i valori del variogramma sperimentale.

Scelto pertanto un LAG=40 m, si è calcolato il variogramma sperimentale, assegnando ad ogni intervallo del tipo: ((I-1)*LAG,I*LAG), con I=1,2,.... ,un valore che rappresenta una media "pesata" di quelli relativi a coppie di punti, la cui distanza ricade nell'intervallo considerato (fig. 2).

Il grafico del variogramma sperimentale, per i valori di umidità relativi allo strato (0-20/25 cm) puo' essere osservato in fig. 4.

Si puo' notare come ci siano valori crescenti fino alla distanza 100 m : successivamente il fenomeno sembra diventare non correlato mostrando un andamento oscillante.

Limitandosi all'intervallo (0,100), dunque RANGE=100 m, si possono adattare differenti modelli di variogramma e scegliere quello "migliore" nel senso dei minimi quadrati.

In particolare si trova che, per lo strato superficiale, quello lineare del tipo:

$$\gamma(0) = 0 \qquad \text{per } h=0$$

$$\gamma(h) = .18*h+3.6 \qquad \text{per } h>0$$

si adatta meglio ai valori sperimentali (fig.4), ove si è assunto un NUGGET EFFECT pari a 3.6, dovuto probabilmente ad errore di campionamento.

3.3. I risultati

Una mappa della località in studio è data nelle figg. 3b, 5a,b con le linee dell'umidità tracciate a intervalli dell'1% del peso secco di terreno, rispettivamente per i tre strati di suolo (0-20/25; 20/25-40/45; 40/45-60/65 cm).

Queste isolinee sono state disegnate dopo aver stimato con il Kriging, punti addizionali su di una maglia quadrata più fitta di passo pari a 2 m.

Possiamo innanzi tutto notare che per tutti e tre i livelli le isolinee appaiono abbastanza continue, senza brusche discontinuità neppure in corrispondenza dei punti di campionameto.

Per lo strato più superficiale i valori più alti di umidità si hanno in corrispondenza del bordo sinistro del campo vicino al confine, probabilmente a causa della vicinanza di corsi d'acqua.

Nella zona centrale si registrano i valori più bassi di umidità, molto verosimilmente perchè da essa - per la sua posizione topograficamente piu' elevata rispetto al resto del campo - l'acqua defluisce preferibilmente verso i bordi.

Nella parte destra le isolinee appaiono meno dense, il che sta ad indicare che l'umidità varia meno rapidamente a causa, forse, di un maggiore livellamento del terreno e di una maggiore uniformità nella composizione granulometrica.

La mappa relativa allo strato intermedio (20/25-40/45) non mostra differenze rispetto alla precedente nella disposizione delle isolinee.

Le differenze piu' evidenti consistono in un maggiore infittimento delle stesse lungo il bordo superiore del campo e nella parte destra.

A differenza dello strato superiore, nella zona sinistra si registrano i valori più bassi di umidità, con un minimo del 17% in tre aree.

Probabilmente questa inversione è dovuta ad una variazione nella tessitura fra i due strati di suolo considerato.

Una tale ipotesi, comunque, potrà o meno essere confermata quando sarà anche nota la variabilità nella tessitura nei tre strati di suolo considerato, tuttora in corso di determinazione.

Importante è notare che i valori di umidità nello strato intermedio sono inferiori a quelli della superficie.

La probabile causa di ciò risiede nella tessitura

estremamente fine del suolo e nel tipo del materiale colloidale che, rigonfiandosi con l'inumidimento, riduce la permeabilità e ostacola, di conseguenza, l'infiltrazione dell'acqua in profondità (Lopez e al.1986, 1987).

Nell'ultimo strato (40/45-60/70 cm) cambia sensibilmente la morfologia delle isolinee, che tendono a disporsi parallelamente al bordo superiore del campo e, nella parte inferiore, a chiudersi all'esterno.

Ciò sta ad indicare, probabilmente, una maggiore uniformità degli strati profondi rispetto a quelli più superficiali, anche se le variazioni più rapide nel contenuto idrico del suolo si verificano lungo il bordo superiore e nell'angolo sinistro, mentre la parte destra sembra avere un contenuto idrico pressocchè costante e inferiore a quello dello strato intermedio.

Una deduzione interessante che si può trarre dall'analisi di queste mappe è che, nonostante il campionamento del suolo sia stato effettuato durante la stagione piovosa invernale, negli strati piu' profondi non si è raggiunta mai la capacità idrica di campo per la ridotta conducibilità idraulica del suolo stesso.

In fig. 5c è riportata la mappa della varianza di Kriging relativa allo strato più superficiale. La struttura delle isolinee risulta abbastanza regolare e periodica, con formazioni concentriche che presentano un minimo in corrispondenza della posizione di misura.

Questa particolare configurazione rispecchia la nostra ipotesi iniziale di assenza di anisotropia e lo schema di campionamento a griglia.

Sarebbe opportuno pertanto verificare l'ipotesi di isotropia, costruendo i variogrammi relativi ad alcune direzioni ben determinate, al fine di rilevarne eventuali differenze, il che è oggetto di una nota successiva (Castrignanò e al., 1988).

Anche in questa ipotesi semplicistica, tuttavia, l'errore statistico non è, come nell'ipotesi classica, costante su tutto il campo, ma va aumentando da un minimo dell'1-2% del valore interpolato, in vicinanza del punto misurato, ad un massimo del 12-13 % lungo i bordi più lunghi del campo.

Le mappe risultano, quindi, molto utili nell'ottimizzare lo schema di campionamento: la fig. 5c, per esempio, suggerirebbe un più intenso cmpionamento lungo il bordo inferiore del campo.

4. CONCLUSIONI

Il principale contributo della geostatistica alla ricerca sul suolo si basa sull'analisi strutturale della variazione spaziale e sul suo utilizzo per l'interpolazione.

Il semivariogramma rappresenta, infatti, uno strumento quantitativo che permette di collegare una o più proprietà del suolo a quei fattori o processi che hanno contribuito alla sua genesi, comprese le lavorazioni agronomiche.

Lo sviluppo di procedure per quantificare l'anisotropia, le variazioni a lungo raggio e i fenomeni periodici conferisce alla geostatistica una tale versatilità che le consente di trattare una gran varietà di fenomeni naturali.

La produzione al computer di mappe dai dati interpolati con

il Kriging secondo una griglia molto fine permette di evidenziare quei fenomeni pedogenetici, che rimarrebbero nascosti ad una scala molto piccola (Giltrap, 1983).

Inoltre, poichè uno dei vantaggi principali del Kriging è quello di determinare la varianza della stima, per cui i valori interpolati sono calcolati con una precisione nota, è possibile, mediante l'analisi strutturale, definire, in termini di costi-benefici, lo schema ottimale di campionamento, sia per quanto riguarda la posizione dei punti che la loro distanza reciproca (Russo e Bresler, 1981, 1982).

L'attuale ampia disponibilità di software geostatistico, abbastanza flessibile, rende possibile l'applicazione dell'analisi spaziale dei fenomeni naturali anche a molte aree della ricerca agronomica.

Una importante applicazione consiste nell'individuazione spaziale dei livelli critici del suolo che possono limitare seriamente la produzione di una coltura.

E' possibile,per esempio, utilizzare la conoscenza della variabilità all'interno del campo di scelte proprietà del suolo per fini piu' specifici: la variabilità del contenuto idrico per migliorare l'efficienza dello schema irriguo, quella dei livelli di alcuni principi nutritivi per ottimizzare l'applicazione del fertilizzante, di alcune proprietà chimiche del suolo per ridurre l'uso di correttivi.

La crescita di una coltura in risposta alla variabilità spaziale di date proprietà del suolo, come, ad es.,l'assorbimento di principi nutritivi in risposta a variazioni di concentrazione di quest'ultimi nel suolo (Trangmar et al., 1982) o di contenuto idrico (Tabor e al., 1984) o di penetrazione radicale, può aiutare enormemente l'agronomo a comprendere il ruolo degli effetti spaziali sulle relazioni suolo-coltura.

L'analisi geostatistica dell'incidenza di attacchi di malattie o di agenti patogeni sulle piante potrebbe, inoltre, portare alla localizzazione di tali focolai.

La determinazione quantitativa, infine, della componente spaziale dell'errore, una volta sottratta all'errore residuo", permetterebbe di meglio evidenziare differenze significative fra le diverse tesi poste a confronto in uno schema sperimentale.

Dalla discussione precedente risulta chiaro che l'analisi geostatistica della variazione spaziale dei fenomeni naturali ha un'ampia gamma di possibili applicazioni nella ricerca pedologica in generale ed agronomica in particolare.

Non si dovrebbe mai dimenticare, tuttavia, che sia i semivariogrammi che il kriging sono degli strumenti, la cui applicazione si basa sull'assunzione di determinate ipotesi le quali, se non verificate, possono invalidare completamente il metodo proposto.

4. BIBLIOGRAFIA

Carr,J., Myers,D., 1985 - COSIM: A FORTRAN IV PROGRAMM for conditional simulation. Computers and Geosciences, II:675-705.

Carr,J., Myers,D., Glass,C.E., 1985 - Cokriging. Computers and Geosciences, II:111-127.

Delhonne,J.P., 1978 - Kigring in the hydroscience. Adv. in Water Resour., 1:251-266.

Gajem,Y.M., Warrick,A.W., Myers,D.E., 1981 - Spatial dependence of physical properties of a typic Torrifluvent. Soil Sci. Soc. Am. J., 45:687-691.

Giltrap, D.J., 1983 - Computer production of soil maps by interpolation. Geoderma, 29:295-311.

Lopez,G., Ascione,S., Marrone,G., 1986 - Caratteri fisico-chimici dei suoli e delle acque di falda di un ambiente del litorale ionico lucano. Nota I. Descrizione generale del suolo e delle acque di falda. Annali Istit. Sper. Agronomico, Bari, XVII:49-65.

Lopez,G., Castrignanò,AM., Ascione,S., Marrone,G., 1987 - Caratteri fisico-chimici dei suoli e delle acque di falda di un ambiente del litorale ionico lucano. Nota II. Relazioni quantitative fra alcuni parametri del suolo. Annali Istit. Sper. Agronomico, Bari, XVIII (in corso di stampa).

Matheron,G., 1971 - Theorie des variables regionalisées et ses applications. Cahiers du Centre de Morphologie Mathématique, 5, Centre de Geostatistique, Fontainebleu (France).

Matheron,G., 1972 - Geostatistique. Traité d'Information Géologique (Laffitte, ed.), Masson, Paris.

McBratney,A.B., 1985 - The role of geostatistical in the design analysis of field experiments with reference to the effect of soil properties on crop yield, 3-23, in: "Nielsen,D.R., Bouma, J. (eds.), Soil Spatial Variability". Proc. of a workshop of the ISSS and SSSA, Las Vegas (U.S.A.), 30 nov.-1 dec. 1984. PUDOC, Wageningen (Netherland).

Russo,D., 1984 - Statistical analysis of crop yield-soil water relatiomship in heterogeneous soil and trickle irrigation. Soil Sci. Soc. Am. J., 48:1402-1410.

Russo,D., 1986a - A stochastic approach to the crop yield-irrigation relationship in heterogeneous soil: I. Analysis of the field spatial variability. Soil Sci. Soc. Am. J., 50:736-745.

Russo,D., 1986b - A stochastic approach to the crop yield-irrigation relationship in heterogeneous soil: II. Application to irrigation management. Soil Sci. Soc. Am. J., 50:745-751.

Russo,D., Bresler,E., 1981 - Soil hydraulic properties as stochastic process: I. An analysis of field spatial variability. Soil Sci. Soc. Am. J., 45:682-687.

Russo,D., Bresler,E., 1982 - Soil hydraulic properties as stochastic process: II. Errors of estimate in a heterogeneous field. Soil Sci. Soc. Am. J., 46:20-26.

Tabor,J.A., Warrick,A.W., Myers,D.E., Permington,D.A., 1985 - Spatial variability of nitrate in irrigated cotton: II. Soil

nitrate and correlated variables. Soil Sci. Soc. Amer. J., 49:390-394.

Trangmar,B.B., Yost,R.S., Uehara,G., 1985 - Application of geostatistics to spatial studies of soil properties. Adv. in Agronomy, 38:45-94:

Viejra,S.R., Nielsen,D.R., Biggar,J.W., 1981 - Spatial variability of field measurement infiltration rate. Soil Sci. Soc. Am. J., 45:1040-1048.

Webster,R., 1977 - Quantitative and numerical methods in soil classification and survey. Clarendon Press, Oxford.

Webster,R., 1985 - Quantitative spatial analysis of soil in the field. Adv. in Soil Science, 3:1-69.

Webster,R., Burgess,T.M., 1984 - Sampling and bulking strategies for estimating soil properties of small regions. J. Soil Sci., 35:127-140.

Yates,J.R., Warwick,A.W., 1986 - A disjunctive kriging program for two dimensions. Computers and Geosciences, 12:281-313.

Yost,R.S., Uehara,G., Fox,R.L., 1982a - Geostatistical analysis of soil properties of large land areas: I. Semivariograms. Soil Sci. Soc. Am. J., 46:1028-1032.

Yost,R.S., Uehara,G., Fox,R.L., 1982b - Geostatistical analysis of soil properties of large land areas: II. Kriging. Soil Sci. Soc. Am. J., 46:1033-1037.

DIDASCALIA DELLE FIGURE

Fig. 1 - Esempio di variogramma limitato e non.
(Example of a limited semivariogram and a not limited one).

Fig. 2 - Grafico che illustra il metodo di calcolo del variogramma sperimentale.
(Plot showimg the method for estimating the experimental variogram).

Fig. 3a - Schema del campionamento in campo.
(Field sampling scheme).

Fig. 3b - Mappa delle isolinee del contenuto gravimetrico di umidità relativo allo strato 0÷20/25 cm.
(Map of soil moisture contour lines at the depth of 0÷20/25 cm).

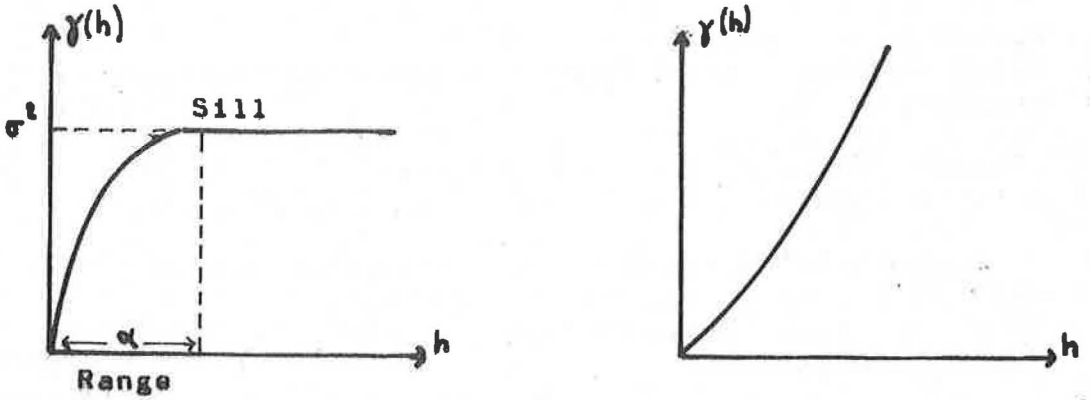
Fig. 4 - Istogramma delle frequenze delle coppie di punti in funzione della loro distanza; variogramma sperimentale dell'umidità del suolo relativa allo strato 0÷20/25 cm e suo modello lineare nell'intervallo 0÷100 m.
(Frequency histogram of the pairs of points for each distance class; experimental variogram of soil moisture at the depth of 0÷20/25 cm and its linear model in the 0÷100 m range).

Fig. 5a - Mappa delle isolinee dell'umidità del suolo relative allo strato 20/25÷40/45 cm.
(Map of soil moisture contour lines at the depth 20/25÷40/45 cm).

Fig. 5b - Mappa delle isolinee dell'umidità del suolo relative allo strato 40/45÷60/65 cm.
(Map of soil moisture contour line at the depth of 40/45÷60/70 cm).

Fig. 5c - Mappa della varianza di kriging relative allo strato 0÷20/25 cm.
(Map of kriging variance of soil moisture at the depth of 0÷20/25 cm).

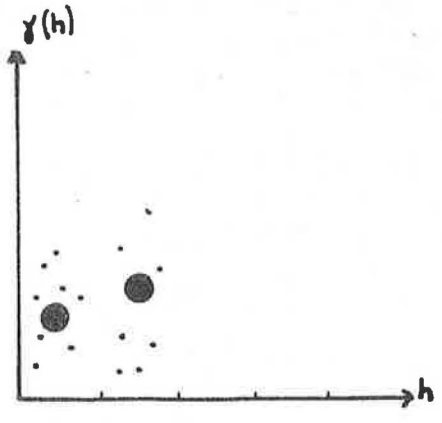
FIG. 1



variogramme limitato

variogramme non limitato

FIG. 2



· = valore della differenza $(z_i - z_j)^2$

● = media delle differenze $(z_i - z_j)^2$ all'interno del LAG

● Punti del campionamento periodico del terreno

FIG. 3a ○ Posizione freatimetri (S) e profili del terreno

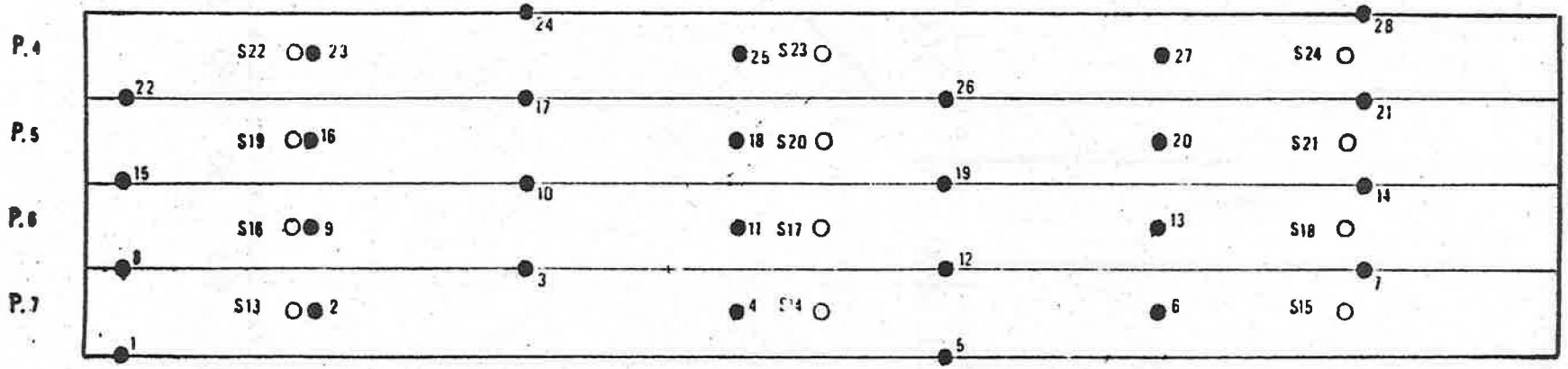


FIG. 3b

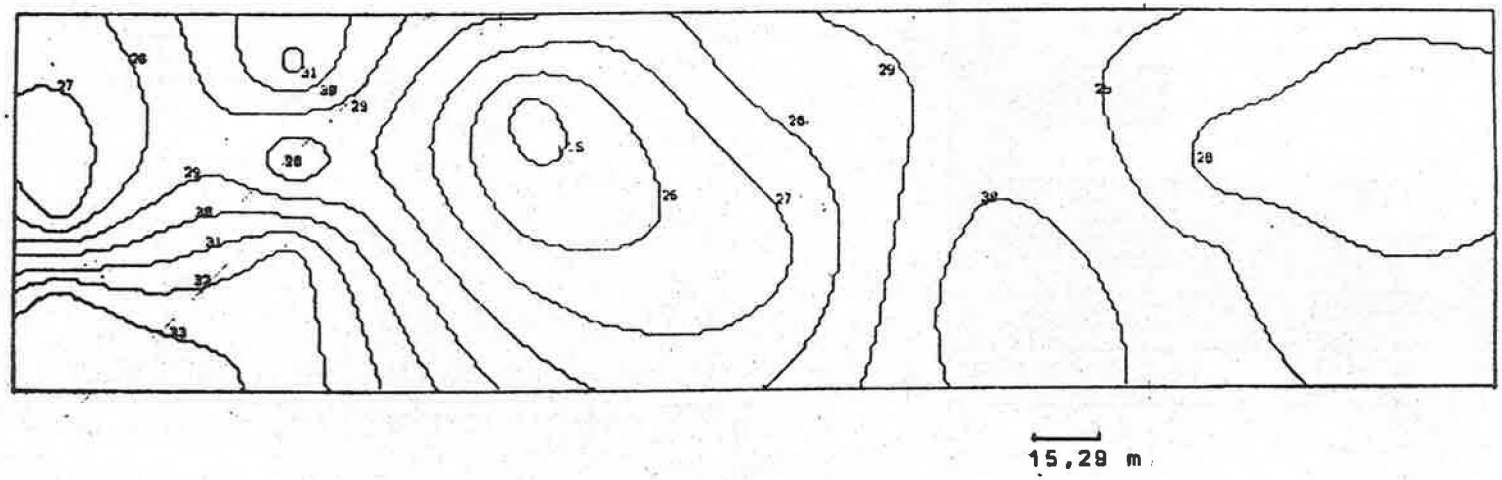


FIG. 3

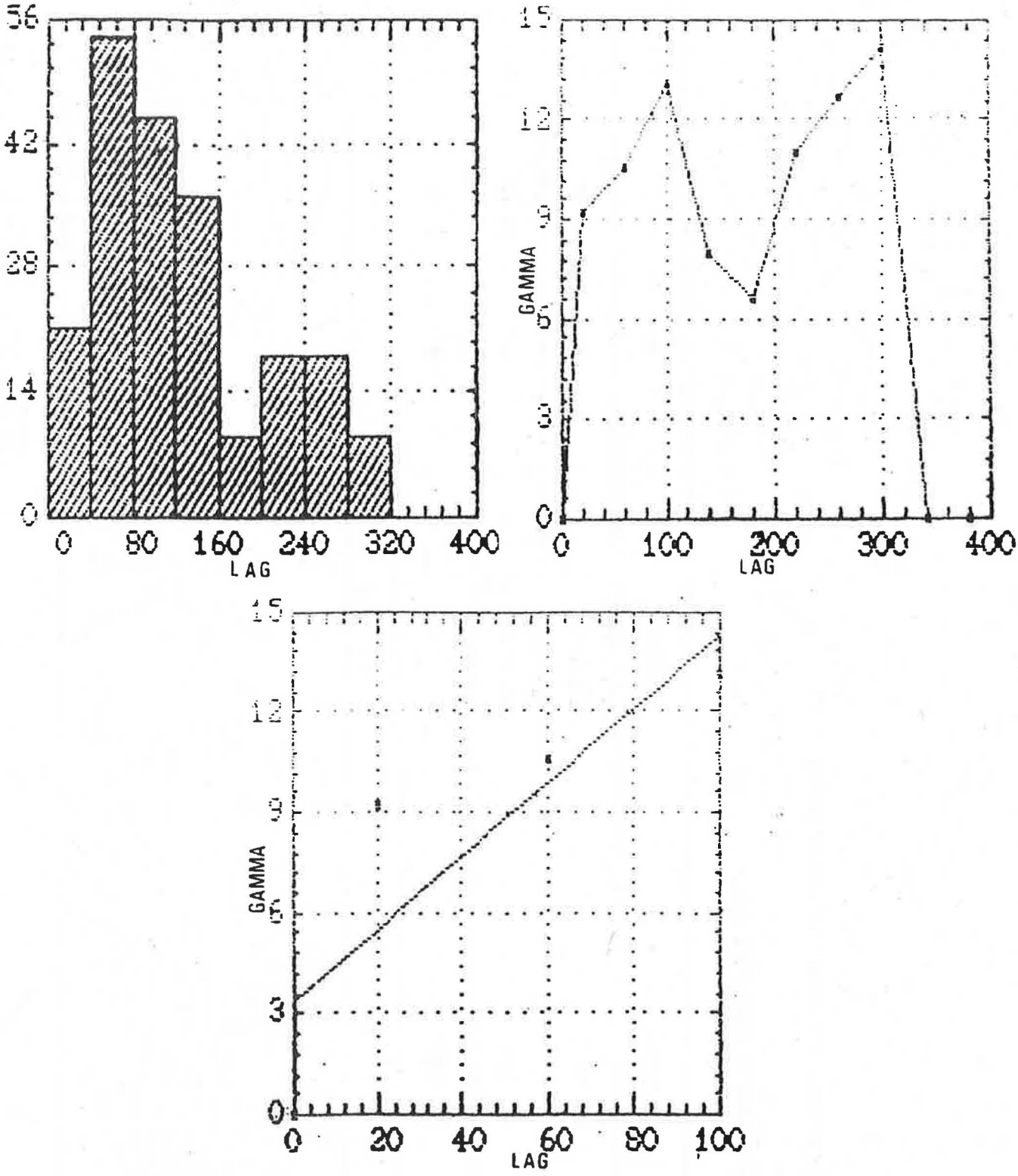

56
42
28
14
0
0 80 160 240 320 400
LAG
15
12
9
6
3
0
GAMMA
0 100 200 300 400
LAG
15
12
9
6
3
0
GAMMA
0 20 40 60 80 100
LAG

FIG. 4

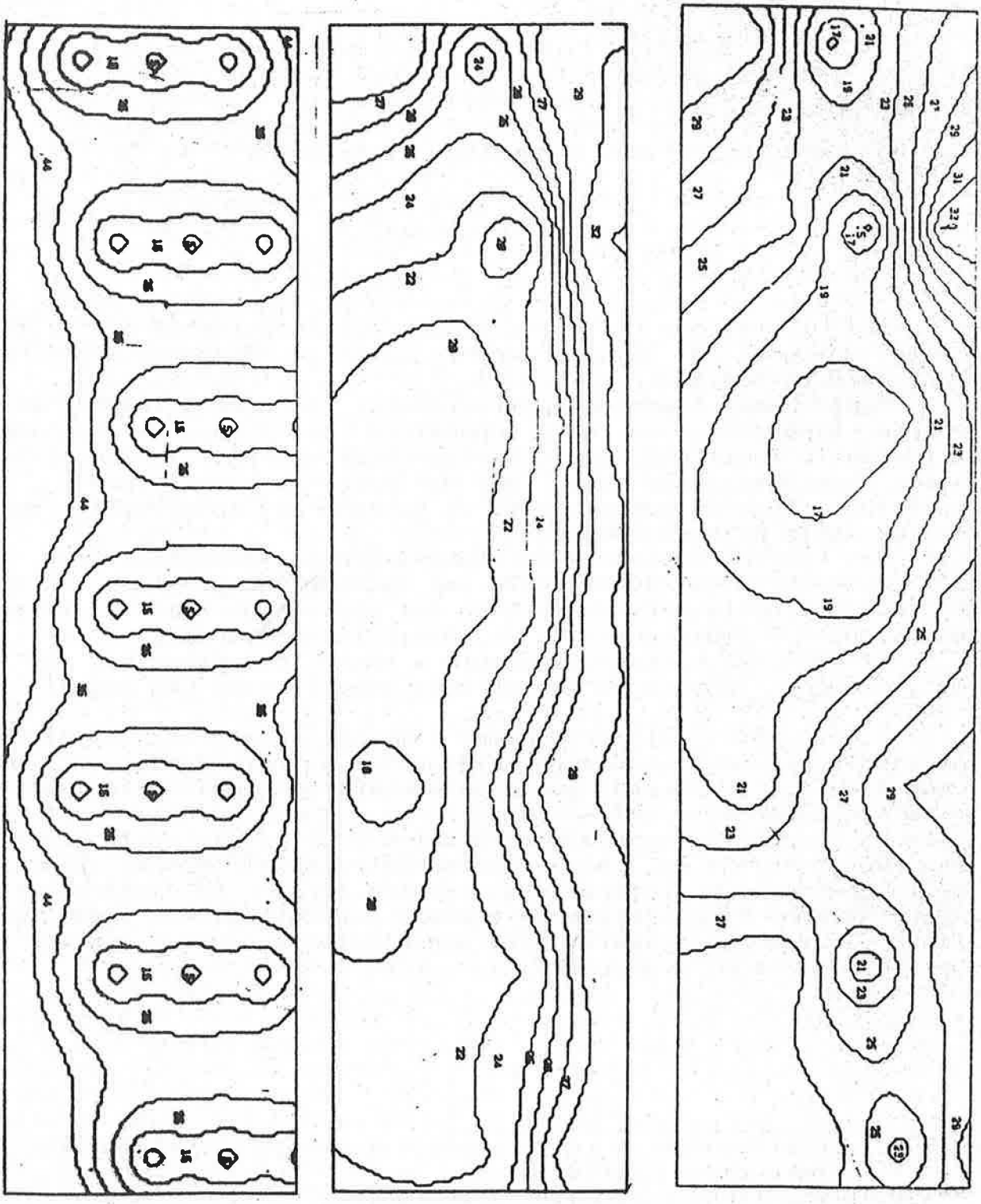


FIG. 5a

FIG. 5b

FIG. 5d

FIG. 5

ISTITUTO SPERIMENTALE AGRONOMICO
BARI

Verona 1988

Analisi geostatistica di alcune caratteristiche di un suolo del Metapontino

AM. Castrignanò*, V. D'Agostino**, G. Lopez*

Sunto

Fra i fattori che condizionano l'accrescimento e le rese delle colture, è da ricordare la salinità del suolo e il suo contenuto in sodio.

Applicando i metodi geostatistici, in questo lavoro si è voluto studiare, su una superficie di 3 ha di un suolo alluvionale argilloso (Aquic Vertic Xerofluvent), la variabilità nella concentrazione degli ioni Na^+ e Ca^{2+} presenti in soluzione acquosa nello strato di terreno più interessato dalle radici delle colture erbacee.

Il terreno è stato campionato a tre profondità diverse (0-20/25, 20/25-40/45, 40/45-60/70 cm) secondo una griglia, in modo da consentire la determinazione del semivariogramma in diverse direzioni e l'individuazione di possibili anisotropie.

Il Ca^{2+} varia isotropicamente a tutte le profondità, il Na^+, invece, mostra un'anisotropia superficiale per angoli $>40°$.

I parametri dei variogrammi limitati sono stati utilizzati per interpolare - mediante Kriging - i valori delle variabili considerate e tracciare, successivamente, le mappe delle isolinee alle tre profondità del suolo.

La concentrazione maggiore del Ca^{2+} è stata rilevata tra 20/25-40/45 cm, nella parte centrale del bordo inferiore della superficie interessata, mentre il Na^+ ha mostrato numerose zone circoscritte ad elevata concentrazione, localizzate lungo l'asse principale della superficie in esame, specie tra 20/25-40/45 cm di profondità.

---

*) A. Castrignanò e G. Lopez, Istituto Sperimentale Agronomico, Bari.
**) V. D'Agostino, C.S.A.T.A.-Technopolis, Bari.

Geostatistical analysis of some properties of a soil in Metaponto.

Summary

The spatial variability of field soils is important for identifying the main soil properties affecting crop productivity. These properties include soil salinity and its content in Na^+.

In this paper, the geostatistic method was applied to the study of Ca^{2+} and Na^+ ions present in soil solutions of an alluvial clay soil (Aquic Vertic Xerofluvent).

Grid sampling enabled measurements over the entire field to be analyzed in terms of variograms, which were calculated for the different directions. In this way, it was possible to see whether anisotropies were present.

Calcium content varied isotropically at all the depth, with an exponential variogram, while the sodium showed an anisotropy at angles greater than 40° in the superficial layer. The parameters of the limited variograms of both variables were used to krige point values and produce contour maps showing the variation of Ca^{2+} and Na^+ at three depths.

It was seen that there was a high concentration of Ca^{2+} near the central part of the lower field border at a depth of 20/25-40/45 cm, and several high Na^+ concentration areas primarly along the longer axis of the field at the same depth.

INTRODUZIONE

Il problema generale dei dati spaziali relativi a superfici più o meno estese di territorio, comune a diversi campi applicativi (agronomia, pedologia, geologia, idrologia, ecc.) è quello di determinare i valori medi di parametri scelti e stimare la loro variabilità intorno a tali medie.

La conoscenza di questa variabilità spaziale è di particolare importanza, specie quando si vogliono stabilire le relazioni causa-effetto fra determinate caratteristiche del suolo e la produzione agraria (Ball e al.,1968; Cook e Pocock,1983).

Poichè le proprietà del suolo cambiano gradualmente all'interno di una particolare unità paesaggistica, risulta particolarmente interessante poter studiare tale variazione in funzione della locazione. La letteratura relativamente recente riporta numerosi esempi di studi della variabilità spaziale di alcune proprietà idrologiche del suolo (Nielsen e al.,1973), della distribuzione dei soluti lungo il profilo di suolo durante la lisciviazione (Biggar e Nielsen, 1976), della conducibilità elettrica dell'estratto saturo del suolo (Hajrasuliha e al.,1980), di alcune proprietà fisiche, chimiche e idrologiche e del contenuto gravimetrico di umidità di alcuni suoli dell'Italia Meridionale (Castrignanò e al.,1988a,b).

La produzione agraria, vista come risposta integrata del

campo, è interessata da numerosi fattori, fra cui sono da ricordare la salinità totale e la concentrazione dei diversi ioni presenti nelle soluzioni del suolo.

In effetti, poco si conosce sulle relazioni fra la variabilità in campo del suolo e quella della resa colturale, (Smith,1958; Bresler e al.,1981; Warrick e Gardner,1983; Russo,1984). In questi lavori le singole osservazioni, relative alle proprietà idrologiche del suolo e alla resa colturale, furono considerate indipendenti dalle loro posizioni spaziali e le relazioni matematiche fra tali proprietà furono stabilite utilizzando le tecniche di regressione ai minimi quadrati (Bresler e al.,1981; Russo,1984). I risultati di tali analisi mostravano che la variabilità spaziale nelle proprietà del suolo spiegavano, generalmente, circa il 40% o meno della variabilità della produzione agraria.

E' ormai comunemente accettato che le proprietà del suolo non sono distribuite in modo completamente casuale nello spazio, ma che presentano, al contrario, una qualche struttura spaziale (Campbell,1978; Russo e Bresler,1981; Vieira e al.,1981).

Attualmente, tuttavia, è ancora scarsa la conoscenza su quanto la variabilità del suolo e la sua struttura spaziale influenzino la resa colturale. Una tale lacuna è, nella maggior parte dei casi, dovuta a mancanza di informazioni riguardanti la variabilità spaziale dei principali determinanti la resa.

Obiettivo di questo lavoro è stato quello di applicare il metodo "geostatistico" allo studio della variabilità spaziale di due parametri del suolo, le concentrazioni degli ioni Ca^{2+} e Na^{+} presenti in soluzione acquosa nello strato di terreno più interessato dalle radici delle colture erbacee.

La scelta di questi due particolari ioni è derivata dal fatto che essi agiscono, in modo rilevante e in antagonismo fra loro, sui rapporti acqua-suolo e sulla stabilità della microstruttura. Essi, inoltre, condizionano sensibilmente la capacità di esplorazione del suolo e di assorbimento dell'acqua da parte delle radici e sono quindi responsabili delle variazioni osservabili nelle produzioni.

MATERIALI E METODI

Lo schema di campionamento è riportato nella nota riguardante la variabilità del contenuto in umidità (Castrignanò et al.,1988) dello stesso suolo alluvionale argilloso (Aquic Vertic Xerofluvent) oggetto di questo studio e descritto nei suoi caratteri generali da Lopez et al. (1986, 1987).

Sugli estratti acquosi 2:1 dei campioni prelevati con le stesse modalità utilizzate per lo studio della variabilità spaziale dell'umidità nel suolo (Castrignanò et al,, 1988), sono stati determinati - secondo le normali procedure analitiche di laboratorio - i costituenti più rappresentativi, fra i quali Ca^{2+} e Na^{+}, la cui variabilità viene discussa qui di seguito.

I risultati ottenuti sono stati elaborati secondo l'approccio geostatistico ampiamente descritto in altre note

(Huijbregts, 1975; Castrignanò e al., 1988a,b).

In particolare, è stata effettuata un'analisi strutturale per direzioni, a tre profondità, al fine di rilevare eventuali anisotropie del suolo e di cui si dà, per una migliore comprensione dei risultati ottenuti, un breve cenno metodologico.

Considerando le coordinate polari, il variogramma $\gamma(h)$ è una funzione del modulo $|h|$ del lag h_α e dell'angolo α.

Per un determinato α, il variogramma indica come i valori della variabile si differenziano al crescere della distanza fra i punti; al variare di α si ottiene, quindi, una descrizione differenziata della struttura per direzione.

Dal punto di vista operativo, si sceglie l'angolo $\alpha \pm \delta$ - con δ valore di tolleranza - e si specificano le coppie dei dati che rientrano in esso.

Lo studio del variogramma per diverse direzioni può rilevare anisotropie, quando si notano "range" e "sill" differenti.

L'anisotropia può essere classificata in due categorie:

- ellittica, quando l'anisotropia può essere corretta da una trasformazione affine delle coordinate, per ristabilire l'isotropia;
- stratificata, più complessa; ad es., nello spazio tridimensionale, la direzione verticale ha un ruolo determinante.

Modelli accettabili decompongono il variogramma secondo due termini:

1) un variogramma isotropico ($\gamma_1(h)$);
2) un variogramma dipendente dalla sola componente verticale ($\gamma_2(h)$).

Il modello finale è, quindi, $\gamma = \gamma_1 + \gamma_2$.

L'analisi strutturale per direzioni è effettuata individuando il numero di LAGS e l'ampiezza di ciascuno di essi all'interno di una direzione $\alpha \pm \delta$ (fig. 1):

VEDI FIG. 1

A ciascun LAG è assegnato il valore medio delle differenze $(z_i - z_j)^2 = d^2_{ij}$ (fig. 2)

VEDI FIG. 2

La significatività statistica di un processo di questo tipo

presuppone che:

- la scelta delle direzioni $\alpha \pm \delta$ sia tale da consentire una riduzione delle misure del variogramma sperimentale con un congruo numero di coppie di punti;
- l'ampiezza del LAG sia tale da riflettere le proprietà fisiche del fenomeno in esame. In altri termini un LAG "ampio" (comprendente molte coppie) medierà molto il fenomeno ,smussandone i picchi; viceversa un LAG "piccolo" (con un numero limitato di coppie), accentuandone le variazioni, renderà il processo statisticamente poco significativo.

Tali considerazioni introducono un'apparente contraddizione: significatività statistica comporta avere un numero congruo di misure $(z_i - z_j)^2$ in ciascun LAG; se tale significatività è recuperata mediante un "ampliamento" del LAG, allora il fenomeno riprodotto potrà avere delle forzate regolarità.

In altri termini, se lo schema di campionamento è abbastanza regolare, il LAG può essere assunto un pò più ampio della minima distanza fra una coppia di dati, in modo tale da garantirsi (soprattutto in vicinanza dell'origine) una diecina di valori $d^2_{i,j}$ per ciascun LAG.

Qualora lo schema non sia regolare, resta l'obiettivo di avere una decina di misure $d^2_{i,j}$ nei primi LAGS; se, per ottenere questo, si deve aumentare l'ampiezza del LAG, allora bisognerà riportare questa informazione alla scala di dettaglio con la quale si desidera conoscere il fenomeno (passo di griglia o risoluzione).

Dal grafico del variogramma sperimentale è possibile comprendere la presenza di un TREND, se all'aumentare di h, $\gamma(h)$ aumenta più rapidamente di h^2.

Dalla relazione:

$$\Sigma[Z(x+h)-Z(x)]^2 = \mathrm{var}[Z(x+h)-Z(x)]+(\Sigma[Z(x+h)-Z(x)])^2$$

e, notando che il variogramma sperimentale è una stima di

$$\tfrac{1}{2}\,\Sigma\,[Z(x+h)-Z(x)]^2$$

segue che:

$$\gamma(h) = \tfrac{1}{2}\,\Sigma[Z(x+h)-Z(x)]^2 = \gamma + \tfrac{1}{2}\gamma[m(X+h)-m(x)]^2$$

con γ variogramma vero ed m funzione locale della media. Da quest'ultima relazione si ricava che lo stimatore di γ è sempre "distorto" (biased).

Per chiarire le idee, si consideri, per es., un trend lineare nello spazio monodimensionale:

$$m(x+h)-m(x) = [a(x+h)+b]-[ax + b] = ah$$

e

$$\gamma(h) = \gamma(h) + \tfrac{1}{2}a^2h^2$$

Il termine $\frac{1}{2}a^2h^2$ (una parabola) è sommata al variogramma e lo porta all'infinito.

Per piccole distanze questo termine è trascurabile, ma per grandi distanze la sua influenza è considerevole, come da fig. 3.

VEDI FIG. 3

Allo stesso risultato si perviene nello spazio bi- e tridimensionale per trend lineari.

Gli effetti del trend sul variogramma sperimentale, per casi differenti da quello lineare, sono più complessi, ma altrettanto visibili dal grafico.

Dopo l'analisi strutturale per direzioni è stata effettuata la ricostruzione puntuale della variabile, consistente nell'interpolazione dei dati misurati mediante lo stimatore lineare del kriging.

La restituzione dei dati, dopo quest'ultima fase di elaborazione, è consistita nella produzione di mappe di isolinee delle concentrazioni di Ca^{2+} e di Na^{+}, tracciate ad intervalli di 0,8 meq/l di estratto, per ogni strato di suolo considerato.

Il software utilizzato in questo lavoro è disponobile su main frame IBM 4341 VM,presso il C.S.A.T.A.-Bari.

RISULTATI SPERIMENTALI

a) Analisi strutturale direzionale

Nelle figg. 4, 5 e 6 sono riportati i variogrammi sperimentali delle due variabili Ca^{2+} e Na^{+}, per differenti angoli α del vettore distanza fra due punti campionati e per ciascuno strato di suolo considerato.

Nel caso da noi esaminato, non sempre è stato possibile riconoscere strutture statisticamente significative.

Non è stato possibile, ad es., effettuare l'analisi tridimensionale a causa del limitato numero di livelli considerati.

Anche rispetto all'analisi bidimensionale, nei tre differenti strati, alcune direzioni presentavano un numero limitato di misure nei lags, da renderle poco significative.

Per entrambe le variabili, per ogni strato e direzione considerati, si è adattato al variogramma sperimentale un modello di tipo esponenziale.

Per la variabile Ca^{2+} si nota che - nello strato 0÷20/25 cm - il variogramma lungo la direzione $\alpha = 0°$ appare limitato, con un range = 170 m e un sill = 0,5 $(meq/l)^2$. Lungo le altre direzioni, il variogramma è di tipo lineare, il che indica che nella variabilità del calcio è presente sia una componente di "trend" lineare sia una strutturale, che tende a piegare il variogramma. Non si rilevano, però, comportamenti

diversi lungo particolari direzioni.

Nello strato 20/25÷40/45 cm si nota lo stesso andamento del variogramma nelle diverse direzioni: vi è una fase iniziale crescente che rappresenta la componente sistematica o "trend", e una limitata o strutturale, che è stata modellata, ottenendo un range = 170 m e un sill = 1 $(meq/l)^2$.

Anche alla profondità maggiore (40/45÷60/70 cm) si ripete lo stesso comportamento: vi è un variogramma limitato lungo la direzione $\alpha = 30°$ con un range = 170 m e un sill = 0,6 $(meq/l)^2$, mentre lungo le altre direzioni prevale solo la componente determimistica di "trend" lineare.

In conclusione, per la variabile Ca^{2+} non si rilevano nè in superficie nè in profondità anisotropie di rilievo.

Per la variabile Na^+, nello strato 0-20/25 cm, si nota un diverso comportamento per la direzione $\alpha < 40°$ e $\alpha > 40°$. Nel primo caso, il variogramma risulta limitato con un range = 170 m e un sill = 3,7 $(meq/l)^2$; nel secondo caso, invece, prevale la componente deterministica di "trend", ma la correlazione diventa negativa, indicando una maggiore somiglianza fra punti a maggiore distanza.

Nello strato 20/25÷40/45 cm, si osserva, lungo le varie direzioni, lo stesso comportamento del variogramma che appare limitato con range = 170 m e sill = 8 $(meq/l)^2$.

Una eventuale anisotropia la si rileva lungo la direzio $\alpha = 150°$, il cui variogramma appare lineare con una correlazione negativa; comunque l'anisotropia osservata in superficie va attenuandosi a tale profondità.

A maggiori profondità non si rivelano, invece, andamenti particolari del variogramma che risulta limitato con un range = 170 m e un sill = 20 $(meq/l)^2$.

b) Mappatura

Le mappe delle isolinee (figg. 7 e 8) mostrano chiaramente l'irregolare distribuzione del Ca^{2+} e del Na^+ in soluzione sia in superficie che in profondità.

Da esse, in maniera molto preliminare, possono trarsi alcune considerazioni:

1) il Na^+ tende ad aumentare con la profondità, raggiungendo livelli limiti di sopportabilità per la maggior parte delle colture già nello strato 40/45÷60/70 cm, a differenza del Ca^{2+}, che si mantiene con valori quasi costanti nei tre strati considerati.

2) la maggiore disformità nella distribuzione del Ca^{2+} e del Na^+ si verifica nei due strati superiori (0÷20/25 e 20/25÷40/45 cm).

3) In tutti gli strati considerati esistono aree limitate in cui si verificano variazioni brusche, entro distanze molto brevi, delle concentrazioni dei due cationi.

CONCLUSIONI

Da questo studio preliminare appare già evidente come la superficie considerata presenta, per i cationi esaminati, una

grande disformità in superficie e in profondità.

Le cause di tale disformità possono essere di varia natura, quali la mancanza di omogeneità nella tessitura e nello stato di aggregazione del suolo, nel suo regime idrico, in una cattiva sistemazione della superficie, in un drenaggio disforme e irregolare, ecc.; cause queste che potranno essere diagnosticate una volta in possesso di tutte le informazioni necessarie riguardanti gli altri parametri del suolo.

Presso l'Istituto Sperimentale Agronomico di Bari, infatti, è ancora in corso lo studio analitico delle caratteristiche fisico-meccaniche di questa particolare superficie, al fine di stabilire la loro influenza sulla concentrazione e sul movimento di questi ioni nel suolo.

E' evidente, tuttavia, che anche questo semplice esempio di rappresentazione su mappe può riuscire di grande utilità per qualsiasi utilizzatore del suolo.

Da un loro esame, sia pure sommario, possono essere fatte delle scelte circa le tecniche colturali, le colture e gli avvicendamenti più idonei, il numero, la localizzazione e la profondità di prelevamento dei campioni di suolo per il controllo della salinità, ecc.

L'applicazione del metodo geostatistico risulta particolarmente promettente nel campo dell'irrigazione, consentendo risparmi considerevoli di acqua.

Quando, infatti, un sistema di irrigazione uniforme viene applicato a un campo eterogeneo, si deve prevedere che il contenuto idrico del suolo, la sua salinità e la resa colturale si differenzino da punto a punto, a causa della variabilità intrinseca delle proprietà del suolo. E' importante, pertanto, analizzare le loro distribuzioni spaziali in campo, al fine di suggerire schemi ottimali di irrigazione per campi coltivati variabili spazialmente. Queste proprietà potrebbero venire usate come dati in ingresso ad un modello semplificato di resa della coltura in funzione del contenuto idrico del suolo che,accoppiato al metodo di simulazione condizionata,consentirebbe di analizzare la distribuzione spaziale del contenuto idrico,della salinità e della resa in un campo irrigato, per differenti combinazioni di quantità e salinità delle acque irrigue.

Simulazioni del genere sono state eseguite da Russo (1986a,b) e hanno dimostrato che la risposta colturale in differenti punti del campo può essere completamente differente: per particolari combinazioni di quantità e salinità dell'acqua di irrigazione, le differenze relative della resa possono superare anche il 100%.

Applicando un modello semplificato di resa della coltura, accoppiato al metodo di simulazione condizionata, per valutare la distribuzione spaziale dell'acqua di irrigazione necessaria per mantenere un dato livello di resa, uniforme su tutto il campo, l'autore ha dimostrato che, considerando le quantità d'acqua di irrigazione richieste ai diversi siti, piuttosto che quella globale per l'intero campo, si possono ottenere risparmi di consumi idrici dal 7% al 34% .

Quello illustrato è solo uno dei possibili sviluppi applicativi del metodo geostatistico, che si rivela particolarmente interessante non solo dal punto di vista

conoscitivo, ma anche economico, consentendo risparmi considerevoli di quelle risorse ambientali, considerate beni sempre più preziosi e limitati.

BIBLIOGRAFIA

Ball,D.F., Williams,W.M, 1968 - Variability of soil chemical properties in two uncultivated brown earths. J.Soil Sci.,19:379-391.

Biggar,J.W., Nielsen,D.R., 1976 - Spatial variability of the leaching characteristics of a field soil. Water Resour. Res., 12:78-84.

Bresler,E., Dasberg,S., Russo,D., Dagan,G., 1981 - Spatial variability of crop yield as a stochastic soil process. Soil Sci. Soc. Am. J., 45:600-605.

Campbell,J.B., 1978 - Spatial variation of sand content and pH within contiguous delineation of two soil mapping units.Soil Sci. Am. J.,42:460-464.

Castrignanò,A., Lopez,G., 1988a - Primo approccio allo studio della variabilità spaziale delle proprietà idrologiche, fisiche e chimiche di un suolo del Tavoliere Pugliese. Atti Convegno S.I.S.S. su "Giornate di studio sull'analisi del suolo", 19-21 Settembre 1988, Verona.

Castrignanò,A., D'Agostino,V.,Lopez,G., 1988b - Studio della variabilità spaziale dell'umidità del suolo mediante geostatistica. Atti Convegno S.I.S.S. su "Giornate di studio sull'analisi del suolo", 19-21 Settembre 1988, Verona.

Cook,D.G., Pocock,S.J., 1983 - Multiple regression in geographical mortality studies, with allowance for spatially correlated errors. Biometrics, 39:361-371.

Hajrasuliha,S., Baniabbassi,N., Metthey,J., Nielsen,D.R., 1980-Spatial variability of soil sampling for salinity studies in southwest Iran. Irrigation Science, 1:197-208.

Huijbregts,J., 1975 - Regionalized variables and quantitative analysis spatial data. J.Wiles & Sons ed., London.

Lopez,G., Ascione,S., Marrone,G., 1986 - Caratteri fisico-chimici dei suoli e delle acque di falda di un ambiente del litorale ionico lucano. Nota I. Descrizione generale del suolo e delle acque di falda. Annali Istit. Sper. Agronomico, Bari, XVII:49-65.

Lopez,G., Castrignanò,A., Ascione,S., Marrone,G., 1987 - Caratteri fisico-chimici dei suoli e delle acque di falda di un ambiente del litorale ionico lucano. Nota II. Relazioni quantitative fra alcuni parametri del suolo. Annali Istit. Sper. Agronomico, Bari, XVIII (in corso di stampa).

Nielsen,D.R., Biggar,J.W., Erh,K.T., 1973 - Spatial variability of field measured soil-water properties. Hilgardia, 42:215-259.

Russo,D., 1984 - A geostatistical approach to the trickle

irrigation design in heterogeneous soil: II. A field test. Water Resour. Res., 19:543-552.

Russo,D., 1986a - A stochastic approach to the crop yield-irrigation water relationships in heterogeneous soils: I. Analysis of field spatial variability. Soil Sci. Soc. Am. J., 50:736-745.

Russo,D., 1986b - A stochastic approach to the crop yield-irrigation water relationships in heterogeneous soils: II. Application to irrigation management. Soil Sci. Soc. Am. J., 50:745-751.

Russo,D., Bresler,E., 1981 - Soil hydraulic properties as stochastic processes: I. An analysis of the field spatial variability. Soil Sci. Soc. Am. J., 45:682-687.

Smith,H.F., 1958 - An empirical law describing heterogeneity in the field yield of agricultural crops. J. Agric. Sci., 28:1-23.

Viejra,S.R., Nielsen,D.R., Biggar,H.W., 1981 - Spatial variability of field -measured infiltration rate. Soil Sci. Soc. Am. J.,45:1040-1048.

Warrick,A.W., Gardner,W.R., 1983 - Crop yield as affected by spatial variations of soil and irrigation. Water Resour. Res., 19:181-186.

DIDASCALIE DELLE FIGURE

Fig. 1) Ampiezza dell'angolo $\alpha \pm \delta$, con δ valore di tolleranza, che individua la direzione secondo cui è calcolato il variogramma.
(Width of the angle $\alpha \pm \delta$, with δ allowance angle, indicating the direction along which experimental variogram is estimated).

Fig. 2) Grafico illustrativo del calcolo del variogramma sperimentale.
(Graph showing as to estimate experimental variogram).

Fig. 3) Variogramma sperimentale con "effetto trend".
(Experimental variogram with "trend effect").

Fig. 4) Variogrammi sperimentali direzionali per le variabili Ca^{2+} e Na^{+}, nello strato 0÷20/25 cm.
(Experimental variograms for direction of the variables Ca^{2+} and Na^{+}, at 0÷20/25 cm depth).

Fig. 5) Variogrammi sperimentali direzionali per le variabili Ca^{2+} and Na^{+}, nello strato 20/25÷40/45 cm.
(Experimental variograms for direction of the variables Ca^{2+} and Na^{+}, at 20/25÷40/45 cm depth).

Fig. 6) Variogrammi sperimentali direzionali per le variabili Ca^{2+} e Na^{+}, nello strato 40/45÷60/70 cm.
(Experimental variograms for direction of the variables Ca^{2+} and Na^{+}, at 40/45÷60/70 cm depth).

Fig. 7) Mappe delle isolinee relative alla concentrazione dello ione Ca^{2+} nei tre strati di suolo considerati.
(Contour maps of Ca^{2+} ion concentration at the three considered depths).

Fig. 8) Mappe delle isolinee relative alla concentrazione dello ione Na^{+} nei tre strati di suolo considerati.
(Contour maps of Na^{+} ion concentration at the three considered depths).

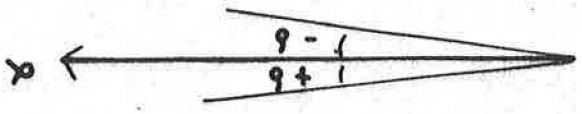

x
q - 1
q + 1

FIG. 1

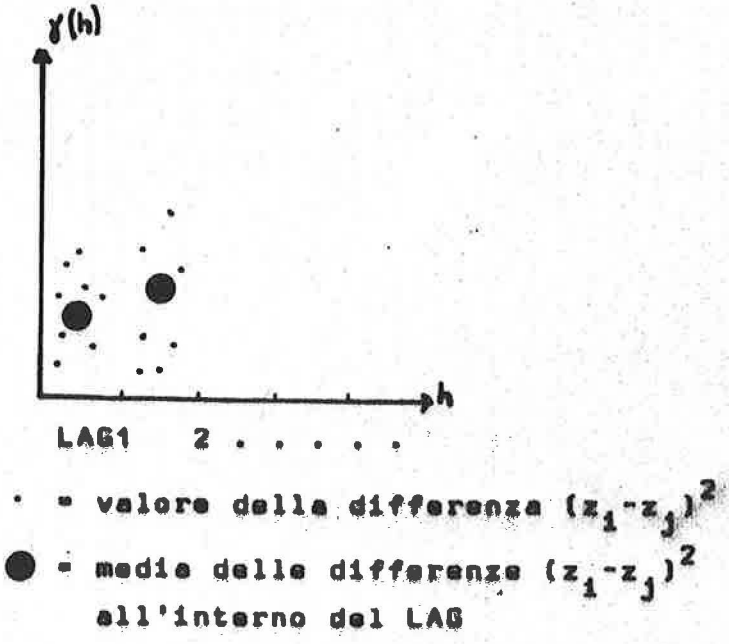

γ(h)
h
LAG1 2 . . . . .
· = valore della differenza $(z_i - z_j)^2$
● = media delle differenze $(z_i - z_j)^2$
all'interno del LAG

FIG. 2

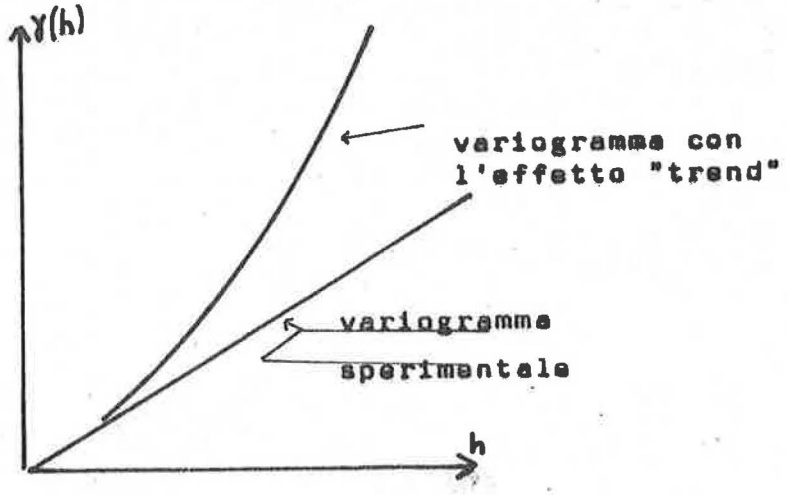

γ(h)
variogramma con
l'effetto "trend"
variogramma
sperimentale
h

FIG. 3

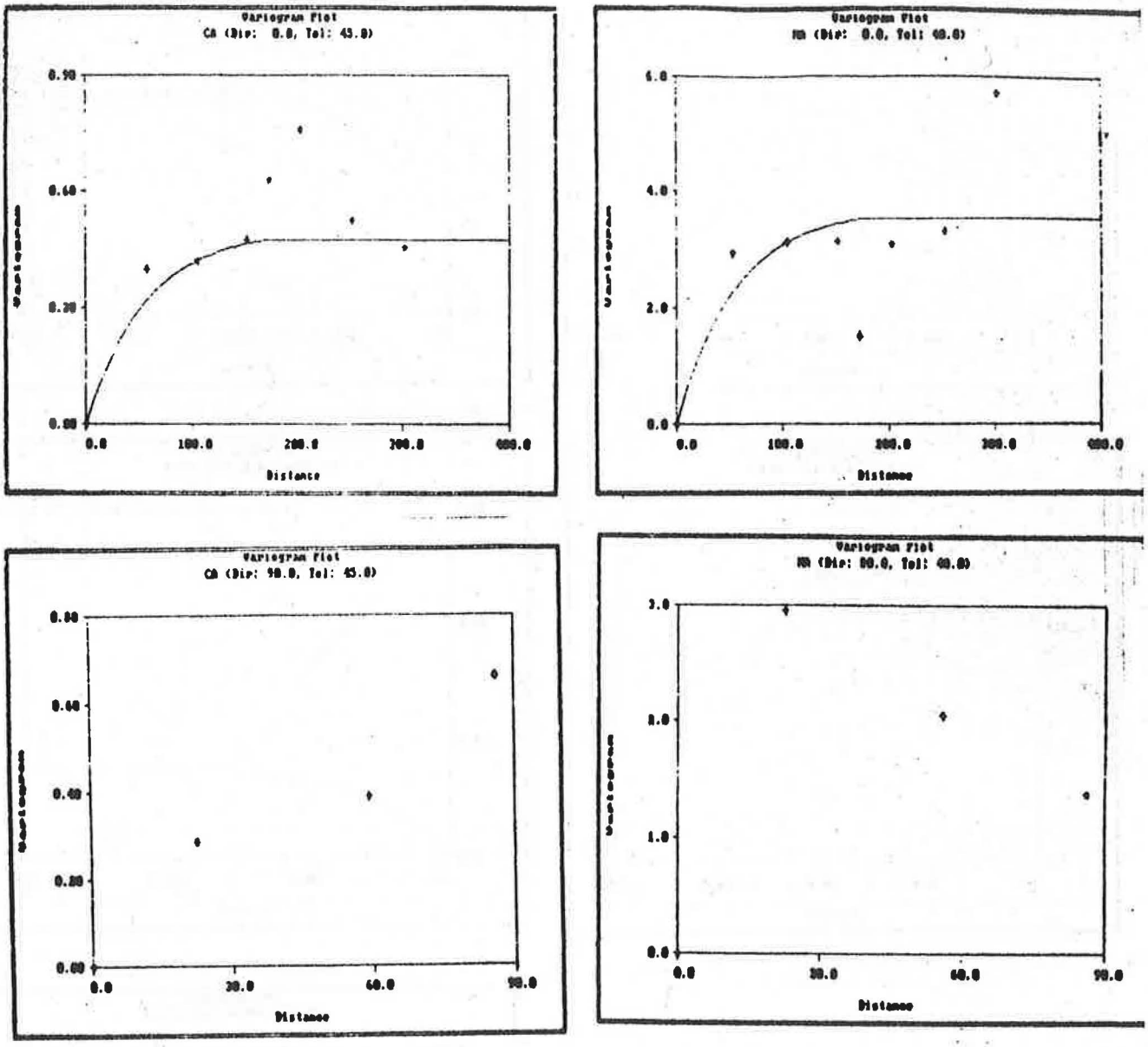
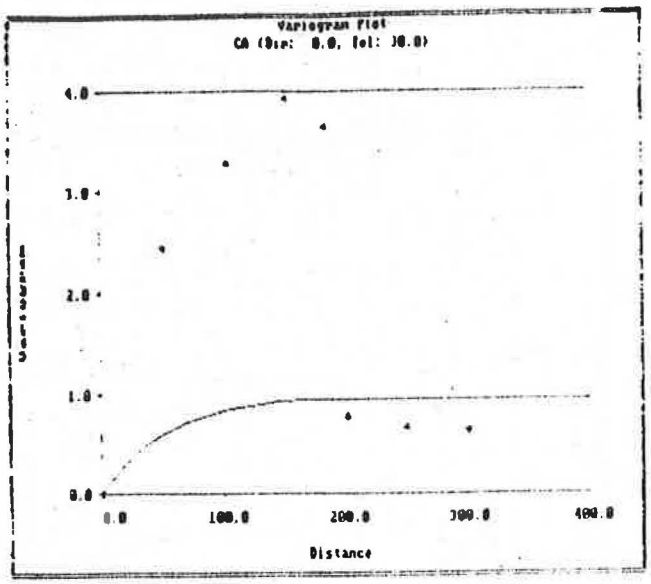
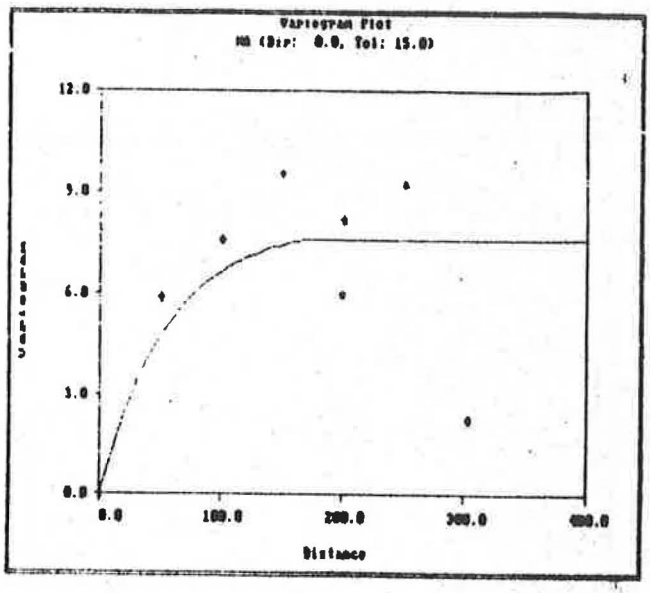
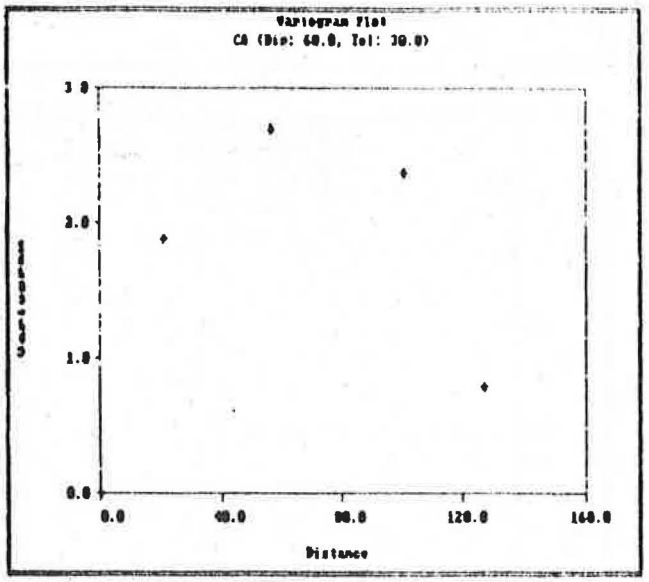
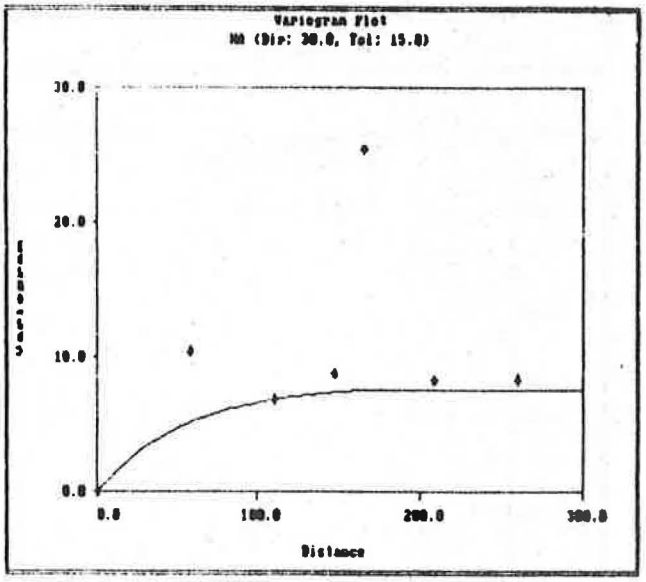

Variogram Plot
Ca (Dir: 0.0, Tol: 45.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
Mg (Dir: 0.0, Tol: 45.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
Ca (Dir: 90.0, Tol: 45.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
Mg (Dir: 90.0, Tol: 45.0)
Variogram
Distance

FIG. 4


Variogram Plot
CA (Dir: 0.0, Tol: 30.0)
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
Variogram
0.0
100.0
200.0
300.0
400.0
Distance


Variogram Plot
MA (Dir: 0.0, Tol: 15.0)
12.0
9.0
6.0
3.0
0.0
Variogram
0.0
100.0
200.0
300.0
400.0
Distance


Variogram Plot
CA (Dir: 60.0, Tol: 30.0)
3.0
2.0
1.0
0.0
Variogram
0.0
40.0
80.0
120.0
160.0
Distance


Variogram Plot
MA (Dir: 30.0, Tol: 15.0)
30.0
20.0
10.0
0.0
Variogram
0.0
100.0
200.0
300.0
Distance

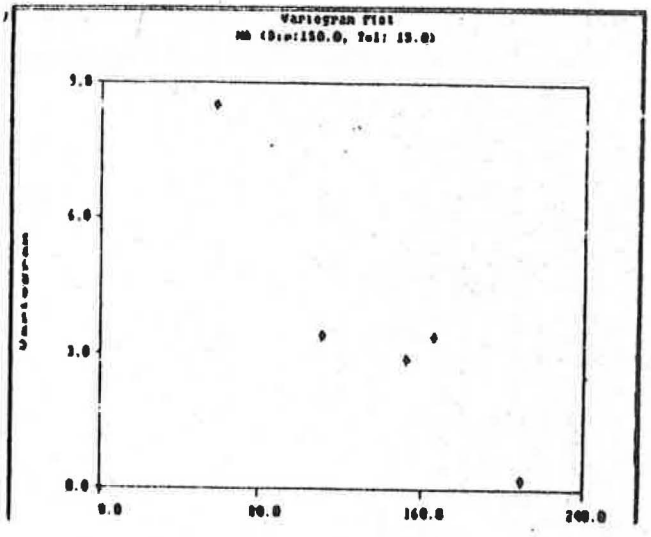

Variogram Plot
MA (Dir:150.0, Tol: 15.0)
9.0
6.0
3.0
0.0
Variogram
0.0
80.0
160.0
240.0

FIG. 5

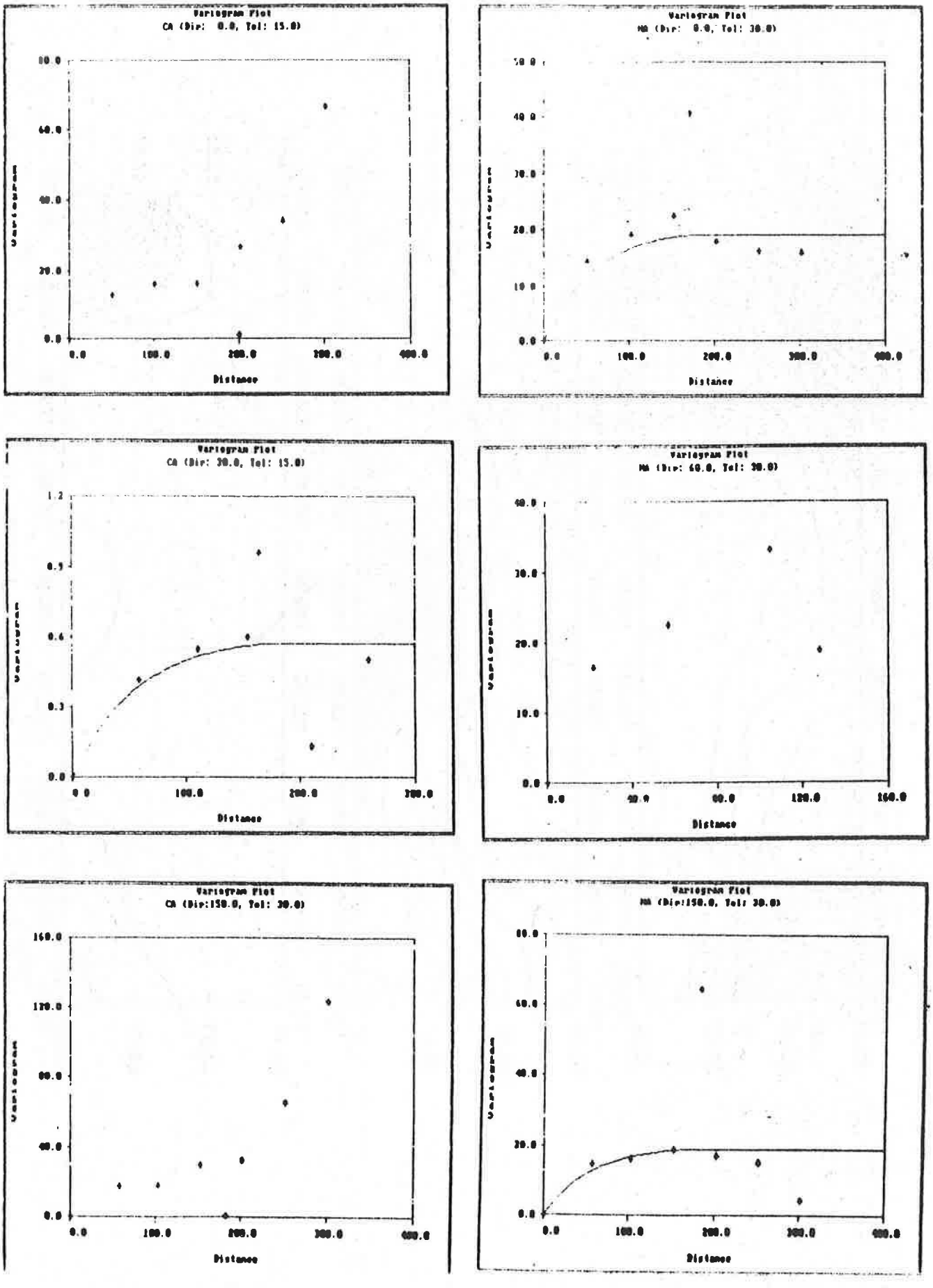

Variogram Plot
CA (Dir: 0.0, Tol: 15.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
MA (Dir: 0.0, Tol: 30.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
CA (Dir: 30.0, Tol: 15.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
MA (Dir: 60.0, Tol: 30.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
CA (Dir:150.0, Tol: 30.0)
Variogram
Distance
Variogram Plot
MA (Dir:150.0, Tol: 30.0)
Variogram
Distance

FIG. 6

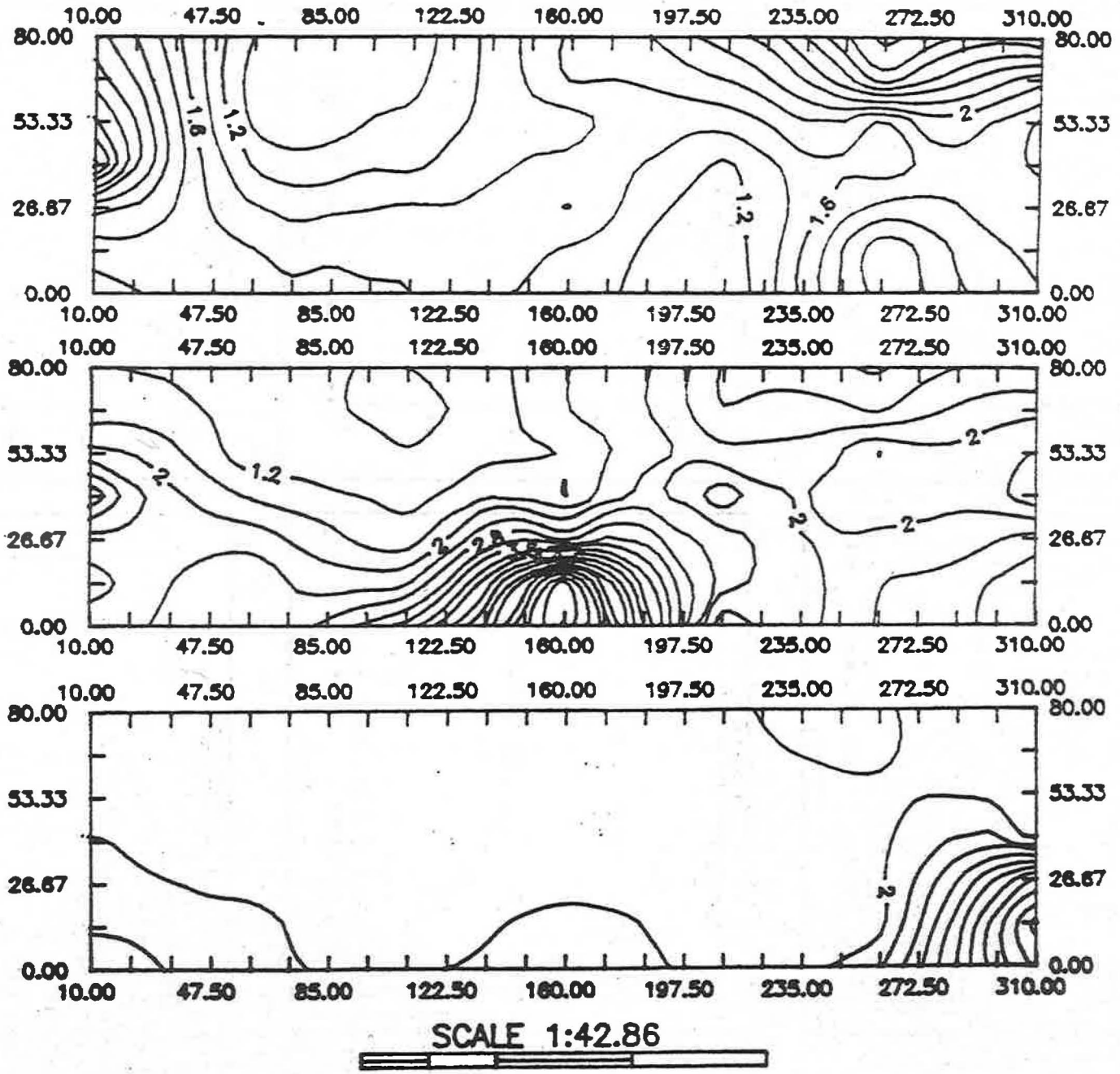

10.00
47.50
85.00
122.50
160.00
197.50
235.00
272.50
310.00
80.00
53.33
26.67
0.00
1.6
1.2
2
2.8
SCALE 1:42.86

FIG. 7

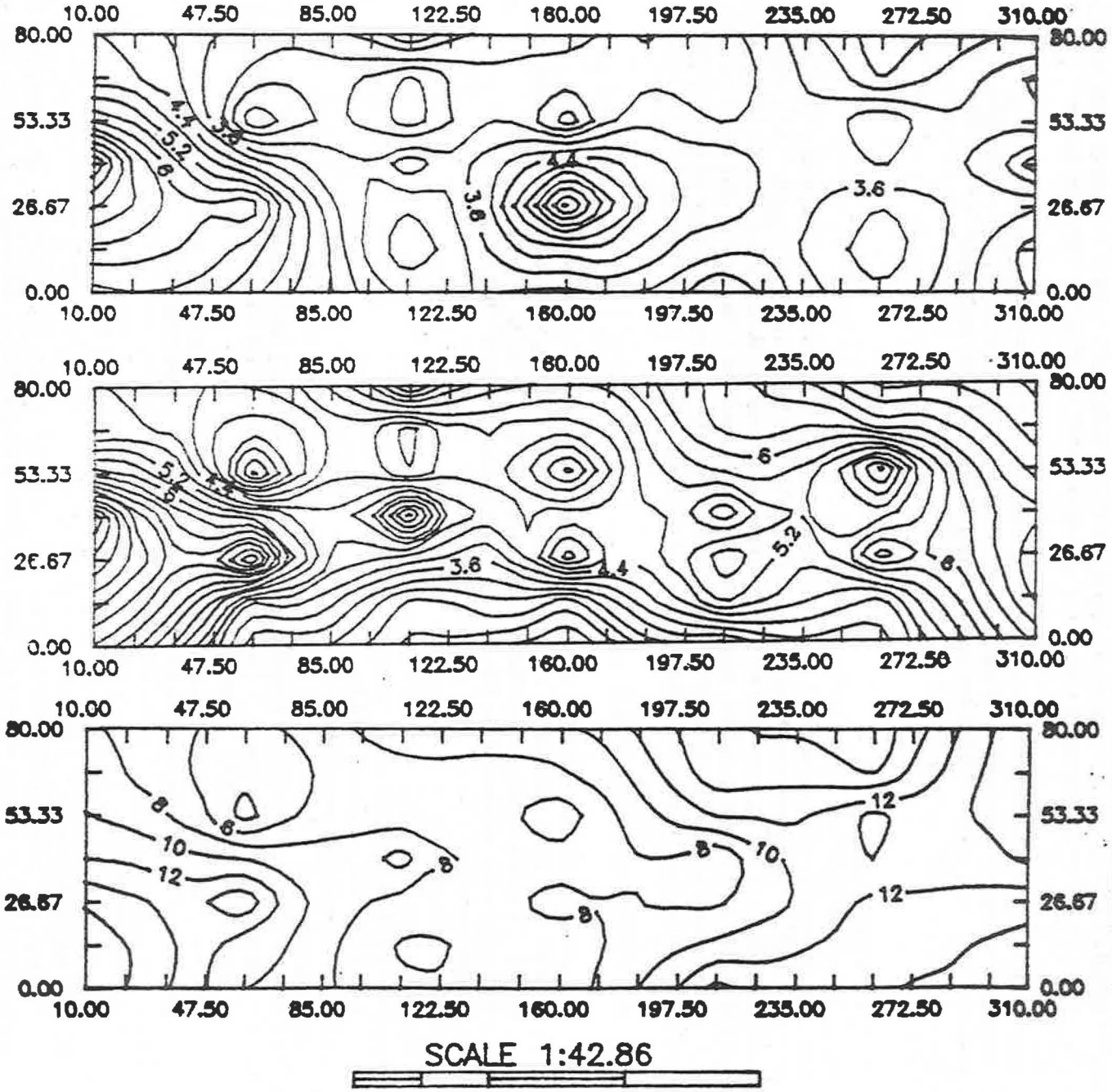

10.00
47.50
85.00
122.50
160.00
197.50
235.00
272.50
310.00
80.00
53.33
26.67
0.00
4.4
5.2
6
3.6
8
10
12
SCALE 1:42.86

FIG. 8

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

VALUTAZIONE DI ALCUNI PARAMETRI CHIMICI DEL SUOLO DETERMINATI SECONDO I METODI DI ANALISI S.I.S.S. ED UNICHIM

P.L. Genevini, C. Gigliotti, P. Vigano'
Istituto di Chimica Agraria - Via Celoria, 2 - Milano
Universita' degli Studi di Milano

1. PREMESSA

In questi ultimi anni la necessità di disporre di metodi unificati per l'analisi dei suoli si è fatta sempre più pressante. Questo per consentire un confronto fra i dati dei vari laboratori. A tale proposito sono stati determinati alcuni dei principali parametri chimici del suolo applicando i metodi d'analisi SISS ed UNICHIM ed i risultati ottenuti sono stati confrontati tra loro.

2. PARTE SPERIMENTALE

Il presente lavoro è stato effettuato nel 1986 su due suoli: uno acido ed uno basico, forniti all'Istituto dalla commissione UNICHIM "Fertilizzanti, Concimi, Correttivi del Suolo".
Sono stati determinati i seguenti parametri chimici:
- pH in H2O
- pH in KCl
- Carbonio organico
- Azoto totale
- Fosforo assimilabile
- Σ basi di scambio

secondo:
- S.I.S.S. "METODI NORMALIZZATI DI ANALISI DEL SUOLO" (1)
- MANUALE UNICHIM N. 145 "METODI DI ANALISI DEI TERRENI AGRARI, PARTE 1, METODI MANUALI" (2).

Tutte le determinazioni sono state replicate 5 volte ed i dati ottenuti sottoposti all'analisi della varianza.

3. RISULTATI

pH in H2O

I metodi UNICHIM rispetto ai metodi SISS prevedono un tempo di contatto, suolo-acqua, molto più lungo (una notte). I dati ottenuti per i due suoli sono risultati statisticamente significativi. Tuttavia una differenza tra medie di 0.202 unità pH, trovata per il suolo acido, non è analiticamente significativa lo è invece la differenza di 0.484, riscontrata per il suolo basico e dovuta principalmente alla modificazione dell'equilibrio carbonati/bicarbonati in seguito alla solubilizzazione della CO2, verificatasi durante la notte.

pH in KCl
Per il pH in KCl, determinato sul suolo acido, si sono ottenuti con entrambi i metodi risultati uguali.

Carbonio organico
Sia i metodi SISS che UNICHIM prevedono la determinazione del carbonio organico secondo Walkley e Black. Inoltre la SISS in alternativa all'impiego della difenilamina come indicatore suggerisce l'uso dell'o-fenantrolina senza aggiunta di H_3PO_4 rendendo piu' rapida e sicura la determinazione. Tuttavia va ricordato che in terreni particolarmente argillosi l'o-fenantrolina puo' essere assorbita dalle argille e come conseguenza il viraggio risultare meno chiaro. I dati ottenuti con l'impiego dei due indicatori non presentano differenze significative.

Azoto totale
I dati relativi all'azoto totale non presentano differenze significative. I due metodi infatti portano al medesimo risultato. Va sottolineato però che la determinazione dell'azoto secondo i metodi SISS è di più rapida e facile esecuzione in quanto non prevede l'interruzione dell'attacco per l'aggiunta dell'acqua ossigenata e la titolazione indiretta dell'ammoniaca formatasi. In compenso l'attacco UNICHIM consente successive determinazioni "in automatico".

Fosforo assimilabile
Per i terreni alcalini sia la SISS che l'UNICHIM riportano, con piccole differenze nella quantità dei reattivi, il metodo Olsen. Metodo che prevede l'uso del carbone, come decolorante, e poichè il carbone può contenere fosforo è necessario lavarlo più volte prima del suo impiego, operazione particolarmente lunga ed alienante. Per questo motivo è stata condotta una prova (5 repliche), sullo stesso terreno, senza aggiunta di carbone. I risultati ottenuti dalle tre prove non mostrano differenze significative.
Per i terreni acidi la SISS consiglia sempre il metodo Olsen, l'UNICHIM il metodo Bray. E' ovvio che l'impiego di estraenti diversi porta a risultati diversi. Infatti, per il terreno in esame, l'Olsen dà un contenuto medio in P di 31.20 ppm, il Bray di 90.05 ppm.

Capacità di scambio cationico
I valori relativi alla C.S.C., determinata utilizzando come estraente sodio acetato (UNICHIM), risultano più elevati rispetto a quelli ottenuti utilizzando bario cloruro (SISS). Questa notevole differenza, tra l'altro statisticamente significativa, è dovuta alle due metodiche impiegate, ma soprattutto al diverso catione usato per lo scambio. Inoltre il metodo al sodio acetato, particolarmente lungo e laborioso, può aumentare l'errore analitico. Infine non va dimenticata l'elevata diffusione del sodio nell'ambiente con la possibilità di inquinare i campioni.

Σ basi di scambio
Premesso che i metodi SISS utilizzano la stessa metodica e quindi lo stesso estraente per la determinazione della C.S.C. e delle basi di scambio (bario cloruro) mentre i metodi UNICHIM prevedono

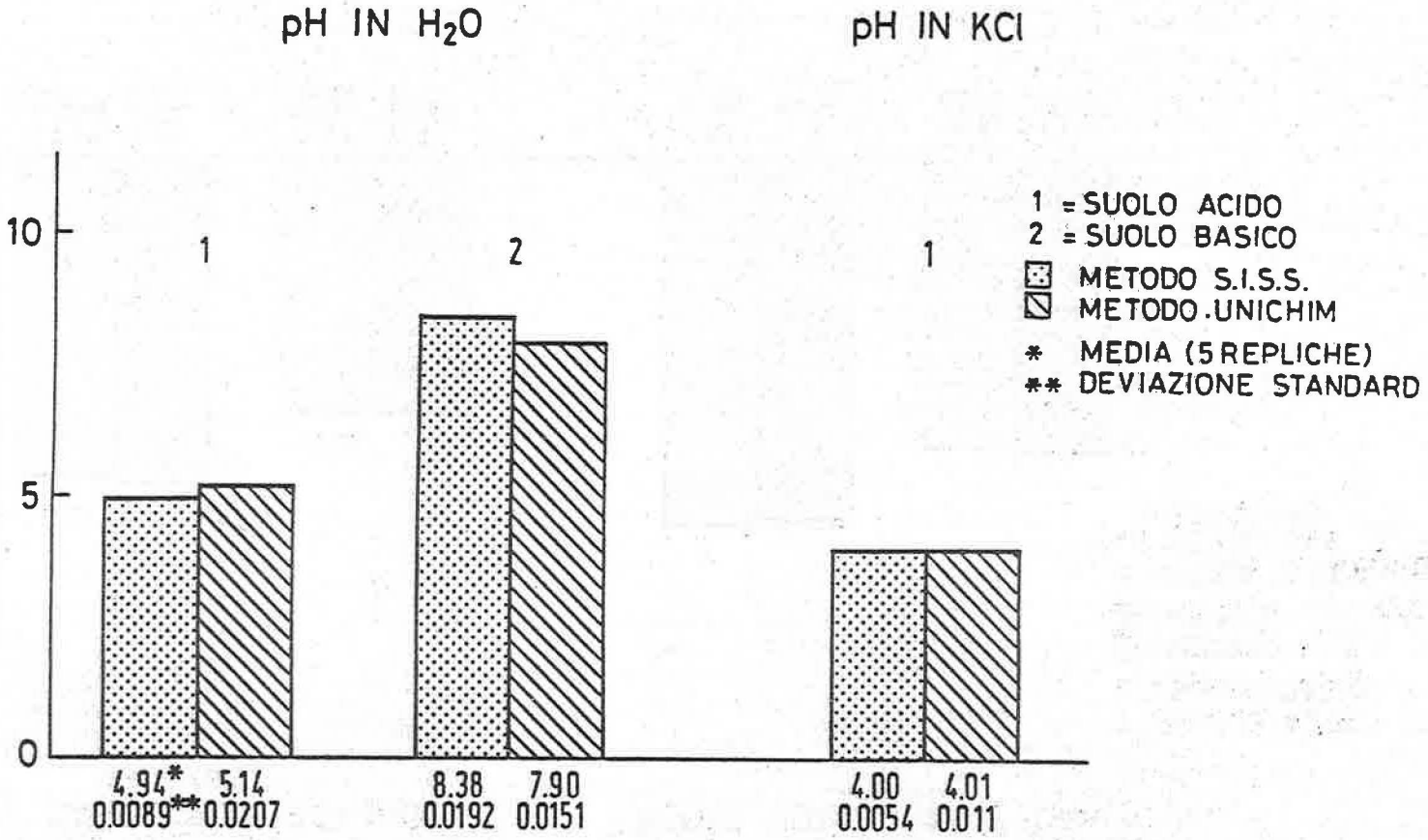
due metodi diversi con estraenti diversi; per la C.S.C. sodio acetato, per le basi bario cloruro (suoli basici) e ammonio acetato (suoli acidi), si e' avuta un'ottima rispondenza tra i valori della C.S.C. e la somma delle basi solo con il metodo SISS, non sono invece confrontabili i risultati ottenuti secondo l'UNICHIM.

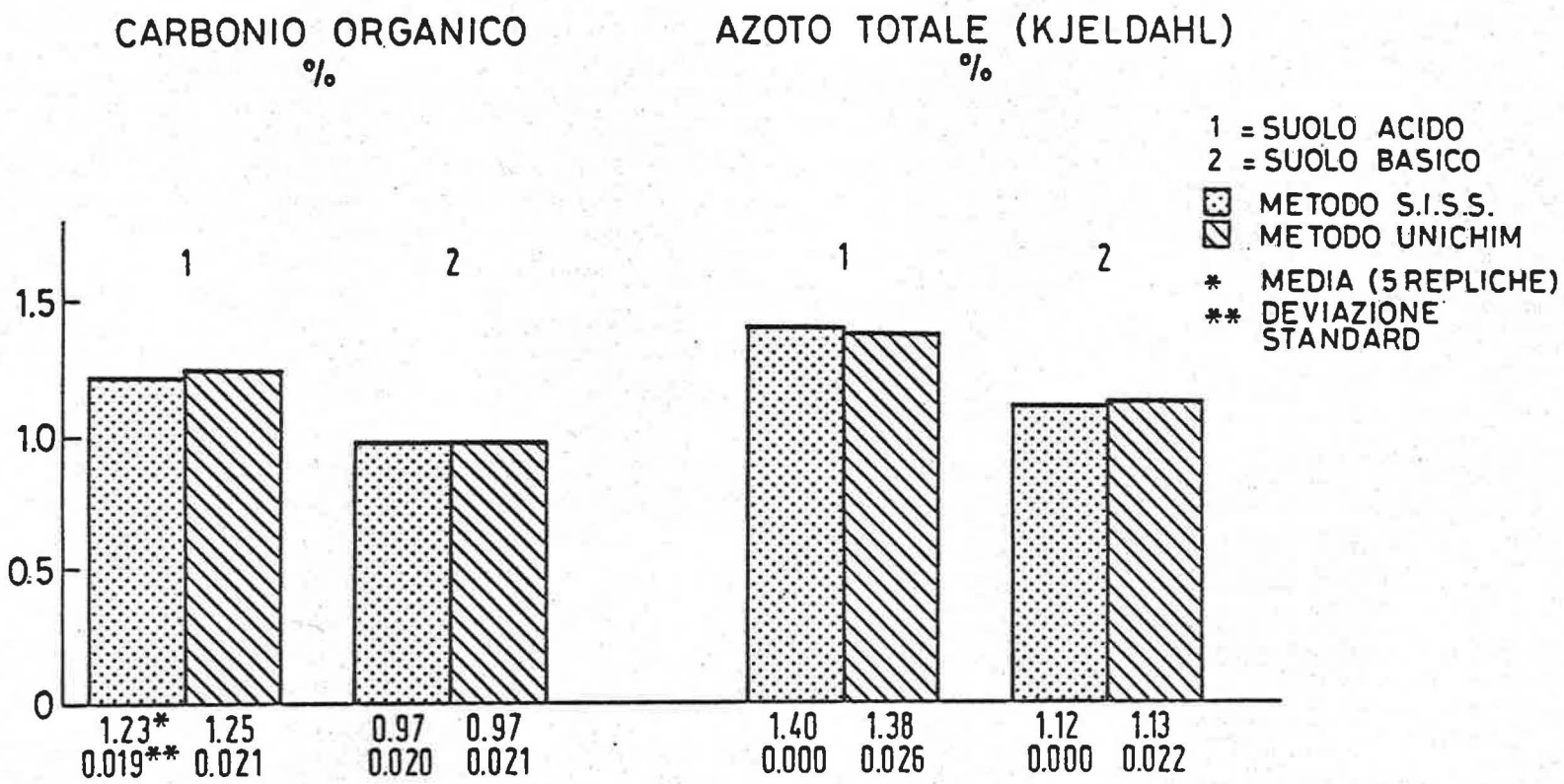
3. CONCLUSIONI

I dati ottenuti anche se preliminari e limitati a due soli terreni confermano la necessità di unificare le metodiche analitiche per facilitare il confronto tra i risultati di diversi laboratori. Tuttavia proprio per l'arbitrarietà legata alla scelta del metodo, è necessario affiancare ai dati prove di campo (taratura agronomica) che permettano di stabilire la soglia di insufficienza, sufficienza, buona disponibilità degli elementi nutritivi nelle diverse situazioni agropedoclimatiche.

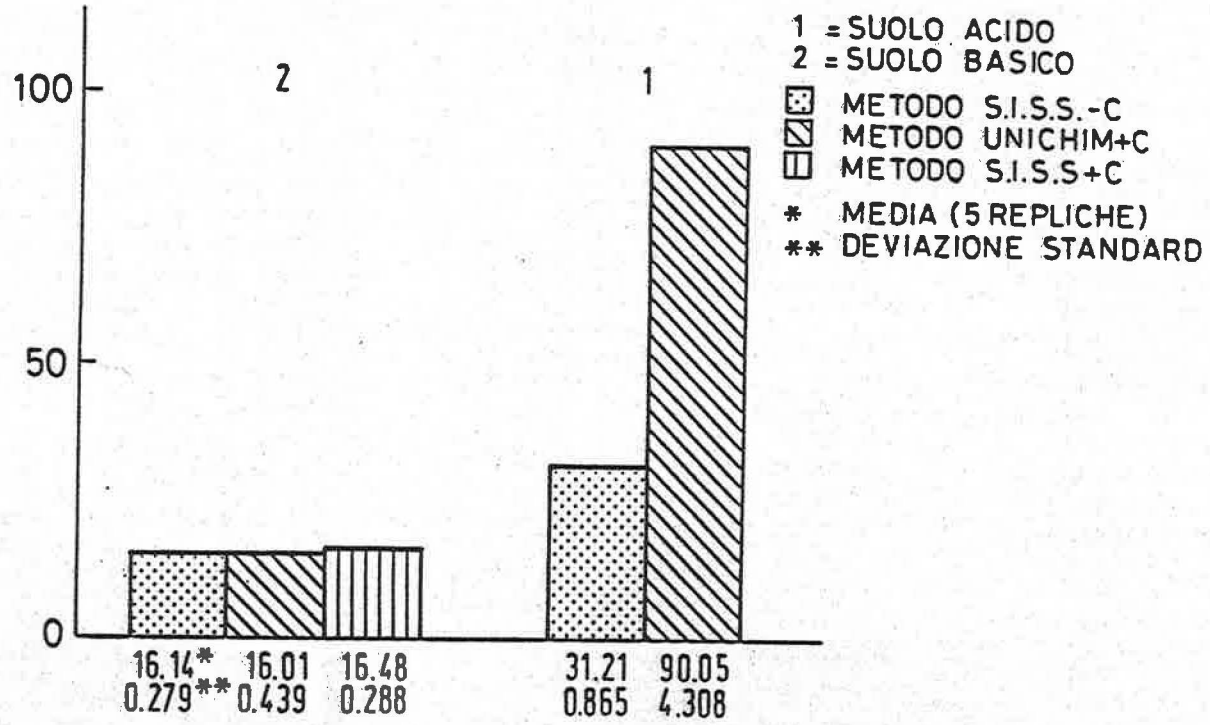
4. BIBLIOGRAFIA

(1) SOCIETA' ITALIANA DELLA SCIENZA DEL SUOLO: «Metodi normalizzati di analisi del suolo». Edagricole, Bologna, (1985).
(2) ASSOCIAZIONE PER L'UNIFICAZIONE NEL SETTORE DELL'INDUSTRIA CHIMICA: «Manuale N. 145 - Analisi dei terreni agrari, Parte I, Metodi manuali». UNICHIM, Milano (1985).


pH IN H_2O
pH IN KCl
10
5
0
1
2
1
1 = SUOLO ACIDO
2 = SUOLO BASICO
METODO S.I.S.S.
METODO.UNICHIM
* MEDIA (5 REPLICHE)
** DEVIAZIONE STANDARD
4.94*
0.0089**
5.14
0.0207
8.38
0.0192
7.90
0.0151
4.00
0.0054
4.01
0.011

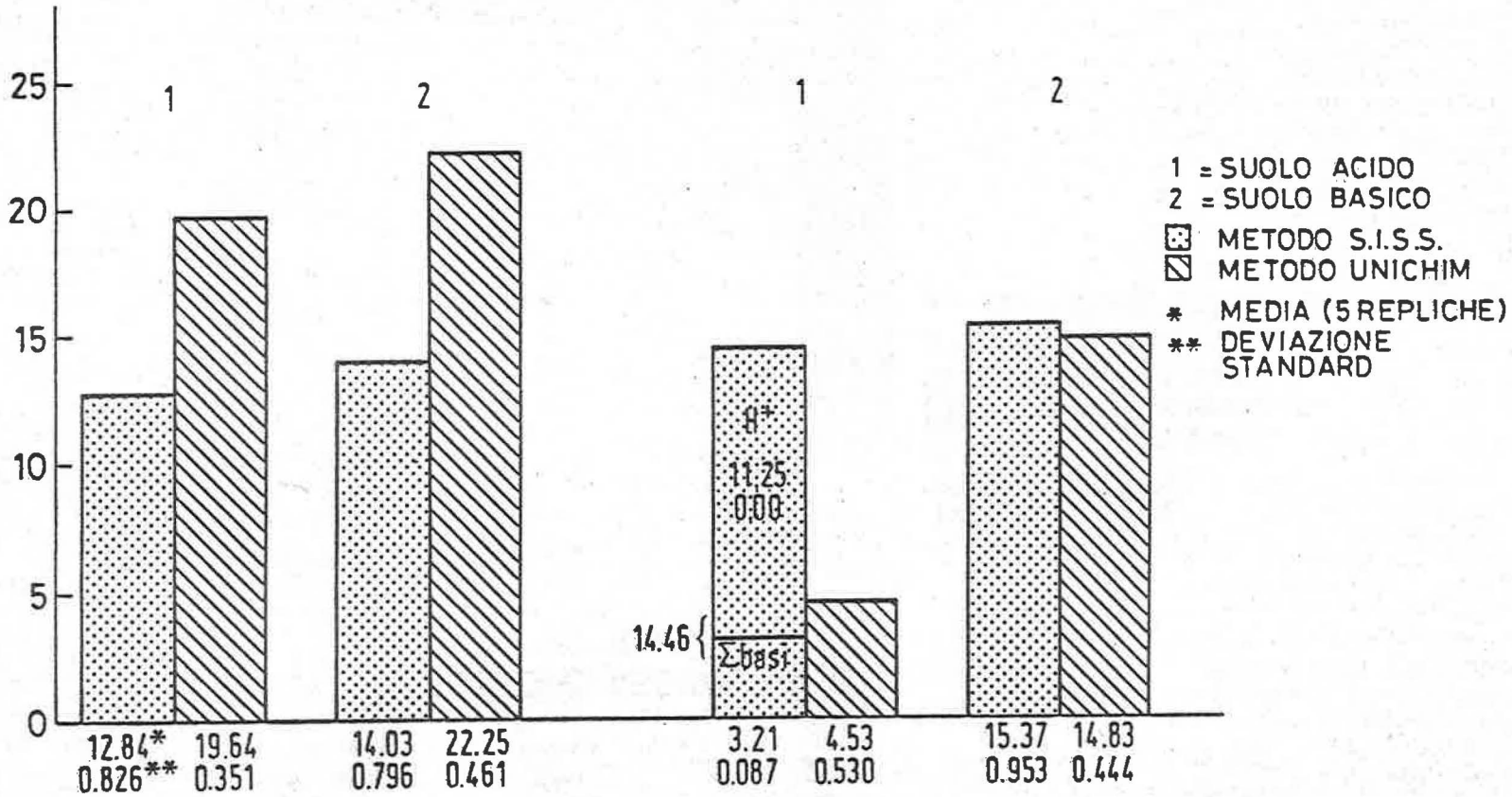

CARBONIO ORGANICO
%
AZOTO TOTALE (KJELDAHL)
%
1 = SUOLO ACIDO
2 = SUOLO BASICO
METODO S.I.S.S.
METODO UNICHIM
* MEDIA (5 REPLICHE)
** DEVIAZIONE STANDARD
1
2
1
2
1.5
1.0
0.5
0
1.23*
0.019**
1.25
0.021
0.97
0.020
0.97
0.021
1.40
0.000
1.38
0.026
1.12
0.000
1.13
0.022

FOSFORO ASSIMILABILE
ppm



CAPACITA' DI SCAMBIO CATIONICO meq/100gr

Σ BASI DI SCAMBIO E ACIDITA' COMPL. meq/100 gr



Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

IPOTESI DI GESTIONE DI CERTIFICATI ANALITICI DI TERRENI AGRARI:RECUPERO DELL'INFORMAZIONE E POSSIBILITA' APPLICATIVE

Amodeo P.(*),Zaccheo P.(**),Genevini P.L.(**)
(*) Associazione Provinciale Allevatori Milano
(**) Istituto di chimica agraria,Milano

Riassunto

Su un'ampia mole di dati analitici rilevati nella provincia di Milano, si é proceduto alla ricerca delle variabili maggiormente coinvolte nella identificazione di classi di terreni al fine di ottenere informazioni generalizzabili in termini territoriali.

Summary

Over a wide amount of analytical data obtained in the province of Milan-Italy, a study on the main variables involved in the identification of soil classes was carried out, in order to get information appliable on a territorial basis.

Introduzione

L'APA (Associazione Provinciale Allevatori) di Milano, assiste, nell'ambito della provincia, 320 aziende zootecniche aderenti al piano di lotta all'ipofertilità bovina e mortalità neonatale dei vitelli.In tale contesto, al fine della ottimizzazione del piano colturale (foraggi,insilati,cereali,etc,),l'analisi del terreno riveste particolare importanza;tuttavia, il certificato analitico assume,seppur erroneamente,significato contingente.L'attività relativa agli ultimi due anni ha consentito l'archiviazione di 520 certificati d'analisi tutti provenienti da terreni situati nella provincia e distribuiti casualmente.
Lo scopo della ricerca é quello di verificare la possibiltà di ottimizzare una serie di dati discontinui nel tempo e nello spazio al fine di poter ottenere informazioni generalizzabili in termini territoriali.
Nell'ambito di un'attività di servizi che non ha come scopo primario la conoscenza della risorsa suolo, il sistema ipotizzato, consistente nell'aggregazione di campioni simili e nella caratterizzazione degli elementi di diversità, consente, in sostanza,

di non perdere l'informazione ma, anzi,di diminuire le necessità conoscitive con il prosieguo di tale tipo di attività. Il grado di informazione si potrà ritenere definitivo quando verranno soddisfatte le seguenti condizioni:

1) sufficiente "copertura" del territorio
2) assenza di variazione del numero e delle caratteristiche delle unità omogenee, nonostante il continuo ingresso di nuove informazioni.

Materiali e metodi

Ogni campione di terreno era caratterizzato dai seguenti parametri: pH, sabbia, limo, argilla,S.O., CSC, N tot, P ass., K, Ca e Mg scamb. I metodi di analisi seguiti sono quelli dell' UNICHIM. Ogni variabile é stata trasformata al fine di verificare la possibilità di una sua distribuzione normale e quindi normalizzata (media = 0) per poter procedere alle analisi di aggregazione. Su ogni parametro é stata realizzata una valutazione statistico descrittiva, l'analisi della varianza contro le zone di provenienza, il processo di cluster analysis.

Risultati

In Tab.:1 sono riassunti i risultati dell'analisi statistico descrittiva. In termini probabilistici, i campioni oggetto dell'indagine si caratterizzano per una tessitura sabbiosa tendente al franco, un pH subacido e modesti capacità di scambio, azoto e sostanza organica; il contenuto in P ass. appare scarso. Il contenuto in K e Mg risulta più che sufficiente mentre la concentrazione del Calcio, benché inferiore alla norma, risulta congrua con il valore del pH.
Si é poi proceduto all'analisi per gruppi (cluster analysis) nel tentativo di individuare le zone di cui si é detto nell'introduzione. La cluster analysis cerca le correlazioni possibili tra i vari parametri, individua quelli maggiormente responsabili della reale differenziazione dei campioni (discriminanti) e fornisce dei gruppi omogenei sulla base, appunto, di questi parametri principali.
Per l'analisi si é ritenuto idoneo un numero di 20 cluster,valore, ovviamente, scelto arbitrariamente.
Di questi, solo 9 erano rappresentativi e le medie dei parametri che li caratterizzano sono rappresentate in Tab.: 2.

Conclusioni

Il modello di gestione proposto consente, com'era nelle attese, di sintetizzare, analizzandola, una grossa mole di dati analitici. Benché in modo ancora epidermico, in forza della scarsa numerosi=

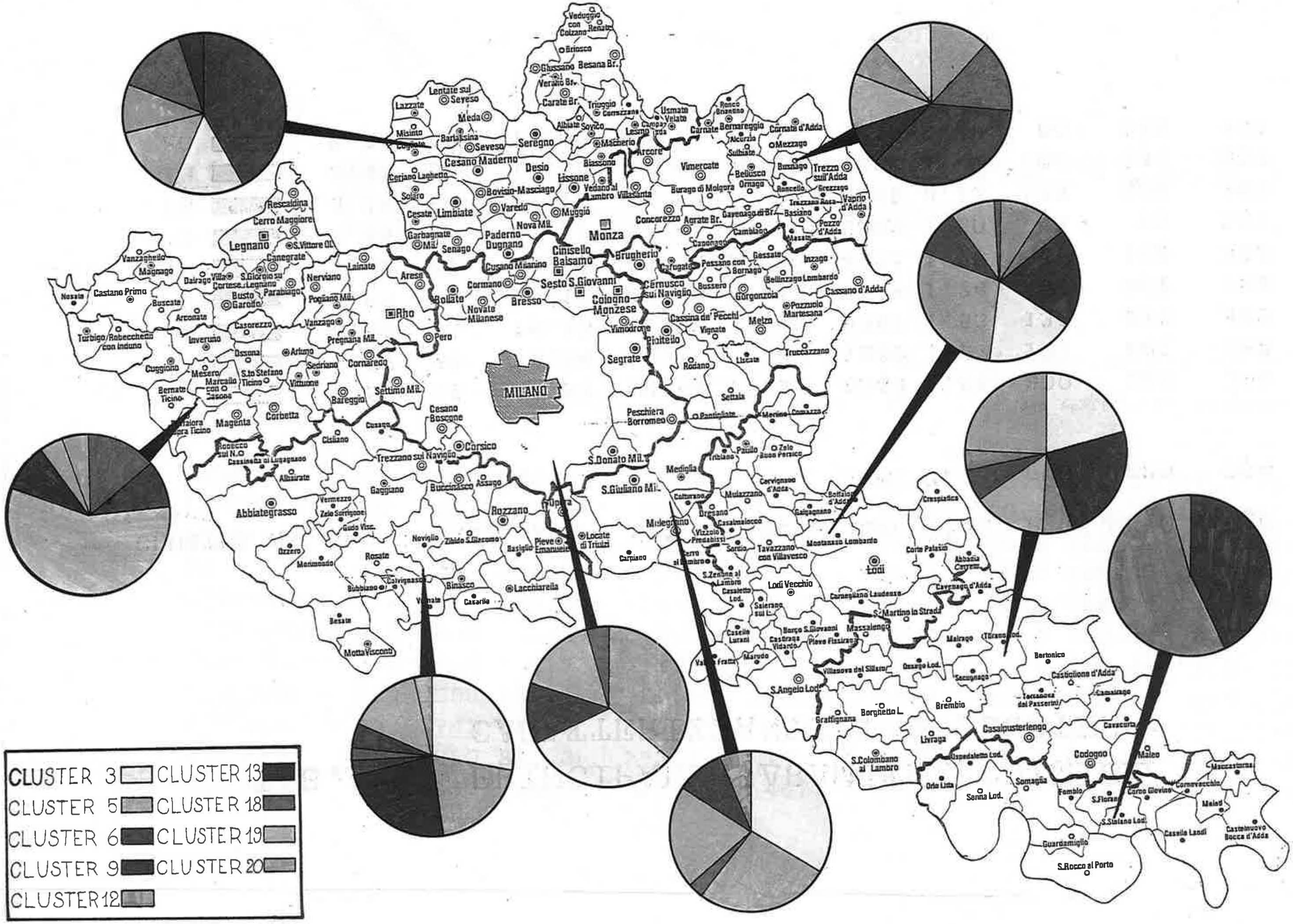
tà dei campioni, é stato comunque possibile individuare, nelle diverse zone, la natura prevalente dei substrati; é evidente che disponendo di ben più numerosi reperti la conoscenza dei substrati sarebbe coincidente con la realtà.
Rimane pertanto valido il metodo suggerito, mentre i risultati esposti sono solo preliminari ed hanno valore solo in termini esemplificativi.

TAB.1: ANALISI STATISTICO DESCRITTIVA DEI SUOLI DELLA PROVINCIA DI MILANO

	MIN	MAX	MEDIA	MEDIANA	CLASSE MAX FREQUENZA	% TOT	SUCCESSIVE CLASSI DI MAX FREQUENZA E LORO PERCENTUALE SUL TOTALE	
SABBIA%	28	92	68.0	70.0	71.5	15.4	65.5 (13.3)	77.5 (11.4)
LIMO%	TR	38	19.2	18.0	17.1	27.7	20.9 (24,6)	18.3 (16.4)
ARGILLA%	TR	40	12.6	12.0	14.0	28.8	10.0 (28.0)	18.0 (14.4)
PH	4.7	8.2	6.4	6.3	6.3	26.1	6.0 (20.5)	6.7 (16.3)
CSC meq/100gr	2.0	37	11.8	10.6	7.2	32.7	10.7 (26.7)	14.2 (15.7)
SOST.ORG.%	0.2	6.5	2.4	2.2	1.7	32.3	2.3 (30.2)	2.9 (16.7)
Ntot %	0.1	4.8	1.7	1.5	1.3	41.1	1.7 (29.4)	2.2 (13.3)
P_2O_5 ppm	7.0	593	119.1	89.0	36.0	33.3	94.0 (29.8)	182 (17.1)
K_2O ppm	20	742	141.0	122.0	125	36.4	55.0 (10.6)	195 (18.5)
MgO ppm	49	850	281.3	253.0	169	26.2	249 (21.6)	329 (17.5)
CaO ppm	217	5967	2497	2172	1467	17.3	1967 (15.6)	2467 (14.6)

TAB.2: PRINCIPALI PARAMETRI CHIMICI CARATTERIZZANTI I 9 CLUSTER

CLUSTER N°		PH	SA%	AR%	LI%	C.S.C	CaO ppm	Ntot. %	P_2O_5 ppm	K_2O ppm	MgO ppm
3		6.27	74	9.57	16.54	11.58	2368	1.53	200	196	299
5		6.07	75	9.54	15.31	6.83	1262	1.27	121	101	162
6		6.42	60	16,50	23.26	17.46	3797	1.63	130	218	483
9		5.55	59	17.13	23.38	7.38	803	1.74	169	217	105
12		7.82	47	25.33	26.86	19.30	4674	1.70	52	149	422
13		6.46	63	14.57	21.51	12.66	2807	1.60	43	93	302
18		6.34	60	17.75	22.13	12.35	2462	2.13	115	195	268
19		6.21	59	15.08	25.08	9.49	1896	1.47	103	134	238
20		7.21	67	12,00	20.17	20.41	4848	2.73	80	142	482


MILANO
Monza
Legnano
Rho
Lodi
Sesto S.Giovanni
Cinisello Balsamo
Cologno Monzese
Seregno
Desio
Lissone
Cesano Maderno
Limbiate
Paderno Dugnano
Bollate
Bresso
Cormano
Novate Milanese
Cernusco sul Naviglio
Brugherio
Vimercate
Concorezzo
Segrate
Pioltello
Peschiera Borromeo
S.Donato Mil.
S.Giuliano Mil.
Melegnano
Rozzano
Corsico
Cesano Boscone
Trezzano sul Naviglio
Buccinasco
Assago
Abbiategrasso
Magenta
Corbetta
Nerviano
Parabiago
Canegrate
Cerro Maggiore
Rescaldina
Castano Primo
Turbigo
Cuggiono
Inveruno
Arconate
Buscate
Dairago
Vanzaghello
Magnago
Nosate
Lainate
Arese
Pero
Pregnana Mil.
Vanzago
Pogliano Mil.
Cornaredo
Settimo Mil.
Bareggio
Sedriano
Vittuone
Arluno
Casorezzo
Ossona
Cusago
Cisliano
Albairate
Gaggiano
Vermezzo
Zelo Surrigone
Gudo Visc.
Ozzero
Morimondo
Rosate
Noviglio
Zibido S.Giacomo
Basiglio
Pieve Emanuele
Locate di Triulzi
Carpiano
Binasco
Casarile
Lacchiarella
Vernate
Calvignasco
Bubbiano
Besate
Motta Visconti
Opera
Mediglia
Tribiano
Paullo
Zelo Buon Persico
Settala
Rodano
Liscate
Vignate
Melzo
Truccazzano
Pozzuolo Martesana
Gorgonzola
Cassina de' Pecchi
Bussero
Pessano con Bornago
Gessate
Inzago
Cassano d'Adda
Bellinzago Lombardo
Trezzo sull'Adda
Vaprio d'Adda
Busnago
Bellusco
Ornago
Carnate
Usmate Velate
Arcore
Lesmo
Macherio
Biassono
Vedano al Lambro
Villasanta
Muggiò
Nova Mil.
Varedo
Bovisio-Masciago
Seveso
Meda
Barlassina
Lentate sul Seveso
Lazzate
Misinto
Cogliate
Ceriano Laghetto
Solaro
Cesate
Garbagnate Mil.
Senago
Cusano Milanino
Carate Br.
Giussano
Besana Br.
Briosco
Veduggio con Colzano
Renate
Verano Br.
Triuggio
Albiate
Sovico
Lodi Vecchio
Tavazzano con Villavesco
Montanaso Lombardo
Casalpusterlengo
Codogno
S.Angelo Lod.
Borghetto L.
Graffignana
S.Colombano al Lambro
Livraga
Brembio
Secugnago
Mairago
Turano Lod.
Bertonico
Castiglione d'Adda
Maleo
Cavacurta
Camairago
Terranova dei Passerini
Ospedaletto Lod.
Orio Litta
Senna Lod.
Somaglia
Fombio
Guardamiglio
S.Rocco al Porto
S.Fiorano
S.Stefano Lod.
Corno Giovine
Cornovecchio
Meleti
Maccastorna
Caselle Landi
Castelnuovo Bocca d'Adda
Crespiatica
Corte Palasio
Abbadia Cerreto
Cavenago d'Adda
S.Martino in Strada
Massalengo
Cornegliano Laudense
Pieve Fissiraga
Borgo S.Giovanni
Villanova del Sillaro
Ossago Lod.
CLUSTER 3
CLUSTER 5
CLUSTER 6
CLUSTER 9
CLUSTER 12
CLUSTER 13
CLUSTER 18
CLUSTER 19
CLUSTER 20

A P P E N D I C E

Verona 1988

GIORNATE DI STUDIO
SULL'ANALISI DEL SUOLO

RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' DEI METODI NORMALIZZATI UNICHIM PER LE ANALISI DEI TERRENI AGRARI

P.L. Genevini - Istituto di Chimica Agraria Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Milano.
M. Manstretta - EniChem Agricoltura (Milano)
L. Metelka - Dipartimento di Scienze Statistiche, Università degli Studi di Padova
A. Barbera - Centro Sviluppo Prodotti Processi, AGRIMONT

RIASSUNTO: La Commissione UNICHIM "Fertilizzanti, Correttivi del Suolo, Analisi Terreni e Vegetali" Gruppo di Lavoro "Analisi dei Terreni e dei Vegetali" ha proceduto, alla normalizzazione di alcuni metodi "manuali" ed "automatici" di determinazione di parametri fisici, chimici e chimico-fisici dei terreni agrari da utilizzare nei laboratori di routine.
In questo lavoro si presentano le stime di "Ripetibilità" e "Riproducibilità" di detti metodi normalizzati.
Da un punto di vista agronomico i metodi normalizzati sembrano, nel comlesso, adatti per i computi dei successivi piani di concimazione.

SUMMARY: The UNICHIM Commision "Fertilizzanti, Correttivi del Suolo, Analisi Terreni e Vegetali" Working Group "Analisi dei Terreni e dei Vegetali" has normed some manual and automatic methods of measurement of physical, chemical and chemical-physical parameters for cultivated soils for routine laboratories.
In this paper estimates of the "Repeatibility" and "Reproducibility" characteristics of the normed methods are presented.
From an agronomical point of view the normed methods seem to be usefull to suggest fertilization programs.

1. PREMESSA

A causa della sempre più ampia diffusione di laboratori che eseguono analisi routinarie di terreni ai fini dell'ottimizzazione della fertilità, risulta sempre più pressante l'esigenza di adottare metodi analitici normalizzati caratterizzati da semplicita' ed economicita' di impiego e dalla possibilità di disporre di strumenti di misurazione semplici.

A tal fine nel periodo 1985 - 1987 nell'ambito dell'attività

svolta dalla Commissione UNICHIM "Fertilizzanti, Concimi, Correttivi del Suolo." Gruppo di lavoro "Analisi dei Terreni e dei Vegetali." per la normalizzazione dei metodi di analisi dei terreni e dei vegetali, si è proceduto allo studio sistematico delle caratteristiche di Ripetibilità e di Riproducibilità di alcuni metodi "manuali" ed "automatici" di determinazione dei parametri chimici, fisici e chimico-fisici dei terreni agrari.

La definizione dei metodi d'analisi normalizzati è avvenuta mediante più serie di prove d'analisi interlaboratorio cui hanno partecipato i laboratori analitici dei seguenti enti:

- IST. DI CHIMICA AGRARIA - UNIV. DI BOLOGNA.

- IST. DI CHIMICA AGRARIA - UNIV. DI MILANO.

- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA' - ROMA.

- ENICHEM AGRICOLTURA S.p.A. Lab. di Ravenna.

- AGRIMONT S.p.A. Lab. di Portomarghera.

- FABBRICA COOPERATIVA PERFOSFATI "CEREA" .

- COOPERATIVA S.C.A.M..

Una copia del protocollo "normalizzato" delle analisi e misurazioni oggetto dell'esame, unitamente ad eventuali altre istruzioni scritte sul modo di condurre le misurazioni programmate, ed i necessari campioni di terreno da analizzare sono stati forniti ad ogni laboratorio partecipante al circuito di analisi interlaboratorio.

Si è curato che i terreni da analizzare fossero rappresentativi di quelli su cui i metodi di analisi e misurazione avrebbero trovato impiego. I campioni di terreno, previo opportuno trattamento di omogenizzazione, sono stati distribuiti ai laboratori partecipanti alle prove d'analisi. Ogni laboratorio, sui materiali ricevuti, ha proceduto ad un numero concordato (da 3 a 5) di determinazioni della misurazione considerata (ripetizioni).

Oggetto di studio è stata la procedura di determinazione di parametri tipici atti a caratterizzare la fertilità dei terreni agrari e quindi utilizzabili per esprimere consigli circa il trattamento agronomico dei terreni.
Nel seguito sono esposte alcune informazioni riassuntive dei risultati ottenuti in queste prove interlaboratorio ed utili per conoscere le caratteristiche statistiche dei metodi di misurazione "normalizzati" come strumenti adatti a certificare il valore del parametro chimico, fisico e chimico-fisico relativo al terreno analizzato.

Oggetto di considerazione sono stati, per ora, i metodi per la determinazione dei parametri chimici, fisici e chimico-fisici; la complessa problematica legata alla "taratura agro-

nomica" dei metodi d'analisi non è stata considerata.
L'attenzione è stata rivolta prevalentemente a determinare le caratteristiche di Ripetibilità e Riproducibilità dei metodi d'analisi "manuali" ed "automatici" esaminati.

Per quanto riguarda le considerazioni statistiche generali e gli algoritmi utilizzati si rimanda al paragrafo 3.
Per una descrizione accurata dei Metodi Normalizzati oggetto dello studio si rimanda al Manuale UNICHIM N. 145 "METODI DI ANALISI DEI TERRENI AGRARI, PARTE 1, METODI MANUALI e PARTE 2, METODI AUTOMATICI."

Per quanto riguarda le affermazioni probabilistiche fatte in seguito, va avvisato che esse sono sempre basate su di una assunzione di fondo, e cioè che le misurazioni siano distribuite in modo Gaussiano (normale). Nelle elaborazioni fatte si è controllato che i dati fossero distribuiti normalmente. Qualora le elaborazioni qui esposte fossero eseguite su dati non distribuiti normalmente, le probabilità associate con le affermazioni (incertezza, ripetibilità, riproducibilità) possono essere diverse.

Il lettore è avvisato di non interpretare le probabilità in modo troppo letterale, in quanto le elaborazioni fatte non sono insensibili all'assunzione di normalità delle distribuzioni dei valori misurati.

2. LA RIPETIBILITA' E LA RIPRODUCIBILITA' DELLE MISURAZIONI DI CARATTERE CHIMICO, FISICO E CHIMICO-FISICO.

In genere, analisi fatte in condizioni e su materiali presumibilmente omogenei non originano dati identici. Ciò, normalmente, è dovuto al fatto di non riuscire a controllare completamente i fattori che possono influenzare i risultati delle analisi, e rende opportuno considerare la presenza di questi inevitabili componenti di disturbo casuale, quando si deve dare un'interpretazione pratica ai dati. In modo non prevedibile la variabilità dei dati può, volta per volta, essere collegata a qualcuna di molteplici cause quali:

- il comportamento dell'analista che procede alle misurazioni;
- gli strumenti e le attrezzature utilizzate per le misurazioni;
- il procedimento di taratura degli strumenti;
- l'ambiente in cui la misurazione viene effettuata (temperatura, umidità, inquinamento atmosferico);
- altri simili fattori.

Pur essendo del tutto naturale, ed accettabile, che accurate

misure dello stesso parametro caratterizzante un terreno, diano valori tra di loro diversi, è opportuno identificare quali siano le caratteristiche "normali" di dette diversità anche per poter valutare quando le differenze osservate siano indizi palesi di fatti "anormali" determinanti inconvenienti nei procedimenti di misurazione quali, per esempio, eterogeneità del materiale esaminato o errori "grossolani" commessi nel procedimento di misurazione.

L'idea principale, che costituisce la base delle successive osservazioni qui esposte, è che quando più laboratori utilizzano procedure "normalizzate" di analisi, devono trovare risultati equivalenti per quanto riguarda sia gli aspetti sistematici, sia gli aspetti casuali delle differenze rilevate nei dati raccolti.

In tale contesto, la Ripetibilità e la Riproducibilità di un procedimento di misurazione, sono due parametri che descrivono la precisione di un metodo di misura sufficientemente "normalizzato" in due differenti circostanze di effettuazione del procedimento di misurazione.

Quando si effettuano misure di laboratorio su materiale identico, col termine Ripetibilità s'intende una valutazione della variabilità riscontrabile in misurazioni effettuate su detto materiale in un breve intervallo di tempo nello stesso laboratorio in condizioni operative costanti: nel senso che, durante il tempo in cui le misurazioni sono effettuate, fattori quali: operatore, strumenti e attrezzature impiegate, taratura degli strumenti, situazioni ambientali, ecc. rimangono costanti.

Col termine Riproducibilità si indica invece la variabilità riscontrabile fra misurazioni effettuate sullo stesso materiale ma in condizioni operative diverse: nel senso che le misure possono essere fatte in laboratori differenti, da operatori diversi, con attrezzature diverse ed in differenti condizioni ambientali.

Le informazioni relative alla Ripetibilità ed alla Riproducibilità dei metodi "manuali " e "automatici" sono riportate rispettivamente in Tabella 1 e Tabella 2.

In particolare, in quest'ultima tabella, sono state considerate le differenze tra le misurazioni osservate quando terreni agrari identici sono stati analizzati contemporaneamente coi metodi manuali e coi metodi automatizzati. Le inevitabili differenze osservabili effettuando misurazioni accurate con i due metodi, sono state esaminate, oltre che nel loro aspetto prettamente analitico, soprattutto per quello agronomico, per la possibilità, cioè, di originare giudizi agronomici differenti.

3. MODELLO DI INTERPRETAZIONE STATISTICA DEI DATI RACCOLTI

Per definire numericamente le misure di Ripetibilità e Riproducibilità dei dati raccolti nelle prove di analisi interlaboratorio conviene fare riferimento al seguente modello di interpretazione statistica :

$$Y_{ji} = m + l_j + e_{ji} \qquad (1)$$

in cui Y_{ji} indica la i.ma misurazione fatta presso lo j.mo laboratorio. Con m si indica un valore costante tipico del parametro del terreno analizzato col particolare metodo di misurazione oggetto di considerazione; questo valore è il livello di base della misurazione inteso come valore medio (abitualmente sconosciuto) di moltissime replicazioni "virtuali" del procedimento di misura; in qualche caso " m " puo' essere assunto corrispondente al valore effettivo " μ " del parametro misurato; ciò non è però necessariamente vero. Quando esista una differenza ($m - \mu \neq o$), tale differenza va intesa come distorsione (bias) del metodo di misurazione.

In molte situazioni pratiche il "livello vero" è sconosciuto e non è definibile come entità astratta, indipendente dalle analisi che vengono fatte. Quando il valore μ è noto, lo studio della precisione (Ripetibilità e Riproducibilità) di un procedimento di misurazione è utile per verificare la eventuale distorsione del procedimento di misurazione.

j è un indicatore del laboratorio partecipante alle prove di misurazione; ($j = 1, 2, \ldots, n$); nel nostro caso esso può assumere valori da 2 a 7.

i è un indicatore del numero di ordine dell'analisi fatta presso il laboratorio j ; $i = 1, 2, \ldots, n_j$; nel nostro caso esso può assumere valori da 1 a 5 essendo state eseguite al massimo 5 ripetizioni per ogni determinazione.

l_j è l'effetto casuale presente nelle misurazioni fatte presso lo jmo laboratorio ; è collegato alle particolari condizioni esistenti presso detto laboratorio. l_j

è un termine considerato costante durante qualsiasi serie di misurazioni effettuate in condizioni di Ripetibilità (costante nella condizione di ripetibilità presente presso lo jmo laboratorio). In condizioni di Riproducibilità (misurazioni effettuate in condizioni diverse) le l_j determinatesi, per esempio, presso i vari laboratori partecipanti alle prove interlaboratorio, sono considerate come determinazioni di una variabile casuale avente media nulla e varianza

$$\sigma_L^2 = \text{var } l_j$$

che, sulla base dei dati disponibili, può essere stima-

ta con s_L^2 , stimatore di σ_L^2 , definito nel modo seguente:

$$s_L^2 = \left\{ \left[\frac{\sum_{j=1}^{n} (\bar{Y}_{j\cdot} - \bar{Y}_{\cdot\cdot})^2 \cdot n_j}{(n-1)} \right] - s_R^2 \right\} \left\{ \frac{(n-1) \sum_{j=1}^{n} n_j}{(\sum_{j=1}^{n} n_j)^2 - \sum_{j=1}^{n} n_j^2} \right\} \qquad (2)$$

in cui:

$$\bar{Y}_{j\cdot} = \frac{1}{n_j} \sum_{i=1}^{n_j} Y_{ji}$$

$$Y_{\cdot\cdot} = \frac{1}{\sum_{j=1}^{n} n_j} \sum_{j=1}^{n} \sum_{i=1}^{n_j} Y_{ji}$$

ed s_R^2 é definito più avanti (4).

e_{ji} è l'effetto casuale presente nella i.ma misura fatta presso lo j.mo laboratorio e che risulta impossibile, o non conveniente, eliminare; e_{ji} rappresenta la componente casuale presente in ogni singola analisi ed abitualmente inevitabile quando le misurazioni siano fatte con precisione elevata (esprimendo con accuratezza quanto leggibile sugli strumenti). La varianza σ_{Ej}^2 , o meglio la sua stima s_{Ej}^2 , è il parametro indicatore della variabilità delle misure fatte (in condizioni di ripetibilità) presso lo j.mo laboratorio. Detta varianza può essere stimata con:

$$s_{Ej}^2 = \frac{1}{(n_j - 1)} \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ji} - \bar{Y}_{j\cdot})^2 \qquad (3)$$

E' possibile che in laboratori diversi esistano diverse varianze σ_{Ej}^2 a causa delle diverse condizioni operative (abitudine degli operatori a seguire norme standardizzate, qualità delle strumentazioni, variabilità ambientale, ecc.). Quando ciò sia vero, sono opportune alcune avvertenze particolari nell'interpretazione dei dati raccolti.

In genere si riscontra che, quando un metodo d'analisi è correttamente normalizzato e le capacità operative dei vari laboratori non sono molto eterogenee, le differenze tra le varianze σ_{Ej}^2 dei vari laboratori sono tanto modeste da giustificare lo stabilire un valore, comune a tutti i laboratori, pari alla media delle varianze delle misurazioni effettuate entro i laboratori partecipanti alle prove d'analisi interlaboratorio. Questa varianza media, σ_R^2 , assumibile come varianza delle misure fatte in condizioni di ripetibilità, può essere stimata con:

$$s_R^2 = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^{n} \frac{\sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ji} - Y_{j\cdot})^2}{(n_j - 1)} \qquad (4)$$

La radice quadrata di s_R^2 può essere assunta come stima della variabilità esistente tra singole misurazioni "replicate" entro i singoli loboratori partecipanti alle prove interlaboratorio.

Ulteriori assunzioni caratterizzanti il modello sono:

$$\text{media}_j \; l_j = 0$$

$$\text{media}_i \; e_{ji} = 0$$

$$\text{covarianza}_{j,i}(l_j, e_{ji}) = 0$$

Se si definisce la Ripetibilità di un procedimento di misura con:

$$R_{(1-\alpha)} = t_{f,(1-\alpha)} \sqrt{2\,\sigma_R^2} \qquad (5)$$

in cui $t_{f,(1-\alpha)}$ è un coefficiente il cui valore dipende dal numero di dati (f) disponibili per stimare il valore di σ_R^2 ed $(1 - \alpha)$ ha valore positivo inferiore ad 1 ed esprime il livello di confidenza che si desidera, abbiano le affermazioni che verranno fatte .

La "Ripetibilità " del procedimento di misurazione può essere stimata con:

$$R^*_{(1-\alpha)} = t_{f,(1-\alpha)} \sqrt{2\,s_R^2} \qquad (6)$$

In sostanza $R^*_{(1-\alpha)}$ assume il significato di valore di soglia che, con probabilità $(1 - \alpha)$, sarà superiore al valore assoluto della differenza tra due misurazioni fatte in condizione di ripetibilità.

I valori di $R^*_{(1-\alpha)}$ riportati in tabella 1 e 2 sono stati calcolati ponendo $t_{f,(1-\alpha)} = 2$; tale valore è in pratica soddisfacente quando $\alpha = 0.05$, il numero di analisi utili per stimare σ_R^2 non è estremamente modesto ed inoltre è accettabile l'assunzione che la distribuzione dei valori misurati sia Gaussiana (normale).

Un parametro utile per caratterizzare la distribuzione di

singole misure fatte in condizioni diverse (condizioni di riproducibilità) è definibile con:

$$I^2 = \sigma_L^2 + \sigma_R^2$$

e stimabile con:

$$I^{*2} = s_L^2 + s_R^2$$

I^{*2} può essere indicato come varianza di Riproducibilità e può essere utilizzata per determinare il valore :

$$L^* = t_{f,(1-\alpha)} \cdot I^* \cdot \sqrt{2} \qquad (7)$$

ove f è, al solito, il numero di osservazioni utili per stimare σ_L^2 , $(1 - \alpha)$ è il coefficiente di confidenza relativo al valore L^* .

L^* è il valore che, con probabilità $(1 - \alpha)$, è superiore al valore assoluto della differenza tra due misurazioni fatte in diverse condizioni di Riproducibilità (per es. presso due laboratori diversi).

Nelle tabelle 1 e 2 sono riportati i valori di L^* ottenuti ponendo $t_{f,(1-\alpha)} = 2$, valore soddisfacente quando $(1-\alpha) = 0.95$ ed f (come nel caso presente) non ha valore estremamente modesto.

Da un punto di vista pratico i valori R^* ed L^* tabulati sono interpretabili come valori di differenze critiche, a livello di significatività α , valide per coppie di singole misurazioni fatte in condizioni rispettivamente di Ripetibilità e Riproducibilità. I valori tabulati sono riferiti al coefficiente $\alpha = 0.05$.

Per quanto riguarda il confronto tra dati ottenuti da metodi manuali e automatici, si è adottato il seguente modello d'interpretazione statistica:

$$Y_{uji} = m + a_u + l_{uj} + e_{uji} \qquad (8)$$

in cui "m, l, e, j , i " hanno i significati già descritti, mentre " u " è un indicatore del tipo di analisi che ha originato i dati (u = 1 manuale, u = 2 automatico) ed a è l'effetto fisso presente nelle misurazioni fatte col metodo u .

Scopo delle elaborazioni è di descrivere la distribuzione delle differenze di valore che si possono osservare quando lo stesso parametro sia misurato sullo stesso terreno utilizzando sia il metodo manuale che il metodo automatico. Nella Tabella 3 sono riportati gli intervalli di confidenza (al livello 95%) per la differenza tra il valore certificato col metodo automatico ed il valore certificato col metodo manuale sulla base del complesso delle analisi fatte dal gruppo di lavoro.

4. ANALISI DEI RISULTATI E CONCLUSIONI

4.1 Valutazione di risultati

I risultati ottenuti attraverso l'elaborazione statistica sono stati analizzati attraverso le distribuzioni di frequenze della Ripetibilità e della Riproducibilità valutate rispetto alla media al fine di fornire un dato più interpretabile in termini intuitivi partendo dall'assunto che la media aritmetica coincida con il valore vero. In termini ancor più esemplificativi, pensando alla determinazione del pH in H2O su terreno acido, poichè la Riproducibilità/Media = 0.0702, ciò significa che solo il 5% delle volte la differenza tra misure singole fatte presso laboratori diversi su terreno acido si scosterà tra di loro in misura maggiore al 7.02% del valore del pH effettivo.
In particolare per quanto riguarda i terreni acidi si riporta in Tabella 4 un quadro sinottico dei risultati ottenuti.

La distribuzione delle frequenze è raffigurata in Figura 1 (Ripetibilità/media) e Figura 2 (Riproducibilità/media).

Analizzando la Figura 1 appare evidente come il 60% dei parametri analizzati denunci un valore di repetibilità intorno al 10% valore che si può assumere come accettabile quando si operi su materiale così eterogeneo quale il terreno agrario.
I dati relativi alla riproducibilità mostrano, come poteva essere nelle attese, maggiori oscillazioni.
Il 50% dei parametri denuncia oscillazioni comprese tra il 7 e il 16% e ben 4 parametri hanno oscillazioni intorno al 40%.
Può essere, a questo punto, interessante individuare i parametri analitici che hanno mostrato maggiori problematiche.
In merito alla ripetibiità sono il Na scambiabile e lo Zn assimilabile. Per quanto riguarda la riproducibilità essi sono il Limo, il Na scambiabile, lo Zn assimilabile, il P assimilabile.
Per quanto riguarda le determinazioni effettuate sui terreni alcalini, nella Tabella 5 vengono riportati i risultati ottenuti.

La distribuzione delle frequenze è rappresentata nelle figure 3 e 4.
I dati relativi alla ripetibilità denunciano un andamento analogo a quanto rilevato per il terreno acido , mentre per la riproducibilità la classe più frequente (13% dei parametri) denuncia uno scostamento del 16% dal valor medio.
In merito ai singoli parametri, per quanto riguarda la Ripetibilità anche in questo caso si confermano critiche le misurazioni di Na e Zn scambiabili con l'aggiunta del parametro Limo; mentre per la riproducibilità si ha la conferma di Limo, K scambiabile, Ca scambiabile, Na scambiabile, Mn assimilabile, Zn assimilabile e Calcare attivo.
Dal punto di vista agronomico risulta evidente come i maggio-

ri problemi siano connessi al terreno alcalino la cui esatta caratterizzazione chimica risulta più difficoltosa.
Per quanto riguarda infine il confronto tra metodi manuali e automatici, si rileva che in merito alla ripetibilità non si hanno differenze ne tra il tipo di terreno ne tra il tipo di metodica, attestandosi la media intorno al 7%.
Per quanto riguarda la Riproducibilità, è opportuno distinguere tra terreni acidi e alcalini: nei primi i metodi automatici mostrano un valore nettamente più elevato rispetto ai manuali (26% contro il 19%); nei secondi il dato è sostanzialmente identico intorno al 12%.

4.2 Conclusioni

Sinteticamente è opportuno rimarcare come l'errore medio, quando si operi manualmente non sembra tale da inficiare i successivi computi per i piani di concimazione ad eccezione dei terreni alcalini ove la determinazione delle basi di scambio sembra meritare un ulteriore approfondimento. Analoga considerazione va, in verità, formulata anche in merito al P assimilabile nei terreni acidi.
Circa l'attendibilità dei metodi analitici automatici, questa appare molto buona all'interno dei singoli laboratori, molto meno affidabile tra laboratori e ciò probabilmente in forza delle diverse strutture ed esperienze.

BIBLIOGRAFIA

- John Mandel, REPRODUCIBILITY
Material Research and Standard, Agosto 1971.

- G.W. Snedecor, W.G. Cochran, STATISICAL METHODS
Iowa State University Press, Ames, 1969.

- K.A. Brownlee, STATISICAL THEORY AND METHODOLOGY
J. Wiley & Sons, Inc. New York 1965.

- Manuale UNICHIM N. 145 "METODI DI ANALISI DEI TERRENI AGRARI, PARTE 1, METODI MANUALI e PARTE 2, METODI AUTOMATICI." Unichim Milano 1987.

Ringraziamenti

Gli Autori ringaziano per il presente lavoro tutti i partecipanti al Gruppo Analisi Terreni e Vegetali della "Commissione Metodi di Analisi per i Fertilizzanti, Correttivi del Suolo, Terreni e Vegetali" dell'UNICHIM attraverso le persone di: Dr. A. Barbera (Presidente del Guppo) e Dr. G. Morandi (Presidente della Commissione) per la preziosa collaborazione sia per la parte analitica che per i consigli forniti durante l'elaborazione dei dati. I partecipanti a tale Gruppo di lavoro sono stati:
Dr. P.L. Graziano, D.ssa L. Musmeci, Dr. R. Deon, Dr. D. Canepa, Dr. R. Maggiolo, Sig. A. Satanassi.

Tabella 1. VALORI DI RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' DEI DIVERSI PARAMETRI OTTENUTI CON METODI MANUALI SU TERRENI ACIDI ED ALCALINI (a = acidi, b = alcalini)

Parametro		Tipo di terreno	Media	Ripetibilità R*	Ripet./media	Riproducibilità L*	Riprod./media
pH in H2O		a	5.0304	0.1177	0.0234	0.3532	0.0702
pH in KCl		a	3.9296	0.0459	0.0117	0.2549	0.0649
Sabbia	%	a	70.7364	2.2814	0.0323	5.4841	0.0775
Limo	%	a	10.7000	1.8000	0.1682	3.9489	0.3691
Argilla	%	a	18.5636	1.4491	0.0781	3.5613	0.1918
N Tot.	%.	a	1.3178	0.0815	0.0619	0.1835	0.1392
P Ass. Bray	ppm	a	74.1082	10.3420	0.1530	31.6802	0.4275
K scamb.	ppm	a	222.4560	13.7694	0.0619	35.8744	0.1613
Ca scamb.	ppm	a	541.7238	29.6921	0.0548	65.4901	0.1209
Mg scamb.	ppm	a	107.9190	11.3713	0.1054	13.4360	0.1245
Na scamb.	ppm	a	24.3092	9.0384	0.3718	9.0384	0.3718
Fe Ass.	ppm	a	168.5700	15.3794	0.0912	29.7825	0.1767
Mn Ass.	ppm	a	210.2083	12.5799	0.0598	19.7546	0.0940
Cu Ass.	ppm	a	3.8300	0.4754	0.1241	0.9802	0.2559
Zn Ass.	ppm	a	2.3647	0.9876	0.4176	0.9876	0.4176
S da SO4	ppm	a	306.8917	32.2270	0.1050	33.2703	0.1084
Cloruri	ppm	a	9.8138	1.5942	0.1624	1.8844	0.1920
C.S.C.	meq/100g	a	20.5572	1.0849	0.0528	3.0211	0.1474
Sost.Org.	%	a	2.2415	0.1670	0.0745	0.1951	0.0870
pH in H2O		b	8.0047	0.0847	0.0106	0.2713	0.0339
Sabbia	%	b	48.3375	5.8469	0.1210	6.2932	0.1302
Argilla	%	b	26.2909	0.4472	0.0170	4.5060	0.1714
CaCO3 Att.	%	b	3.8800	0.1771	0.0456	0.5192	0.1338
P Ass. Olsen	ppm	b	17.5788	1.8045	0.1027	1.8471	0.1051
Ca scamb.	ppm	b	3413.9500	245.2009	0.0718	1407.4917	0.4123
Na scamb.	ppm	b	14.5667	5.4628	0.3750	5.6086	0.3850
Mn Ass.	ppm	b	14.3083	0.2797	0.0195	4.4392	0.3103
Cu Ass.	ppm	b	3.7647	0.1665	0.0442	0.6787	0.1803
Zn Ass.	ppm	b	0.6494	0.2213	0.3408	0.2326	0.3582
S da SO4	ppm	b	266.1529	51.3868	0.1931	51.3868	0.1931
Cloruri	ppm	b	9.7970	1.7216	0.1757	2.5008	0.2553
C.S.C.	meq/100g	b	23.9700	2.1821	0.0910	4.7782	0.1993
Sost.Org.	%	b	1.6954	0.0981	0.0579	0.1616	0.0953

Tabella 2. VALORI DI RIPETIBILITA' E RIPRODUCIBILITA' DEI DIVERSI PARAMETRI OTTENUTI CON METODI MANUALI ED AUTOMATICI SU TERRENI ACIDI ED ALCALINI

Parametro		Tipo di terreno	Tipo di metodo	Media	Ripetibilità R*	Ripet./media	Riproducibilità L*	Riprod./media
CaCO3 Att.	%	b	man.	3.8800	0.1771	0.0456	0.5192	0.1338
CaCO3 Att.	%	b	aut.	3.8467	0.2020	0.0525	0.9576	0.2489
N Tot.	%.	a	man.	1.3178	0.0815	0.0619	0.1835	0.1392
N Tot.	%.	a	aut.	1.2727	0.1681	0.1321	0.2150	0.1689
N Tot.	%.	b	man.	1.0507	0.0927	0.0883	0.1593	0.1516
N Tot.	%.	b	aut.	1.0507	0.1497	0.1424	0.1661	0.1581
Sost.Org.	%	a	man.	2.2415	0.1670	0.0745	0.1951	0.0870
Sost.Org	%	a	aut.	2.3320	0.0795	0.0341	0.8510	0.3649
Sost.Org.	%	b	man.	1.6954	0.0981	0.0579	0.1616	0.0953
Sost.Org	%	b	aut.	1.6538	0.0873	0.0528	0.0873	0.0528
P Ass.Bray	ppm	a	man.	74.1082	10.3420	0.1530	31.6802	0.4275
P Ass.Bray	ppm	a	aut.	74.1150	3.8526	0.0520	21.3300	0.2878
P Ass.Olsen	ppm	b	man.	17.5788	1.8045	0.1027	1.8471	0.1051
P Ass.Olsen	ppm	b	aut.	18.0467	0.8111	0.0449	1.4801	0.0820

man. = metodi manuali
aut. = metodi automatici

Tabella 3. CONFRONTO TRA METODI MANUALI E METODI AUTOMATICI

Parametro		Tipo di terreno	Valori medi man.	Valori medi aut.	Differenza (man.-aut.)	Limiti di confidenza (0.95) Inferiore	Superiore
CaCO3 Att.	%	b	3.8800	3.8467	0.0333	-0.0173	0.0839
N Tot.	%.	a	1.3178	1.2727	0.0451	0.0172	0.0730
N Tot.	%.	b	1.0507	1.0507	0.0000	-0.0261	0.0261
Sost.Org.	%	a	2.2415	2.3320	-0.0905	-0.1299	-0.0510
Sost.Org.	%	b	1.6954	1.6538	0.0416	0.0316	0.0793
P Ass. Bray	ppm	a	74.1082	74.1150	-0.0068	-2.4707	2.4571
P Ass. Olsen	ppm	b	17.5788	18.0467	-0.4679	-0.8773	-0.0584

a = acido
b = alcalino o basico

Tabella 4 : Descrizione generale dei dati relativi a Ripetibilità/media e Riproducibilità/media nel terreno acido.

	Media	Mediana	Minimo	Massimo
Ripet./media	0.12	0.085	0.012	0.418
Riprod./media	0.19	0.154	0.065	0.428

Tabella 5 : Descrizione generale dei dati relativi a Ripetibilità/media e Riproducibilità/media nel terreno alcalino.

	Media	Mediana	Minimo	Massimo
Ripet./media	0.125	0.0866	0.017	0.375
Riprod./media	0.211	0.1803	0.033	0.412

Fig. 1 TERRENI ACIDI

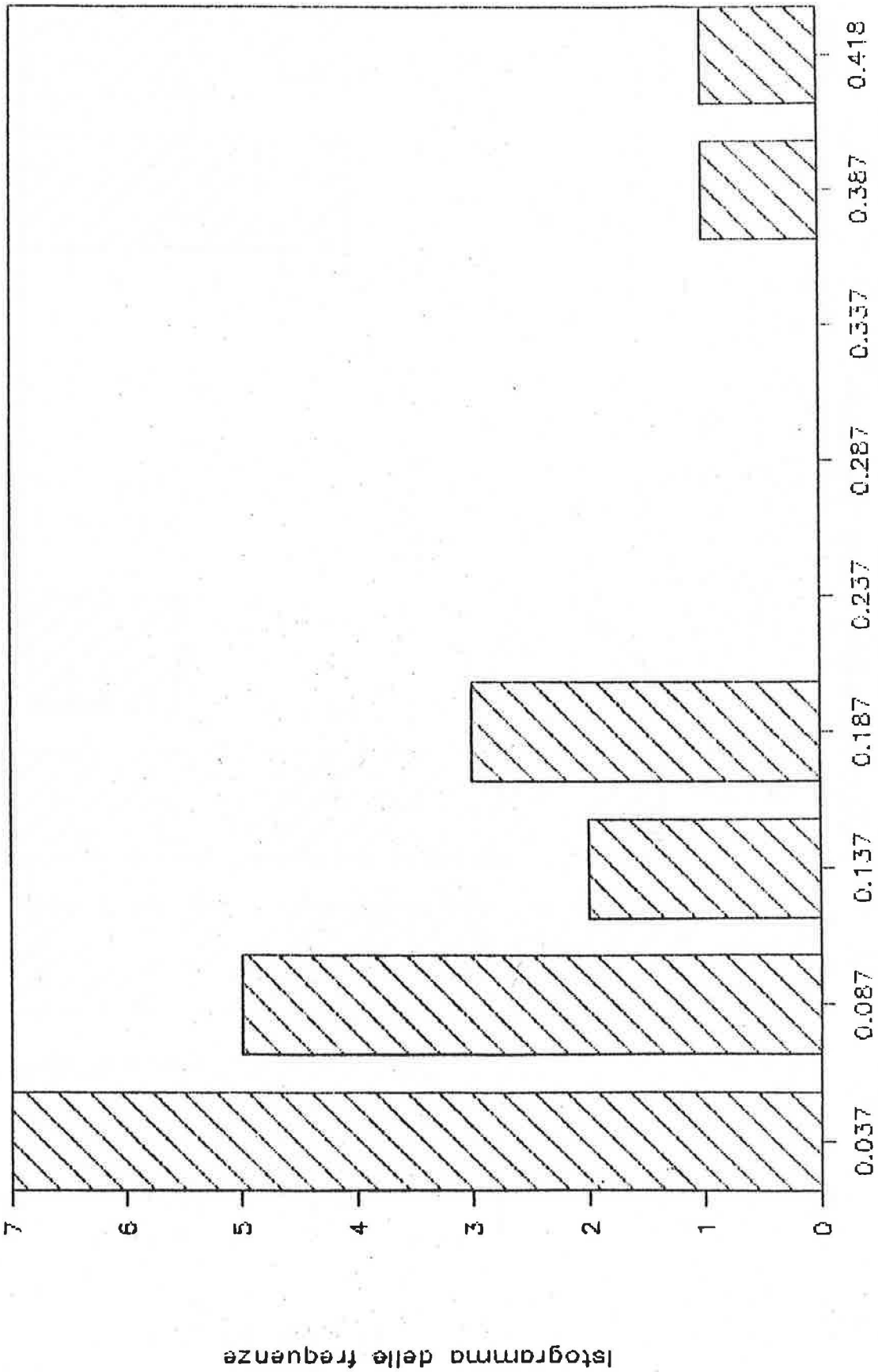


Fig. 2 TERRENI ACIDI

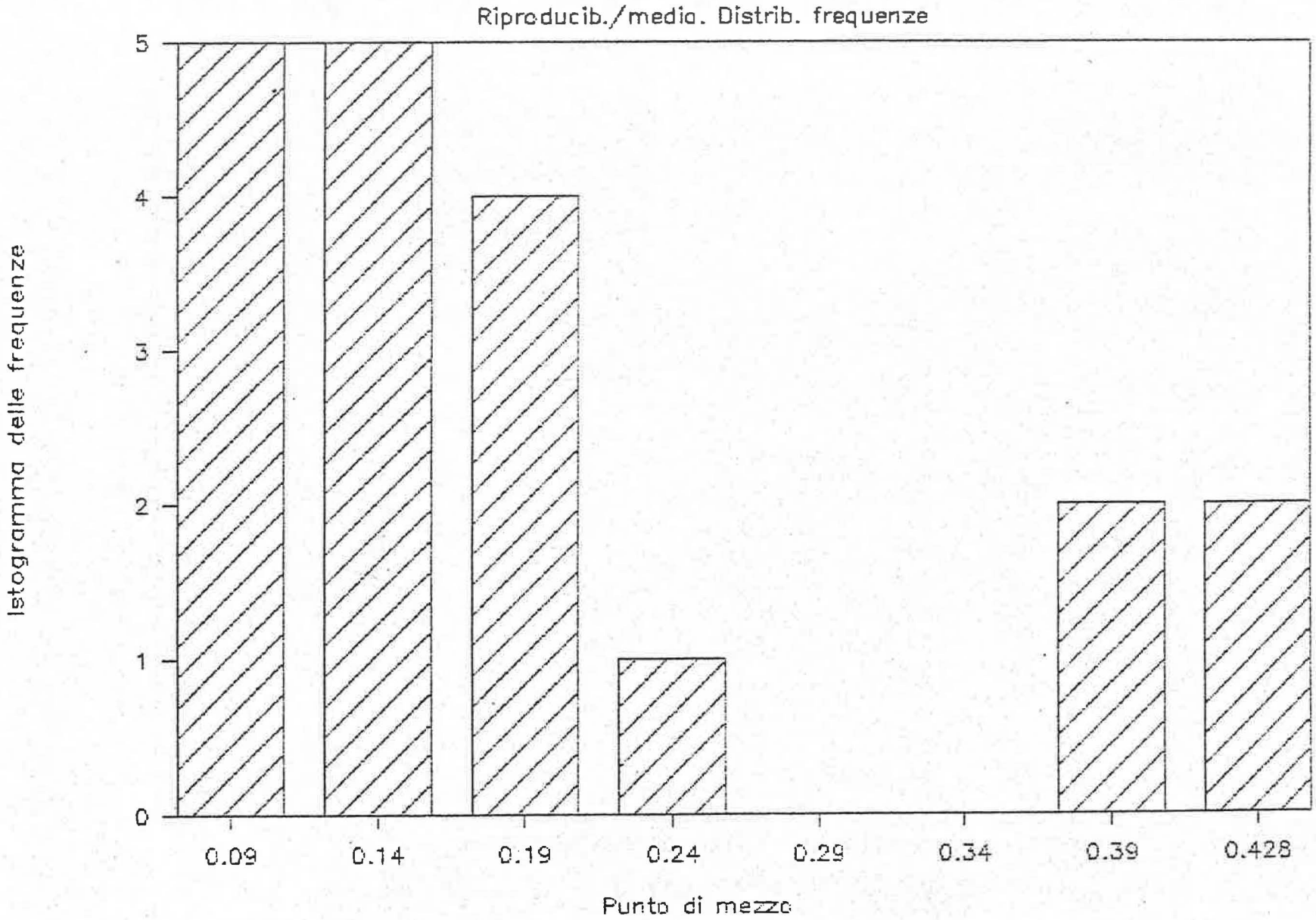


Fig. 3 TERRENI ALCALINI

Ripetibilità/media. Distrib. frequenze

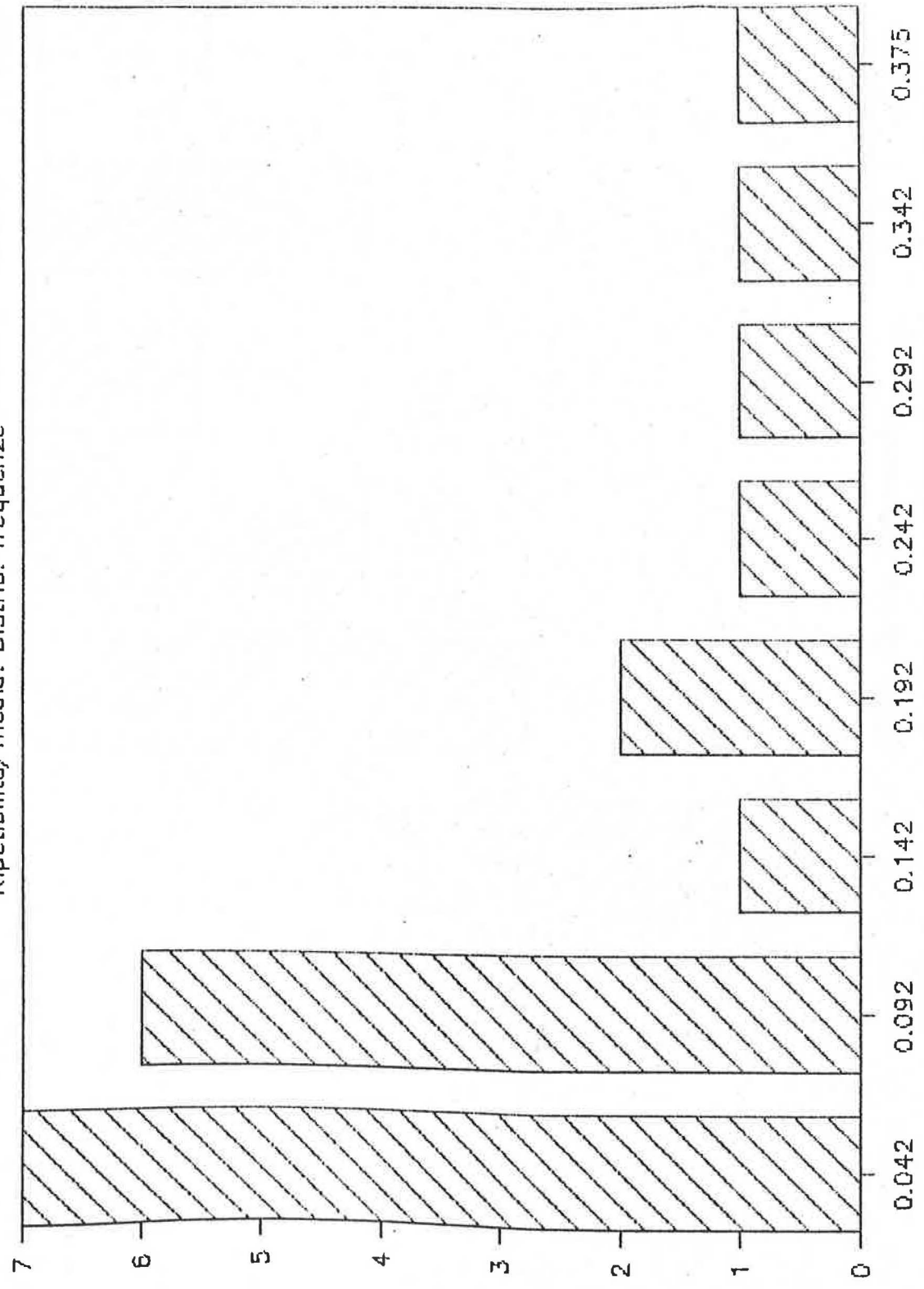
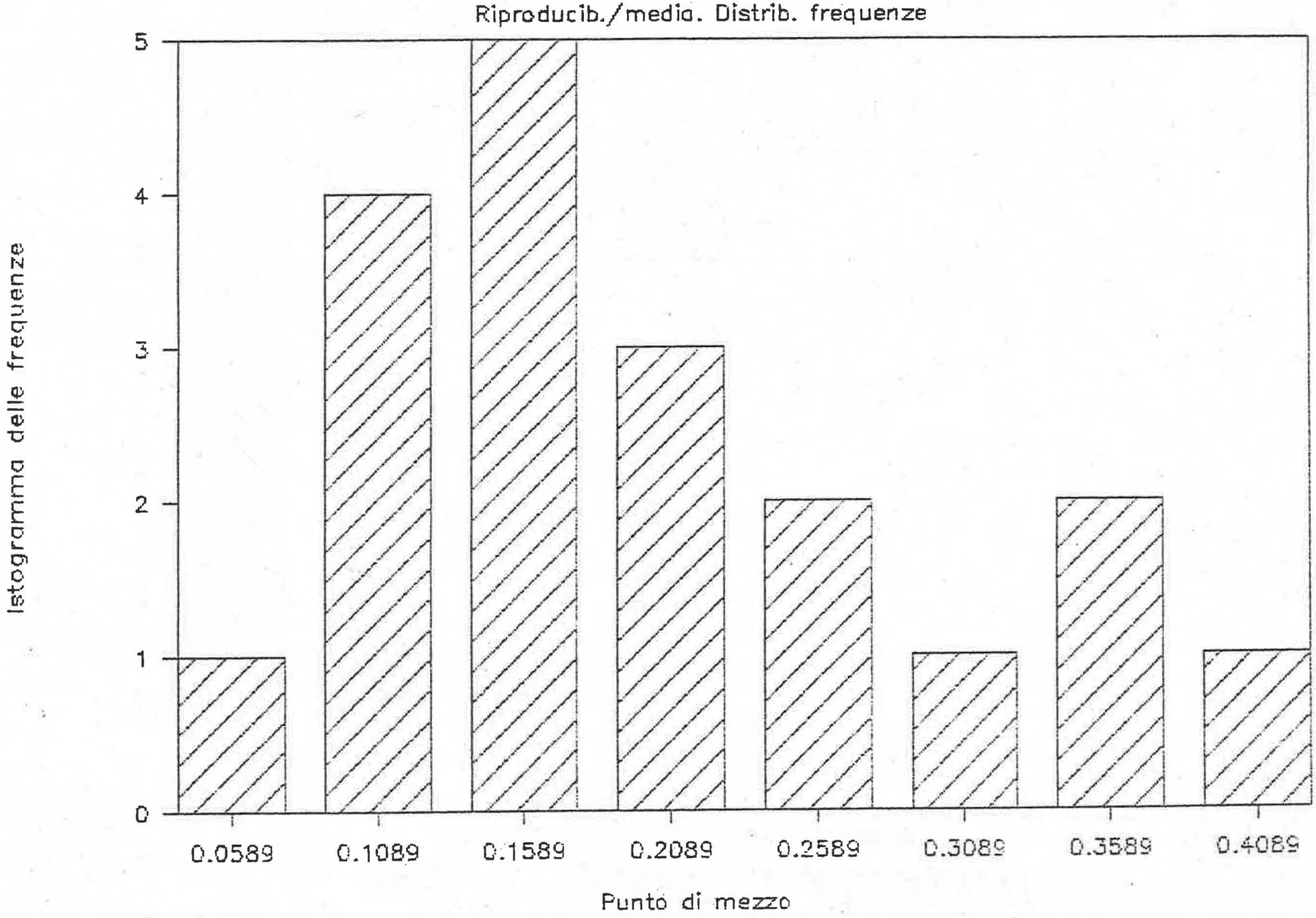



Fig. 4 TERRENI ALCALINI