

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

FACOLTÀ DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI

Corso di laurea magistrale in
ANALISI E GESTIONE DELL'AMBIENTE

SINTESI E PROPRIETÀ DI BIOCHAR DA BIOMASSE RESIDUALI

Tesi di laurea in Analisi Chimica Della Qualità Ambientale

Relatore
Prof. Daniele Fabbri

Presentata da
Giovanni Marisi

Correlatore
Dott. Alessandro Girolamo Rombolà

(II sessione)
Anno Accademico 2012/2013

INDICE

PREMESSA

CAPITOLO I: INTRODUZIONE

- 1.1 IL BIOCHAR: DEFINIZIONE, BIOMASSE DI PARTENZA E POTENZIALITÀ AMBIENTALI**
 - 1.1.1 *Definizione di biochar*
 - 1.1.2 *Biomasse di partenza*
 - 1.1.3 *Principali benefici ambientali*
- 1.2 PRODUZIONE DI BIOCHAR: LA PIROLISI**
 - 1.2.1 *Il processo di pirolisi*
 - 1.2.2 *I prodotti di pirolisi*
- 1.3 PROPRIETÀ CHIMICO-FISICHE DEL BIOCHAR**
 - 1.3.1 *Composizione e struttura*
 - 1.3.2 *Recalcitranza nel suolo*
- 1.4 SOSTANZE INDESIDERATE NEL BIOCHAR E POSSIBILI EFFETTI NEGATIVI**
 - 1.4.1 *Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*
 - 1.4.2 *Policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF)*
 - 1.4.3 *Metalli pesanti*
- 1.5 APPLICAZIONI ED EFFETTI DEL BIOCHAR NEL SUOLO**
 - 1.5.1 *Considerazioni generali e tipologie di suolo*
 - 1.5.2 *Effetti sull'area superficiale e sulla porosità*
 - 1.5.3 *Effetti sul peso specifico secco, sull'aggregazione del suolo e sulla resistenza alla penetrazione*
 - 1.5.4 *Effetti sulle proprietà idrologiche*
 - 1.5.5 *Effetti sulla disponibilità e lisciviazione dei nutrienti*
 - 1.5.6 *Effetti sulla componente biotica*
 - 1.5.7 *Effetti su eventuali contaminanti presenti nel suolo*
 - 1.5.8 *Effetti sull'emissione di gas serra*
- 1.6 SCOPO DELLA TESI**

CAPITOLO II: MATERIALI E METODI

2.1 MATERIALI

- 2.1.1 *Biomasse e biochar*
- 2.1.2 *Materiale per l'analisi elementare*
- 2.1.3 *Materiale per la determinazione del pH e umidità*
- 2.1.4 *Materiale per la determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*
- 2.1.5 *Materiale per i test di germinazione*
- 2.1.6 *Materiale per la determinazione degli acidi grassi (VFA)*
- 2.1.7 *Materiale per la determinazione dell'azoto ammoniacale (N-NH₄⁺)*

2.2 METODI

- 2.2.1 *Sintesi dei biochar*
- 2.2.2 *Analisi elementare*
- 2.2.3 *Determinazione pH e umidità*
- 2.2.4 *Determinazione idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*
- 2.2.5 *Py-GC-MS*
- 2.2.6 *Test di germinazione*
- 2.2.7 *Determinazione acidi grassi (VFA)*
- 2.2.8 *Determinazione azoto ammoniacale (N-NH₄⁺)*
- 2.2.9 *Analisi statistiche*

CAPITOLO III: RISULTATI E DISCUSSIONI

3.1 SINTESI DEI BIOCHAR

- 3.1.1 *Scelta delle biomasse*
- 3.1.2 *Pirolisi delle biomasse*

3.2 ANALISI ELEMENTARE, PH E UMIDITÀ

- 3.2.1 *Biochar da pellet di stocchi di mais*
- 3.2.2 *Biochar da pellet di pollina*
- 3.2.3 *Considerazioni generali analisi elementare*

3.3 DETERMINAZIONE IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA)

- 3.3.1 *Considerazioni generali determinazione IPA*
- 3.3.2 *Biochar da pellet di pollina*
- 3.3.3 *Biochar da pellet di stocchi di mais*

3.4 PY-GC-MS

- 3.4.1 *Considerazioni generali determinazione Py-GC-MS*
- 3.4.2 *Biochar da pellet di stocchi di mais*
- 3.4.3 *Biochar da pellet di pollina*
- 3.4.4 *Considerazioni finali Py-GC-MS*

- 3.5** DETERMINAZIONE ACIDI GRASSI VOLATILI (VFA)
- 3.6** DETERMINAZIONE AZOTO AMMONIACALE (N-NH₄⁺)
- 3.7** TEST DI GERMINAZIONE
 - 3.7.1 *Considerazioni generali test di germinazione*
 - 3.7.2 *Risultati test di germinazione a diverse concentrazioni acqua/biochar*
 - 3.7.3 *Risultati test di germinazione UNI 11357*
 - 3.7.4 *Considerazioni finali test di germinazione*

CONCLUSIONI

APPENDICE

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

*Dedicata a
"La ballerina del carillon",
la mia compagna di vita*

PREMESSA

Un numero crescente di problematiche globali, tra le quali il cambiamento climatico, la povertà, il calo della produzione agricola, la scarsità d'acqua, la scarsità di combustibili fossili sembrano essere inarrestabili.

In questo scenario anche l'agricoltura corrente spesso è causa di inquinamento e di degrado del suolo. L'urgenza di affrontare queste problematiche crea una domanda sempre crescente di possibili soluzioni che possono essere attuate ora o almeno in un futuro prossimo. Queste soluzioni necessitano di essere largamente implementate sia a livello locale da parte degli individui, sia attraverso programmi di grandi dimensioni al fine di produrre effetti a scala globale. Tutto ciò si rivela essere un compito arduo e urgente che però non può essere raggiunto da una singola tecnologia ma richiede una serie di approcci diversi.

Uno dei possibili approcci è costituito dall'utilizzo del biochar come strumento di gestione ambientale. Il biochar racchiude in sé proprietà uniche che non solo lo fanno diventare una valida proposta come ammendante dei suoli per incrementare in modo sostenibile la produttività e la qualità degli stessi, ma anche uno strumento appropriato per stoccare sotto terra il diossido di carbonio (CO_2) atmosferico per tempi considerevoli nell'ottica di mitigare il riscaldamento globale (Fig. 1).

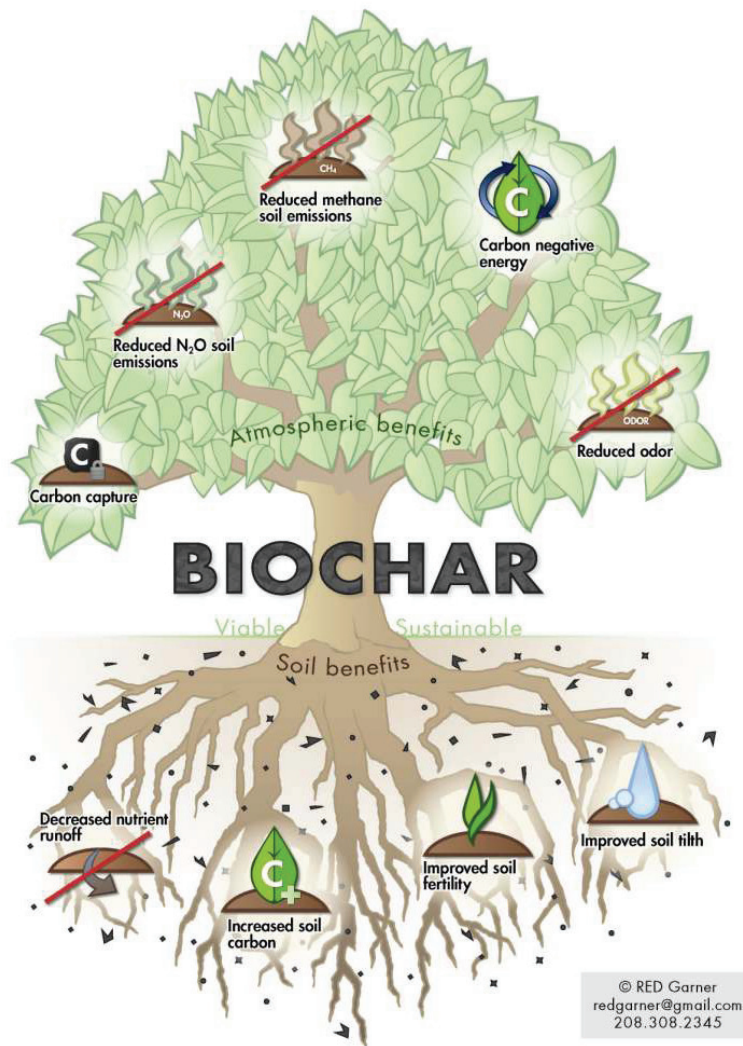


Fig. 1
Benefici del biochar (International Biochar Initiative)

La sfida è quella di incrementare e sostenere la produzione alimentare ed allo stesso tempo di far fronte ai cambiamenti ambientali in modo tale da evitare un ulteriore degrado del territorio (una rivoluzione doppiamente verde). Quando viene applicato del fertilizzante, concime o compost, questo spesso si perde rapidamente costringendo l'agricoltore a costi ricorrenti legati ad un ulteriore apporto dello stesso. Così facendo, inoltre, i fosfati, il potassio e i nitrati contenuti nel fertilizzante possono causare contaminazione. Questa contaminazione, con l'aggiunta di pesticidi, erbicidi e metalli pesanti può essere abbastanza grave da compromettere torrenti, laghi, acque sotterranee e ambienti costieri marini e può minacciare il mantenimento delle attuali attività agricole. È importante in quest'ottica, ottenere di più dai fertilizzanti, letame o compost attualmente usati perché gran parte della produzione alimentare mondiale è nelle mani di piccoli proprietari con scarso accesso a sostanze nuove o meno impattanti. Inoltre le forniture di fosfato stanno diminuendo e il suo utilizzo futuro potrebbe diventare problematico.

L'applicazione di biochar ha il potenziale di alleviare questi problemi in modo accessibile, e se il biochar venisse prodotto a livello regionale o locale, questa soluzione offrirebbe anche un modo per ridurre la dipendenza dai fertilizzanti con conseguente risparmio economico oltre ai benefici ambientali associati (per molti paesi le importazioni di fertilizzanti rappresentano un costo non indifferente per le loro economie).

Anche la Convenzione delle Nazioni Unite per la lotta contro la desertificazione (UNCCD) supporta il biochar come strumento per la lotta contro il degrado del suolo, per il miglioramento dei terreni agricoli e per la lotta contro il cambiamento climatico.

L'interesse relativamente recente da parte della comunità scientifica nei confronti del biochar è stato sicuramente stimolato dalla scoperta che questo "carbone" è il maggior responsabile dell'altissima fertilità delle terre nere del bacino amazzonico, Terra Petra de Indio.

Anche se il biochar è stato utilizzato in molti altri luoghi ed è stato anche oggetto di indagini scientifiche per almeno un secolo, gli sforzi sono stati per lo più isolati o focalizzati su aree delimitate. Quello del biochar è un settore emergente con un enorme potenziale di crescita; l'attuale sforzo globale sul suo utilizzo è la dimostrazione che il biochar ha proprietà che lo rendono fondamentale come altri materiali organici nell'ambiente.

CAPITOLO I: INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

1.1 IL BIOCHAR: DEFINIZIONE, BIOMASSE DI PARTENZA E POTENZIALITÀ AMBIENTALI

1.1.1 *Definizione di biochar*

Il biochar è definito come il materiale ricco in carbonio ottenuto dalla decomposizione termica di materia organica, in ambiente con limitata o assente presenza di ossigeno (O₂) e temperature relativamente basse (<700°C) (Lehmann et al., 2009). Il termine biochar si distingue dal più generale termine "char" o "carbone vegetale" per le sue applicazioni; infatti se i termini "char" o "carbone vegetale" vengono utilizzati in senso generale per definire il prodotto solido derivante dalla pirolisi di un qualsiasi materiale organico, il termine biochar definisce il materiale carbonioso di pirolisi con lo specifico scopo di essere applicato nei suoli sia per fini agronomici che di gestione ambientale (Lehmann et al., 2006).

Questo distingue il biochar dal carbone che viene utilizzato come combustibile per il calore, come filtro, come riducente nella produzione del ferro o come agente colorante nell'industria o nell'arte (Lehmann et al., 2006).

Alcuni fornitori commerciali hanno già sviluppato diversi nomi commerciali come Agrichar^R, però allo stato attuale il termine biochar è quello più utilizzato e probabilmente il migliore (Barrow C.J., 2012). Il biochar è molto variabile in termini di qualità, a seconda della biomassa di partenza, dalle condizioni di pirolisi e se viene utilizzato così com'è o arricchito di altri composti. Il problema che necessita di una soluzione è che il vocabolo biochar è un termine generico e tuttora standard di certificazione e di qualità a livello internazionale non sono stati stabiliti, anche se sono in corso attività per stabilire dei criteri di standardizzazione (COST TD1107, IBI), necessari nel prossimo futuro per assicurarne la sostenibilità e la comparazione dei risultati della comunità scientifica.

1.1.2 *Biomasse di partenza*

Potenzialmente qualsiasi materiale organico può essere utilizzato come materia prima, tra cui: rifiuti rurali, scarti agro-industriali, liquami, letame animale, alghe, piante acquatiche, ecc. (Barrow C.J., 2012)

La disponibilità di biomassa dipende dall'area geografica e dal grado di sviluppo del paese; secondariamente dipende dalla tipologia di area: cioè se questa è industriale, urbana o rurale.

La biomassa può derivare da colture dedicate o da scarti. La biomassa da colture dedicate è di "buona qualità", presenta però una stagionalità ed un conflitto nell'uso delle stesse con la produzione di cibo (disputa *food vs fuel*); quella di scarto è disponibile tutto l'anno ma è eterogenea e può presentare quantità inaccettabili di metalli pesanti e sostanza organica che non è biomassa, come la plastica, inoltre questi scarti sono spesso già destinati ad un riutilizzo o riciclo (Lehmann et al., 2009).

Attualmente in India è in corso lo studio per espandere il *National Biomass Resource Atlas*, una sorta di inventario per controllare quali biomasse di partenza sono utilizzate per produrre biochar e per valutarne la disponibilità in termini di risorse (Ministry of New and Renewable Energy: *National Biomass Resource Atlas* <http://www.mnes.nic.in>).

Studi sul potenziale globale di approvvigionamento delle materie prime e sulla logistica di utilizzo sono stati condotti (Woolf D., 2008) e per esempio, il Brasile da solo potrebbe essere in grado di produrre grandi quantità di biocarburante utilizzando i terreni degradati o abbandonati, coltivando Erba dell'elefante (*Pennisetum purpureum*) e varie specie di Miscanto (*Miscanthus spp.*), e ottenere biochar come sottoprodotto (Strezov V. et al., 2008). Un'altra possibilità sarebbe quella di produrre alghe come materia prima per biochar in lagune o bioreattori che utilizzino acqua di scarsa qualità e gas di scarico dall'industria come nutrienti.

Alle Maldive ci sono progetti per produrre biochar da biomasse residuali e mischiarli con scarti di pesce (Barrow C.J., 2012). Tramite la pirolisi si è in grado di produrre sia syngas sia biochar "rafforzato" per il miglioramento del suolo, con conseguente riduzione dei costi di importazione di fertilizzanti (attualmente più di UK £60 per tonnellata) e di guadagno di crediti di carbonio (Barrow C.J., 2012).

Ecco una lista delle più promettenti materie prime da cui produrre biochar (Barrow C.J., 2012):

- Deiezioni di bovini, suini, pollame e scarti di acquacoltura attualmente spesso costosi da smaltire;
- Scarti di legno da silvicoltura, da produzione carta, da imballaggi o da carpenteria (a condizione che non siano stati trattati con fungicidi se sono da utilizzare per l'agricoltura);
- Biochar come sottoprodotto da impianti di produzione di biogas o biocarburanti e da impianti locali di generazione di calore/elettricità. Questo è interessante perché può rendere la filiera della bioenergia più conveniente e forse più vicino ad essere "*carbon neutral*". Tuttavia, questa via potrebbe non incoraggiare la produzione di biochar di qualità ottimale per il miglioramento del suolo;
- Rifiuti di processo da colture agricole. Materiale che altrimenti andrebbe conferito in discarica o compostato (liberando gas ad effetto serra). Ad esempio paglia, stocchi di mais, pannocchie vuote, gusci di riso, ecc;
- Piante appositamente coltivate per il biochar. Questo potrebbe essere problematico per la competizione con la produzione alimentare. Ci possono essere opportunità di coltivazione dedicata su terreni degradati o su aree scarsamente vegetate che non provochino significativi impatti sulla biodiversità o sulle acque sotterranee. Ad esempio l'Erba dell'elefante potrebbe essere coltivata sulle banchine stradali, ferroviarie o su terreni non utilizzati per la produzione agricola a causa di contaminazioni da agrofarmaci; piante resistenti al sale potrebbero essere utilizzate su aree colpite da salinizzazione e sodificazione (alcalinizzazione). Tutto ciò potrebbe aiutare a risanare queste zone tramite *bioremediation*. In alcuni ambienti piante come ad esempio *Jatropha spp.*, *Prosopis spp.*, *Eucalipto spp.*, *O Albizia spp.* possono essere considerate adeguate allo scopo. Infine anche diverse specie di palme, ad esempio la Babassu (*Attalea speciosa*), sembrano essere promettenti fornendo olio di semi da terreni degradati con biochar come sottoprodotto;
- Alghe, varie specie di Azolla (genere di felci), Giacinto d'acqua ecc. cresciute tramite l'utilizzo di acque reflue di scarsa qualità sia superficiali che sotterranee, che non sono utilizzabili per l'irrigazione di colture alimentari. Utilizzando lagune degradate o bioreattori per produrre la biomassa di partenza per il biochar, si ridurrebbe la competizione con la produzione di cibo.

1.1.3 Principali benefici ambientali

Le applicazioni associate al biochar sono molteplici ma nonostante ciò complementari e spesso sinergiche (Fig. 2): il miglioramento dei suoli (aumento della produttività agricola, riduzione degli inquinanti); gestione dei rifiuti; mitigazione dei cambiamenti climatici e produzione di energia (Lehmann et al., 2009).

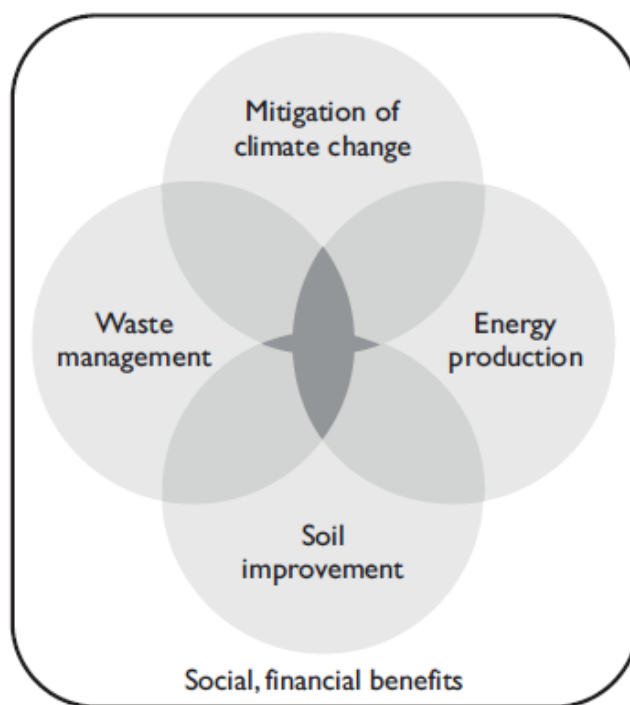


Fig. 2
Biochar e sviluppo sostenibile (Lehmann, 2009)

Il miglioramento dei suoli è un'operazione necessaria in alcune regioni della Terra (soprattutto in quelle zone con alto tasso di malnutrizione dovuta alla scarsità di cibo come l'Africa sub-Sahariana, il sud dell'Asia).

L'applicazione di biochar in suolo comporta diversi benefici, riassumibili in quattro principali categorie che verranno descritte successivamente:

1. Incremento delle rese agricole
2. Gestione degli inquinanti e del rischio di eutrofizzazione
3. Miglioramento della qualità dei suoli
4. Sequestro di carbonio dall'atmosfera

I fattori principali che determinano il miglioramento delle rese agricole comprendono la riduzione dell'acidità del suolo, il miglioramento della capacità di scambio cationico (CEC) e la capacità di ritenzione idrica (Blackwell et al., 2009).

È stato ben documentata in letteratura l'efficacia del biochar nel migliorare la produttività delle colture attraverso il miglioramento della qualità del suolo.

Asai et al., (2009) hanno esaminato l'effetto dell'applicazione di biochar, ottenuto da residui di legno teck (*Tectona grandis L.*) e da Palissandro (o legno di rosa), sulle proprietà fisiche del suolo e sulle rese di chicchi di riso montano (*Oryza sativa L.*) variando la quantità di biochar (0-16 t ha⁻¹) e i rapporti di fertilizzanti (N e P).

I risultati ottenuti suggeriscono che l'applicazione di biochar ha le potenzialità per migliorare la produttività del terreno ma che l'effetto dell'applicazione è fortemente dipendente dalla tipologia di suolo, dal tipo di biochar, dalle condizioni climatiche e non ultimo dal tasso di applicazione dello stesso (Blackwell et al., 2009).

Haefel et al., (2011) hanno invece testato in campo l'effetto di biochar da residui di riso sulla crescita del riso e sulle caratteristiche del suolo.

I risultati hanno mostrato che l'applicazione dei biochar da residui di riso ha portato ad un aumento del carbonio organico totale, dell'azoto totale del suolo, il rapporto C/N, e il P e K disponibile. Sono stati osservati effetti piccoli o non significativi sulla capacità di scambio di Ca, Mg, Na, e la CEC.

I risultati, inoltre, suggeriscono fortemente che il biochar è molto stabile in tipologie di terreno diverse, possibilmente per migliaia di anni. Gli autori concludono affermando che il biochar da residui di riso può essere utile in sistemi basati sul riso, ma che gli effetti reali sulla fertilità del suolo, sulla resa di carbonio organico del suolo dipenderà dalle condizioni specifiche del sito.

Risultati simili sono stati ottenuti da Zhang et al., (2012) i quali però ha studiato l'applicazione di biochar anche come contromisura per mitigare il cambiamento climatico monitorando le emissioni di CO₂, CH₄, N₂O in camera chiusa.

I risultati confermano che il biochar migliora le rese produttive e le proprietà del suolo ed inoltre è stato visto che riduce le emissioni di protossido di azoto ma aumentano le emissioni di metano.

Di seguito vengono elencati i possibili benefici ambientali dovuti all'apporto di biochar (Barrow C.J., 2012):

- Miglioramento della crescita delle piante con aumento della resa dei raccolti. Contribuisce a migliorare i suoli poveri di nutrienti, dai suoli acidi e umidi tropicali a suoli più asciutti;
- Contributo alla compensazione delle emissioni di gas effetto serra associate allo sviluppo agricolo. Si ipotizza che la trasformazione della biomassa in biochar, che si decompone molto più lentamente, fa sì che il carbonio passi dal ciclo biologico rapido al ciclo del biochar molto più lento (Lehmann, 2007). Perché ciò si verifichi, tuttavia, è anche necessario che il biochar sia molto più stabile della biomassa da cui si è formato;
- Rappresenta un deposito stabile nel suolo di carbonio. Compost e concimi sono soggetti a decomposizione microbica rapida;
- Il biochar può legarsi ai fertilizzanti per ridurre fosfati e nitrati e diminuire l'inquinamento dei corsi d'acqua e delle falde sotterranee;
- Riduzione della necessità di fertilizzanti/ letame/ compost;
- Riduzione dei costi di depurazione e trattamento rifiuti di origine animale e abbattimento delle emissioni che sarebbero altrimenti causate se questi fossero tenuti in lagune o cumuli. Sperimentazioni di conversione di questi rifiuti in biochar è già in corso a Brigen (Germania). Le deiezioni e lettiere animali in molti Paesi rappresentano un problema costoso di smaltimento rifiuti e sono una fonte di emissione di gas serra. L'applicazione di compost o letame al suolo può stimolare i batteri e causare emissioni di metano e ossidi di azoto in atmosfera e inoltre questi hanno tempo di permanenza limitato nel suolo. La pirolisi invece distrugge i microorganismi e alcuni farmaci zootecnici;
- Il biochar rappresenta un sink di carbonio nel suolo. La sua stabilità nel suolo è probabilmente di secoli, forse migliaia di anni. Le stime sul potenziale di cattura del carbonio attraverso l'utilizzo di biochar non sono molte, ma suggeriscono che su scala globale tale potenziale potrebbe raggiungere livelli elevati, superando addirittura le emissioni attuali di combustibili fossili (Lehmann et al., 2006). Tali stime comunque si basano su varie ipotesi;
- Riduzione dell'assorbimento da parte delle piante di pesticidi da suoli contaminati (Xiang-Yang Yu. et al., 2009);
- Riduzione dell'acidità del suolo/ aumento del pH;
- Aumento della capacità di scambio cationico (CEC);
- Ritenzione dei nutrienti per le piante;
- Miglioramento della ritenzione di umidità nei suoli con conseguente minore necessità di irrigazione e aumento di resilienza contro la siccità;
- Supporto nella produzione di biocarburanti con riduzione della *carbon footprint* per il raggiungimento della condizione *carbon neutral*;
- Aumento della biomassa microbica del suolo e supporto ad altri organismi benefici come i lombrichi;
- Supporto alla fissazione dell'azoto;

- Aumento di funghi micorrizici arbuscolari nel suolo;
- Riduzione delle emissioni di metano e ossidi di azoto dai terreni coltivati (rallentamento effetto serra);
- Se il biochar è in grado di permettere un'agricoltura intensiva sostenibile potrebbe aiutare a diminuire la pressione della deforestazione con benefici alla conservazione della biodiversità;
- Aumento dell'adattabilità ai cambiamenti ambientali rendendo la produzione più resiliente;
- Per quanto riguarda l'agricoltura urbana o vicina a centri abitati il biochar può essere un contributo utile per contrastare composti nocivi come metalli pesanti, diossine, idrocarburi policiclici aromatici presenti nelle acque di scarico o nei rifiuti.

1.2 PRODUZIONE DI BIOCHAR: LA PIROLISI

1.2.1 *Il processo di pirolisi*

La pirolisi è la decomposizione chimica di sostanza organica mediante riscaldamento in assenza di ossigeno. La parola deriva dal termine greco 'Pirò che significa fuoco e "lisi" che significa decomposizione o rottura in parti costituenti. In pratica non è possibile creare un ambiente privo completamente di ossigeno e perciò una piccola quantità di ossidazione si verifica sempre. Tuttavia, durante il processo di pirolisi, il grado di ossidazione della sostanza organica è relativamente piccolo rispetto alla combustione dove avviene l'ossidazione quasi completa della materia organica, e conseguentemente, la maggior parte del carbonio della sostanza organica rimane e non si sprigiona come CO₂. Tuttavia, con la pirolisi una parte consistente del C della materia prima non è recuperata sotto forma di char, ma convertito in gas e bio-olio (Verheijen et al.,2010). Mentre è possibile che la pirolisi sia stata usata per fare carbone più di 7.000 anni fa per la fusione del rame, o anche 30.000 anni fa, per i disegni a carboncino della grotta Chauvet (Antal, 2003), le prime prove certe di pirolisi per la produzione di carbone risalgono a più di 5.500 anni fa nel sud dell'Europa e nel Medio Oriente. Da 4.000 anni fa, che coincide con l'inizio dell'età del Bronzo, l'uso della pirolisi per la produzione di carbone si è diffuso notevolmente. Questo perché solo bruciando carbone si riusciva a raggiungere le temperature necessarie per la fusione dello stagno e del rame e così facendo produrre bronzo (Earl, 1995).

Il processo di pirolisi può avvenire a temperature elevate (> 300 °C) e per tempi variabili (da pochi secondi a giorni).

Sulla base di questi parametri si possono distinguere tre diverse tipologie di processo (Verheijen et al, 2010):

- *Slow Pyrolysis*: caratterizzata da basse velocità di riscaldamento, da temperature relativamente basse (300-400°C) e da tempi di residenza lunghi. È la tecnica di pirolisi maggiormente utilizzata per produrre elevate quantità di biochar (rese di circa 30 %);
- *Fast Pyrolysis*: caratterizzata da elevati gradienti termici (≈100°C/s), temperature elevate (400-700 °C) e presenta tempi di residenza molto brevi (secondi). È impiegata per ottenere elevate rese di bio-olio (oltre il 50 %);
- *Pirolisi convenzionale*: caratterizzata da moderate velocità di riscaldamento (≈ 20°C/s) e altrettanto moderate temperature di reazione (minori di 600°C), con tempi di residenza variabili da 10 s a 10 min. Questa tipologia di pirolisi dà luogo a quantità comparabili di char, gas e liquido.

Il processo di pirolisi e i parametri di processo, soprattutto la temperatura e il tempo di residenza, sono quindi particolarmente importanti, ma va comunque evidenziato che nel determinare il prodotto finale influisce anche il tipo di biomassa utilizzata.

1.2.2 *I prodotti di pirolisi*

Come già evidenziato la pirolisi è un processo di decomposizione termochimica in atmosfera inerte (o quasi) che permette la conversione di un materiale organico in tre sottoprodotti: un solido ricco in carbonio (char), una frazione liquida (bio-olio) e una miscela di gas (syngas) (tab. 1).

Il componente solido che rimane dopo la pirolisi è char, denominato biochar quando è prodotto con l'intenzione di aggiungerlo al terreno per migliorarlo.

Il bio-olio si forma per depolimerizzazione della cellulosa, emicellulosa e lignina. Chimicamente è una miscela di acqua e composti organici condensabili quali metanolo, acetone, fenoli e moltissimi altri (Mohan et al., 2006).

Il syngas consiste invece in una miscela costituita principalmente da CO, CO₂ e idrocarburi leggeri.

Mode	Conditions	Liquid (%)	Char (%)	Gas (%)
Fast	Moderate temperature ~ 500°C short vapour residence time ~ 1sec	75	12	13
Moderate	Moderate temperature ~ 500°C Moderate vapour residence time ~ 10–20sec	50	20	30
Slow	Moderate temperature ~ 500°C Very long vapour residence time ~ 5–30min	30	35	35
Gasification	High temperature >750°C Moderate vapour residence time ~ 10–20sec	5	10	85

Tab. 1

Tipiche rese dei tre sottoprodotti per differenti modalità di pirolisi (Bridgwater, 2007)

Demirbas (2004) suggerisce un meccanismo di reazione in tre stadi per la pirolisi delle biomasse e la seguente formazione di char:

1. Biomassa → Acqua + Residuo non reattivo
2. Residuo non reattivo → (Prodotti volatili + Gas)₁ + Char₁
3. Char₁ → (Prodotti volatili + Gas)₂ + Char₂

In base a questo meccanismo di reazione il char (o biochar a seconda del fine) si produce in tre fasi. Si ottiene un char primario nel secondo step di reazione che si decompone ulteriormente in un solido maggiormente ricco in carbonio (char secondario) a causa di arrangiamenti chimici più spinti (Demirbas, 2004).

1.3 PROPRIETÀ CHIMICO-FISICHE DEL BIOCHAR

1.3.1 Composizione e struttura

La composizione del biochar può essere grossolanamente divisa in carbonio (C) relativamente recalcitrante, carbonio labile o lisciviabile, e cenere (Lehmann et al., 2011). La più grande differenza chimica tra il biochar e altre sostanze organiche è la proporzione molto maggiore di C aromatico e, in particolare, la presenza di strutture fuse di C aromatici, a differenza di altre strutture aromatiche di materia organica come la lignina (Schmidt e Noack, 2000). Tale struttura aromatica fusa dei biochar può avere diverse forme, tra cui C amorfo, che è la forma dominante per le pirolisi a temperature più basse, e C turbostratico, che si forma a temperature più elevate (Keiluweit et al., 2010; Nguyen et al., 2010). È chiaro che la natura di queste strutture di C è la ragione principale per l'elevata stabilità del biochar (Nguyen et al., 2010). Sono meno chiari invece quali meccanismi, direttamente o indirettamente, conferiscono stabilità alle strutture aromatiche di C nel suolo. La stabilità chimica di un'ampia frazione di un dato biochar significa che, ad esempio, i microorganismi presenti nel suolo non saranno in grado di utilizzare facilmente il C come fonte di energia o il N e possibili altri nutrienti contenuti nella struttura di C. Tuttavia, a seconda del tipo di biochar, una frazione può essere facilmente lisciviata e quindi mineralizzata (Lehmann et al., 2009) e in alcuni casi è stato dimostrato che questa è in grado di stimolare l'attività e aumentare l'abbondanza dei microorganismi nel suolo (Steiner et al., 2008). Allo stato attuale, queste frazioni possono essere quantificate con studi di incubazione e sono spesso indicate come "materia volatile" o frazione labile.

Quando si parla di sostanze volatili ci si riferisce ad una metodologia standard ASTM che è stata sviluppata per valutare la qualità dei carboni come combustibili, e solo recentemente si sta cominciando a valutarne la presenza come proprietà del materiale con valore esplicativo per la stabilità del biochar (Deenik et al., 2010; Zimmerman, 2010). Si è visto che la frazione di sostanze volatili (5-

37% di C nello studio di Zimmerman, 2010) è in genere molto più grande della corrispondente frazione mineralizzata (2-18% di C in un anno). Questo risultato può indicare che la frazione mineralizzabile è catturata non perfettamente dalle sostanze volatili, nonostante spesso mostri risultati accettabili di correlazione. Inoltre, la presenza di questi elementi durante la pirolisi gioca un ruolo nella struttura chimica del biochar nella misura in cui essi sono incorporati nella struttura aromatica o che le reazioni organo-metalliche sono termodinamicamente favorevoli ad alte temperature (Lehmann et al., 2011).

Per esempio, N può sostituire uno o due atomi di C nei composti aromatici (Leinweber et al., 2007) con effetti in gran parte sconosciuti sul comportamento del biochar nel suolo. Biochar ricchi in ferro (Fe) prodotti dalla torba e analizzati tramite ^{57}Fe spettroscopia Mössbauer mostrano la formazione di legami Fe_3C e piccoli ammassi di ferro ferromagnetici a temperature di pirolisi superiori a 600°C (Freitas et al., 2002). Erbe e un certo numero di altre materie prime comuni da cui produrre biochar (bucce di riso, gusci di noci, fanghi di depurazione, ecc.) contengono anche notevoli quantità di silice amorfa (>2% in peso). Analisi tramite ^{29}Si NMR e diffrazione a raggi X mostrano la formazione di carburi di silicio (Si-C) a temperature di pirolisi superiori ai 1200°C (ad es, Lee e Cutler, 1975. Freitas et al., 2000), temperature che sono comunemente raggiunte durante la gassificazione della biomassa. I legami Si-C probabilmente partecipano a legami incrociati tra domini aromatici o cristallini (Freitas et al., 2000).

A temperature di $400\text{-}600^\circ\text{C}$, la pirolisi altera la struttura chimica dei biosilicati, con un progressivo aumento in SiO_4 rispetto a $\text{SiO}_{2,3}$ all'aumentare della temperatura (Freitas et al., 2000). I silicati possono occupare una parte consistente (>14% per le pannocchie di mais e 88% per le bucce di riso) dello spazio poroso del biochar (Bourke et al., 2007; Freitas et al., 2000). Tuttavia, l'influenza dei silicati e gli effetti dei cambiamenti nella struttura cristallina degli stessi sulla struttura del biochar e la loro funzione non è stata ancora studiata (Lehmann et al., 2011).

La biodisponibilità di Fe e Si nel biochar è sconosciuta, ma i trattamenti con soluzioni acquose acide utilizzati nei test sul suolo sono efficaci per estrarre una porzione di Si, Fe, S, P, K, Mg e Ca dal biochar (Freitas et al., 2002; Bourke et al., 2007; Maggiore et al., 2010), suggerendo che alcune frazioni di questi nutrienti possono essere accessibili alle piante e ai microorganismi.

I biochar possono avere carica superficiale netta positiva o negativa, ma in genere hanno capacità di scambio cationico (CEC) inizialmente bassa rispetto alla materia organica del suolo su unità di massa (Lehmann, 2007; Chan e Xu, 2009). Notevole invece è la capacità di scambio anionico inizialmente misurabile che scompare nel tempo nel suolo (Cheng et al., 2008), e in alcuni casi anche la forte interazione con i fosfati (Beaton et al., 1960). D'altra parte, temperature maggiori di pirolisi causano una diminuzione della CEC, specialmente in densità di carica per effetto della maggiore superficie prodotta ad alte temperature oltre i 600°C , e perdita di sostanze volatili che possono contenere una buona parte della carica negativa e della CEC come gli acidi organici. A temperature ancora più elevate, fino a 1000°C (di solito per produrre il cosiddetto "carbone attivo", ma anche biochar da gassificazione), i carboni sono principalmente idrofobici e non assorbono quantità apprezzabili di nutrienti o sostanze organiche polari, come gli zuccheri (Yam et al., 1990). Invece si è visto che questi carboni assorbono soprattutto soluti organici non polari o debolmente polari, in particolare quelli che presentano strutture aromatiche, come sono stati descritti in un gran numero di studi scientifici (Moreno-Castilla, 2004). Infine questi includono enzimi (Cho et Bailey, 1978) e altre sostanze importanti per i processi microbici nel suolo. Questo tipo di informazione non è completamente trasferibile ai biochar che sono prodotti a temperature molto inferiori, e senza l'aggiunta di sostanze chimiche che sono comunemente usate per aumentare l'area superficiale dei carboni attivi.

Nel suolo, i biochar prodotti a temperature inferiori a $600\text{-}700^\circ\text{C}$ sembrano ossidarsi rapidamente e aumentare notevolmente la CEC (Cheng et al., 2008; Nguyen et al., 2010), ma inizialmente conservano una significativa parte di superfici non polari (Smernik, 2009).

Dato che le materie prime per ricavare biochar variano da materiali legnosi poveri di minerali a deiezioni animali o residui di colture ricchi in minerali, il pH risultante è molto variabile da un minimo di 4 ad un massimo di 12, anche per lo stesso tipo di biomassa (Lehmann, 2007). Tipicamente biochar con alto contenuto di ceneri hanno valori di pH superiori a quelli con contenuto inferiori delle stesse.

Per tutte le materie prime, il pH aumenta con l'aumentare della temperatura di pirolisi. Per quanto riguarda l'altra condizione fondamentale del processo di pirolisi, ovvero il tempo di residenza, il pH può cambiare sia aumentando che diminuendo a seconda del tipo di biomassa utilizzata. Nguyen e Lehmann (2009) hanno osservato una diminuzione del pH del suolo con l'apporto di biochar da legno di quercia (povero in minerali) da 4.9 a 4.7, e invece un aumento del pH in seguito all'apporto di biochar ricchi in minerali, come quello derivante dagli stocchi di mais, da un valore di 6.7 a 8.1 nel corso di un anno di incubazione. La causa della diminuzione del pH è l'ossidazione del C per formare gruppi carbossilici acidi (Cheng et al., 2006), mentre l'aumento del pH è probabilmente correlato alla dissoluzione di minerali alcalini.

Le differenze nella struttura fisica tra il biochar e il suolo spingono all'alterazione della resistenza alla trazione del terreno, alla variazione dell'idrodinamicità e degli scambi gassosi nella miscela suolo-biochar. L'entità di tali effetti dipende dalle condizioni di pirolisi del biochar e dalla biomassa di partenza, le quali insieme controllano la micro e macro-struttura delle particelle di biochar (Downie et al., 2009). Se tali effetti sono semplicemente il risultato di un mescolamento di due materiali molto diversi (suolo e biochar) o se invece il biochar ha un effetto distinto sulle proprietà del suolo su una sottile scala spaziale non è stato oggetto di sperimentazione (Lehmann et al., 2011).

Quando la resistenza alla trazione del biochar è inferiore a quella dei suoli (ad es. per i terreni ricchi di argilla), l'aggiunta del biochar può ridurre la forza di trazione complessiva del suolo. Chan et al., (2007) hanno sperimentato una diminuzione della forza di trazione del suolo dopo aver aggiunto biochar (50 tonnellate/ha) da un valore iniziale di 64.4 kPa a 31 kPa e un'ulteriore diminuzione fino a 18 kPa con aggiunta di biochar a 100 tonnellate/ha.

L'impedenza meccanica è uno dei fattori principali che determinano l'allungamento e la proliferazione radicale nel suolo (Bengough e Mullins, 1990).

La riduzione della resistenza alla trazione del suolo può anche comportare un più efficace assorbimento dei nutrienti da parte delle radici e dei microorganismi, oltre che permettere ai semi di germinare più facilmente. Inoltre può rendere fisicamente più semplice il movimento di invertebrati nel suolo, alterando le dinamiche preda/predatore (Lehmann et al., 2011).

L'applicazione di biochar può cambiare il peso specifico secco del suolo (Majoret et al., 2010), con possibili effetti sulle relazioni idriche del terreno, modelli di radicamento e fauna pedologica. Ciò avviene perchè la densità del biochar è inferiore a quella di alcuni minerali, e poichè il biochar possiede macro e micropori (Downie et al., 2009), che possono contenere aria o acqua, riducendo notevolmente la densità dell'intera particella di biochar.

Sorprendentemente pochi dati di densità sono stati pubblicati riguardanti campioni di biochar. Le misurazioni di densità del biochar dovrebbero distinguere tra il peso specifico del solido (*true, solid particle density*) e il peso specifico secco (*bulk density*). Valori per quanto riguarda la *true density* sono alti, tra 1.5 e 2.1 g cm⁻³ per una serie di biomasse (Brewer et al., 2009), mentre, *bulk density* tipicamente variano tra 0.09 e 0.5 g cm⁻³ (Karaosmanoğlu et al., 2000; Özçimen e Karaosmanoğlu, 2004; Uccello et al., 2008; Spokas et al., 2009), valori molto più bassi rispetto alla densità dei suoli.

A differenza di altri materiali organici nel suolo, i biochar mostrano elevata recalcitranza (Skjemstad et al., 1996; Lehmann et al., 2008), anche se le dimensioni delle particelle possono diminuire su una scala di tempo decennale (Nguyen et al., 2008). Se apparentemente il biochar possiede una struttura monolitica su scala millimetrica, su scala micro- e nanometrica può essere visualizzato come una miscela disordinata di clusters di C ed elementi minerali (ad es. le inclusioni di cenere). Inoltre, le particelle di biochar hanno grande area superficiale interna che può essere importante per i processi biologici.

Aggregati di biochar possono fornire funzioni simili, come la protezione della sostanza organica, habitat per la biota pedologica, o la ritenzione di umidità e di nutrienti del suolo (Lehmann et al., 2011).

Proprietà del biochar come l'area superficiale totale e la distribuzione delle dimensioni dei pori sono note per variare con le proprietà della materia prima di partenza e le temperature di pirolisi (Downie et al., 2009). Inoltre, l'area superficiale e la porosità del biochar possono cambiare a contat-

to con il suolo per intasamento dei pori dovuto all'inclusione di materiale organico (Pignatello et al., 2006) e materiale minerale (Joseph et al., 2010).

Le superfici esterne delle particelle di biochar nel suolo sono significativamente più ossidate rispetto a quelle più interne (Lehmann et al., 2005; Liang et al., 2006; Cheng et al., 2008); ciò è dovuto all'adsorbimento di materia organica sulla superficie del biochar con conseguente ossidazione del C del biochar stesso (Liang et al., 2006), sia abiotica che biotica. Questo tipo di ossidazione preferenziale delle superfici esterne rispetto a quelle interne implica una limitata diffusione di O₂ all'interno delle particelle di biochar. Tali condizioni redox così differenti influenzano non solo l'ossidazione della materia organica ma anche la trasformazione dei metalli.

1.3.2 Recalcitranza nel suolo

Il biochar non è un singolo materiale, e le sue proprietà variano in accordo con le modalità e con le materie prime di produzione (Mayor J., 2010). La comprensione scientifica prevalente per quanto riguarda la degradazione del biochar nel suolo è che alcune porzioni dello stesso sono abbastanza decomponibili (*labile*), mentre la struttura centrale del materiale (*core*) è altamente recalcitrante (*stable*).

La porzione degradabile del biochar è generalmente piccola e la sua grandezza può essere controllata nel processo di produzione. Se questa porzione degrada nel corso degli anni successivi alla sua applicazione, la parte restante rimane nel suolo per periodi molto più lunghi (Kuzyakov Y., 2009).

Il biochar nei suoli di Terra Preta in Amazzonia è stato datato a diverse migliaia di anni fa. Quello amazzonico è un clima tropicale in cui la degradazione della materia organica è molto rapida legata alle temperature costanti molto alte e ai livelli di umidità altrettanto elevati.

In Australia, stime di tempi di residenza media di carboni di biochar naturali sono di 1300-2600 anni (Lehmann et al., 2008).

Tassi di decomposizione della materia organica nelle regioni temperate sono più bassi e il carbone risiede nel suolo per tempi molto più lunghi. Esperimenti controllati in cui la decomposizione del biochar è monitorata sono in corso, ma i risultati estesi al lungo periodo non sono ancora disponibili. Tuttavia, applicando modelli matematici robusti che descrivono la degradazione della materia organica nel suolo, stime multiple e indipendenti tra loro mostrano che il biochar ha una recalcitranza media dell'ordine dei 1300-4000 anni (Cheng et al., 2008, Liang et al., 2008, Kuzyakov et al., 2009, Major et al., 2010).

Un altro studio di incubazione di laboratorio non ha riscontrato decomposizione di un biochar prodotto commercialmente per oltre 100 giorni (Spokas et al., 2009), mentre in un altro ancora il biochar si è degradato decisamente meno rispetto alla biomassa originaria nel corso di 2 anni (Bruun et al., 2009).

1.4 SOSTANZE INDESIDERATE NEL BIOCHAR E POSSIBILI EFFETTI NEGATIVI

Oltre agli effetti benefici del biochar è necessario sottolineare che vi possono essere anche aspetti negativi dovuti all'interazione biochar-suolo. L'aspetto negativo principale è il rischio di contaminazione del suolo.

In letteratura sono presenti alcuni studi (Garcia-Perez M. et al., 2008) sul potenziale sviluppo di pericolose sostanze tossiche nel biochar come risultato del processo di pirolisi della biomassa e l'impatto potenziale di questi prodotti sull'ambiente. In particolare, in tali lavori è stata studiata la possibile formazione durante la pirolisi di policlorodibenzofurani (PCDF), policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e idrocarburi policiclici aromatici (IPA). Ulteriori studi hanno dimostrato la formazione di IPA e diossine nei biochar che possono quindi essere biodisponibili per gli organismi. Sono state quantificate le concentrazioni totali e biodisponibili dimostrando la loro dipendenza dalla tipologia di biomassa di partenza e dalla temperatura e dal tempo di pirolisi. Le concentrazioni diminuiscono all'aumentare del tempo e della temperatura di pirolisi (Hale et al., 2012).

Come già riportato l'aspetto negativo principale è il rischio di contaminazione del suolo fortemente correlato alla elevata recalcitranza del biochar nello stesso. Quindi, prima di ogni possibile

applicazione di biochar, è opportuno effettuare analisi per evitare di introdurre sostanze indesiderate nel suolo, difficile poi eventualmente da bonificare.

D'altra parte si è visto che l'applicazione di biochar è in grado di migliorare la capacità complessiva di assorbimento dei suoli verso comuni composti organici di origine antropica (es. IPA, pesticidi ed erbicidi), e quindi influenzano la tossicità, il trasporto e il destino di questi contaminanti (Verheijen et al., 2010).

Come spiegato da Blackwell et al. (2009), il biochar può rappresentare anche un pericolo di incendio. Infatti le particelle di polvere di biochar possono formare miscele esplosive con l'aria in spazi ristretti, e vi è il pericolo di riscaldamento spontaneo e accensione quando il biochar è impacchettato strettamente. Ciò si verifica perché il biochar fresco assorbe rapidamente ossigeno e umidità, e questi processi di adsorbimento sono esotermici, con potenziale raggiungimento di alte temperature e successivo innesco del materiale.

Per ridurre al minimo i rischi di incendio possono essere aggiunte certe sostanze chimiche al biochar per diminuire la sua infiammabilità (ad esempio acido borico, solfato ferroso) (Blackwell et al., 2009). Anche l'acqua può ridurre l'infiammabilità, anche se la sua efficacia non è nota nel caso che il biochar sia saturo e così facendo si aumenta anche il peso del materiale (problematico dal punto di vista logistico ed economico). Il modo migliore per evitare incendi del biochar è quello di immagazzinarlo e trasportarlo in un'atmosfera priva di ossigeno (Blackwell et al., 2009).

Regole per il trasporto di carbone esistono in molte giurisdizioni. Prodotti formulati di biochar come miscele con compost, concimi, o la produzione di complessi di biochar-minerali possono potenzialmente fornire prodotti che sono molto meno infiammabili e allo stesso tempo utili da applicare al suolo come ammendanti-fertilizzanti (Blackwell et al., 2009).

1.4.1 *Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*

Gli idrocarburi policiclici aromatici, noti anche con l'acronimo IPA (PAH nell'acronimo inglese), sono idrocarburi costituiti da due o più anelli aromatici, quali quello del benzene, fusi fra loro in un'unica struttura generalmente planare; in quanto idrocarburi non contengono eteroatomi nel ciclo o nei sostituenti.

Si ritrovano naturalmente nel carbon fossile e nel petrolio e sono potenti inquinanti atmosferici e la loro formazione per cause antropiche avviene nel corso di combustioni incomplete di combustibili fossili, legname e composti organici in generale, quali quelli provenienti dai rifiuti urbani, ritrovandosi quindi nei loro fumi, da quelli da biomasse al fumo di tabacco, ritrovandosi anche nei cibi cotti, particolarmente nei processi di carbonizzazione ad alta temperatura, come le cotture alla griglia delle carni o nel pesce affumicato. Sono inquinanti che generano preoccupazione perché alcuni composti sono stati identificati come cancerogeni, mutageni e teratogeni.

Gli IPA ad alto peso molecolare, come il benzo[e]pirene e il benzo[a]pirene, sono presenti in elevate quantità in catrami, bitumi, pece e carboni nonché nei prodotti correlati come gli asfalti. Inoltre possono derivare da nerofumo e fuliggine di legna o comunque si ricollegano a fonti pirogeniche. Gli IPA leggeri come naftalene e fluorene sono inquinanti ubiquitari che, per la loro, relativa, maggiore solubilità in acqua, possono giungere ad inquinare le falde sotterranee.

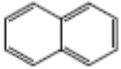

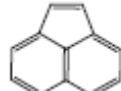
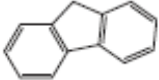
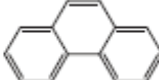
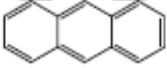
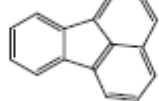
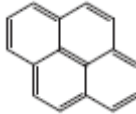
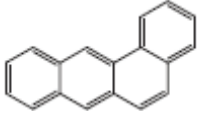
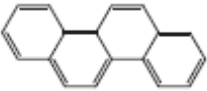
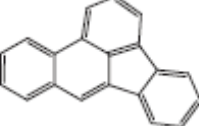
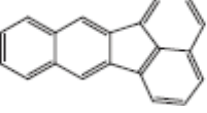
In condizioni normali gli IPA si presentano tutti allo stato solido. La tensione di vapore di tali composti è generalmente bassa, ed inversamente proporzionale al numero di anelli contenuti. I composti a peso molecolare basso generalmente sublimano a temperatura ambiente, fenomeno particolarmente rilevante nei naftaleni.

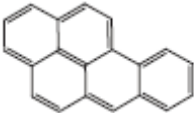
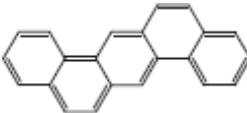
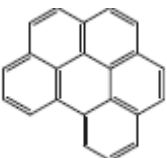
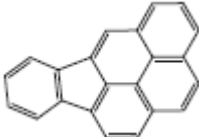
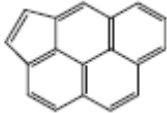
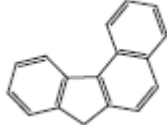
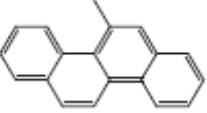
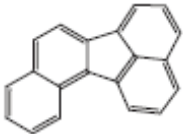
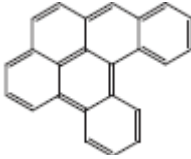
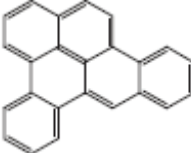

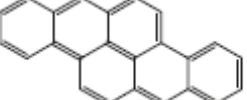
Gli IPA sono o relativamente poco solubili o del tutto insolubili in acqua; la loro solubilità diminuisce all'aumentare del peso molecolare. Sono altamente lipofili e questa loro caratteristica ne influenza fortemente il bioaccumulo. La struttura molecolare ne determina la stabilità, in atmosfera fortemente correlata all'irraggiamento ultravioletto solare. I composti più grandi, meno solubili in acqua e meno volatili, a causa di queste proprietà si trovano, nell'ambiente principalmente nel suolo, nei sedimenti oleosi, piuttosto che in acqua o in aria; tuttavia sono anche una componente preoccupante del particolato atmosferico, adsorbiti dalle particelle sospese nell'aria.

Gli IPA hanno noti effetti negativi sull'ambiente, sulla salute umana ed animale, come tossicità evidente per alcuni organismi acquatici ed uccelli, alta tossicità cronica per la vita acquatica, contaminazione dei raccolti agricoli.

Diversi IPA sono stati classificati dalla IARC (1987) come "probabili" o "possibili cancerogeni per l'uomo", mentre il benzo[a]pirene è stato recentemente (2008) riclassificato nel gruppo 1 come "cancerogeno per l'uomo".

Anche se esistono più di cento diversi IPA, quelli più imputati nel causare dei danni per la salute dell'uomo e degli animali sono: l'acenaftene, l'acenaftilene, l'antracene, il benzo[a]antracene, il dibenzo[a,h]antracene, il crisene, il pirene, il benzo[a]pirene, l'indeno[1,2,3-c,d]pirene, il fenantrene, il fluorantene, il benzo[b]fluorantene, il benzo[k]fluorantene, il benzo[g,h,i]perilene e il fluorene.

IPA	Peso molecolare	Formula
Naftalene [1]	128	
Acenaftene [1]	154	
Acenaftilene [1]	152	
Fluorene [1]	166	
Fenantrene [1]	178	
Antracene [1]	178	
Fluorantene [1]	202	
Pirene [1]	202	
Benzo[a]antracene [2]	228	
Crisene [2]	228	
Benzo[b]fluorantene [2]	228	
Benzo[k]fluorantene [2]	252	

IPA	Peso molecolare	Formula
Benzo[a]pirene [2]	252	
Dibenzo[a,h]antracene [2]	278	
Benzo[g,h,i]perilene [2]	276	
Indeno[1,2,3-cd]pirene [2]	276	
Ciclopenta[c,d]pirene [3]	226	
Benzo[c]fluorene [3]	216	
5-metilcrisene [3]	242	
Benzo[j]fluorantene [3]	252	
Dibenzo[a,i]pirene [3]	302	
Dibenzo[a,e]pirene [3]	302	
Dibenzo[a,l]pirene [3]	302	
Dibenzo[a,h]pirene [3]	302	

Tab. 2

Nome, peso molecolare, formula degli IPA prioritari per l'Environmental Protection Agency (EPA)[1], per l'Unione Europea (EU)[3] e per entrambi (sia EPA sia EU)[2] (Purcaro G. et al., 2013)

Pur essendo lo studio di queste miscele particolarmente complesso, è stato comunque dimostrato che l'esposizione alle miscele IPA comporta per fenomeni di azione sinergica, un aumento dell'insorgenza del cancro, soprattutto in presenza di benzo[a]pirene, composto presente in miscela con altri anche nel fumo di sigaretta.

Per quanto riguarda la loro formazione, in particolare, è noto che essi si formano in grandi quantità da reazioni termo-chimiche secondarie a temperature superiori a 700°C (Ledesma et al., 2002). Esistono tuttavia prove scientifiche in base alle quali è possibile dimostrare che piccole quantità di questi composti possono essere prodotte alle temperature utilizzate nei reattori di pirolisi (350-600°C). Viene quindi evidenziata la necessità di esaminare i meccanismi e le cinetiche coinvolte nella creazione di questi composti come sistema per limitare la loro sintesi in pirolisi.

I meccanismi attraverso cui la produzione pirolitica di IPA avviene sono complessi e sono stati ampiamente studiati sin dagli anni '50 del secolo scorso (Abrajano T. et al., 2004, Simoneit B.R.T., 1998). Gli IPA sono prodotti attraverso due principali processi durante la pirolisi delle biomasse (Keilweit M., 2012):

- (1) A temperature <500 °C, la formazione di IPA procede tramite ciclizzazione unimolecolare, deidrogenazione, dealchilazione e aromatizzazione di biopolimeri legnosi e cellulósici nonché di lipidi come resine e steroidi (Simoneit B.R.T., 1998). Questo processo elimina le funzionalità dei composti nativi (come H₂O, CO₂, CH₄, H₂S, ecc.), lasciando dietro strutture aromatizzate (cioè, ossidate). Per esempio, le sostanze resinose, come gli acidi abietico e primarico, comuni nel legno tenero, subiscono deidrogenazione a retene (1-metil-7-isopropilfenantrene) e pimantrene (1,7-dimetilfenantrene) (Laflamme E.R. et al., 1978, Simoneit B.R.T. et al., 1982). Questi IPA alchilsostituiti poi subiscono una condensazione nucleare diretta preferenzialmente attraverso il gruppo alchilico con ulteriore ciclizzazione (Simoneit B.R.T., 1998).
- (2) A temperature >500 °C, gli IPA si formano attraverso un libero percorso radicale seguito da pirosintesi che ingrandisce le strutture aromatiche (Simoneit B.R.T., 1998, Lee M.L. et al., 1981). Nella pirolisi (la reazione primaria), i composti organici vengono parzialmente frammentati in piccoli radicali instabili (ad es. etinile, HC≡C° e radicali 1,3-butadiene, H₂C=CH-CH=C°H). Questa fase è seguita dalla pirosintesi (o reazione secondaria) in cui questi radicali si fondono formando IPA non sostituiti e termodinamicamente più stabili a basso peso molecolare (*low-molecular weight* LMW) come il naftalene (Simoneit B.R.T. et al., 1996). All'aumentare della temperatura e del tempo di residenza, questi IPA a basso peso molecolare crescono attraverso il " processo di addizione a zig-zag" fino a diventare IPA terziari ad alto peso molecolare (*high-molecular weight* HMW) come ad esempio i più tossici benzo[a]pirene e benzo[g,h,i]perilene (Sullivan R.F. et al., 1989). In questo schema, l'aggiunta di anelli avviene attraverso l'integrazione di una sequenza di quattro e due atomi di carbonio nelle posizioni dell'anello aromatico con la più alta densità di elettroni. I prodotti di queste pirolisi terziarie si pensa diventino significativi a temperature maggiori di 650 °C (Morf P. et al., 2002, Stein E.S., 1978).

L'EPA e l'*European Environmental Agency* (EEA) hanno stabilito dei limiti per i valori di IPA nei composti bio-solidi applicati al suolo: di 6 mg kg⁻¹ per l'EPA e tra 3 e 6 mg kg⁻¹ per la EEA, in relazione ai diversi paesi della Comunità Europea (EPA, 2002; EEA, 2004).

1.4.2 Policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e policlorodibenzofurani (PCDF)

Le policlorodibenzodiossine (PCDD) e i policlorodibenzofurani (PCDF), comunemente indicate con il nome generico di "diossine", sono due famiglie di contaminanti ambientali con caratteristiche fisiche, chimiche e tossicologiche molto simili. PCDD e PCDF non sono sostanze prodotte intenzionalmente, ma sono sottoprodotti indesiderati di reazioni di vario genere, originate da attività umane e naturali. Tracce di diossine formatesi in seguito a processi di combustione naturali si trovano anche in reperti antichi. È tuttavia a partire dagli anni quaranta con la diffusione della chimica del cloro e l'incremento di altre attività umane (fra cui l'incenerimento di rifiuti) che la presenza delle diossine nell'ambiente è aumentata notevolmente e velocemente, raggiungendo i livelli più alti nella seconda metà del secolo scorso. In conseguenza di tale incre-

mento i Paesi occidentali hanno messo in atto una serie di misure rigorose per la riduzione della formazione di diossine, soprattutto per quanto riguarda il controllo dell'incenerimento di rifiuti industriali, urbani e ospedalieri, un tempo principale fonte di immissione di diossine nell'ambiente. L'insieme di queste azioni ha portato a una notevole diminuzione dei livelli ambientali e delle concentrazioni rilevate nell'essere umano. Oggi le diossine sono introdotte nell'ambiente soprattutto in conseguenza di processi di combustione incontrollata come l'incenerimento dei rifiuti delle attività agricole e del giardinaggio, gli incendi boschivi o gli incendi di siti industriali. La struttura chimica di base comune a tutte e due le famiglie di composti è costituita da due anelli aromatici clorurati legati fra loro da un anello centrale su cui sono presenti uno (furani) o due (diossine) atomi di ossigeno. Ciò che rende differenti i 210 composti (o "congeneri") è il numero (da 1 a 8) e la posizione sulla molecola degli atomi di cloro; entrambe queste caratteristiche sono molto importanti in quanto influiscono notevolmente sulle proprietà chimico-fisiche e tossicologiche dei congeneri. Le caratteristiche chimico-fisiche variano con il grado di clorurazione: all'aumentare del numero di atomi di cloro diminuisce la solubilità in acqua (molto bassa anche per i basso clorurati) e aumenta la solubilità nei grassi. Tutti i congeneri hanno inoltre una bassa tensione di vapore, un alto punto di fusione, una notevole resistenza ai processi di degradazione e lunghe emivite nell'ambiente. Queste proprietà rendono PCDD e PCDF contaminanti organici persistenti. Dall'ambiente PCDD e PCDF possono entrare nelle catene alimentari e raggiungere l'uomo. L'esposizione a tali sostanze può coinvolgere l'uomo in un'ampia gamma di effetti tossici, la cui natura e intensità sono notevolmente influenzate dal numero e dalla posizione degli atomi di cloro all'interno delle molecole.

Tra i duecentodieci congeneri che compongono il gruppo delle PCDD e dei PCDF, solo diciassette (quelli con gli atomi di cloro nelle posizioni 2, 3, 7, e 8 degli anelli aromatici) hanno un interesse tossicologico importante a causa del loro potenziale cancerogeno e dei possibili effetti sulla riproduzione e sul sistema immunitario.

Per quanto riguarda le PCDD, i due principali meccanismi proposti per spiegarne la formazione durante l'incenerimento dei rifiuti solidi urbani sono la pirosintesi (o meccanismo precursore) e la sintesi *de novo*. Entrambi possono verificarsi in modo simultaneo e/o indipendente.

La pirosintesi presuppone che le PCDD si formino dalla policondensazione dei precursori (poli-clorobifenili, policlorobenzoni), che si formano a loro volta ad una temperatura di circa 1000°C.

La sintesi *de novo*, invece, implica la presenza di carbonio in fase solida e di O₂ e avviene a temperature comprese tra i 200 e i 400°C.

La mancanza di ossigeno nei reattori di pirolisi, il contenuto molto basso di cloro nella biomassa e il fatto che i precursori di formazione delle PCDD dovrebbero essere generati a temperature elevate di circa 1200°C, potrebbe spiegare perché è difficile trovare riscontro della presenza di PCDD e PCDF nel biochar.

1.4.3 *Metalli Pesanti*

Rifiuti organici (ad esempio fanghi di depurazione, scarti di concerie ecc.) sono noti per contenere generalmente alti livelli di metalli leggeri e pesanti, che rimangono nel biochar prodotto tramite pirolisi (Chan e Xu, 2009). Briglia e Pritchard (2004) hanno riferito di alte concentrazioni di rame (Cu), zinco (Zn), cromo (Cr) e nichel (Ni) nel biochar prodotto da fanghi di depurazione. Muralidhar (1982) ha da tempo scoperto che il cromo, che rappresenta fino al 2% (del peso totale a secco) di rifiuti da conceria, si trova comunemente nel biochar prodotto a partire da questa tipologia di materiale. D'altra parte, concentrazioni relativamente basse di alluminio (Al), cromo, nichel e molibdeno (Mo) sono state recentemente rilevate in biochar da lettiera avicole, gusci di arachidi e cippato di pino prodotti tra 400 e 500 °C, mentre il biochar da pollina generalmente contiene i più alti livelli di questi metalli (Gaskin et al., 2008).

La concentrazione di metalli nella biomassa di partenza spesso determina il tasso di applicazione sicura per il biochar (McHenry, 2009). I dati preliminari sembrano suggerire che, agli attuali tassi di applicazione ordinaria di biochar, c'è poco rischio ambientale da specie metalliche all'interno del bio-

char, che McHenry (2009) descrive come simile a quello associato all'uso di fertilizzanti convenzionali. Infatti, per contaminanti come zinco, mercurio (Hg), arsenico (Ar), piombo (Pb) e Ni, è probabile che il rischio significativo può essere previsto solo per elevatissimi tassi di applicazione di biochar (> 250 t ha⁻¹) (McHenry, 2009).

Una gamma più ampia di biochar e tipologie di suolo è necessario testare, cosa che indubbiamente farebbe luce sul potenziale di contaminazione del suolo e delle acque da parte dei metalli. Come Collison et al. (2009) hanno notato, la presenza naturale di biochar nel terreno non ha evidenziato effetti diffusi e dannosi sulla qualità ambientale. Tuttavia, la prospettiva di un'ampia e indiscriminata incorporazione di biochar nel terreno, senza una precedente valutazione del rischio completa, costituisce il problema principale di preoccupazione. Questo è particolarmente vero per le unità di pirolisi su piccola scala o isolate che utilizzano le risorse locali di biomassa (per esempio rifiuti forestali e agricoli), che non possono sostenere le necessarie infrastrutture tecnologiche ed economiche per affrontare la questione. Inoltre, è probabile che questi piccoli operatori nelle zone rurali desiderino utilizzare pirolisi a bassa temperatura, riducendo così i costi operativi.

Costoro devono essere però consapevoli che le condizioni di funzionamento di pirolisi non ottimali e l'utilizzo di alcune biomasse di partenza possono non solo ridurre i benefici connessi alla applicazione del biochar, ma anzi aumentare il rischio di contaminazione del terreno e delle acque superficiali e sotterranee.

1.5 APPLICAZIONI ED EFFETTI DEL BIOCHAR NEL SUOLO

1.5.1 Considerazioni generali e tipologie di suolo

L'aggiunta di biochar al suolo altera sia le proprietà chimiche che fisiche di quest'ultimo e ciò dipende da numerosi fattori, quali il tipo di suolo, il tipo di biochar, le condizioni climatiche, il tasso di applicazione e il tempo (Blackwell et al., 2009).

L'applicazione del biochar nel suolo può determinare un incremento sulla produttività agricola, come riportato da molti studi, ma c'è una grande variabilità: non è ancora chiaro con quale tipo di suolo, di biochar e condizione climatica ci sia un aumento o una riduzione sulla produttività. Fattori chiave sono anche la biomassa di partenza, da cui si ottiene il biochar e le condizioni di pirolisi. Il contributo del biochar alla natura fisica del sistema suolo può essere significativo e influenzare la tessitura, la struttura, la porosità e la consistenza attraverso cambiamenti nella superficie specifica, nella distribuzione delle particelle e dei pori, nella densità e nel compattamento. Tutto ciò ha un impatto diretto sulla crescita delle piante, perché la profondità di penetrazione e la disponibilità di aria e acqua da parte delle radici è determinata, in buona parte, dalle caratteristiche fisiche degli orizzonti del suolo. La disponibilità di nutrienti dipende dalle caratteristiche chimico-fisiche come la capacità di scambio cationico (CEC), la ritenzione d'acqua e il pH, e questi cambiamenti influenzano le comunità microbiche che, prosperando meglio, sono in grado di interagire più profondamente con le piante e il biota (Anderson et al., 2011).

Il biochar usato come ammendante può rappresentare una strategia di recupero di suoli degradati o poveri aumentando così la produzione agricola. In generale viene riportato un aumento della produzione di alcune tipologie di suoli: lisciviati, acidi, aridi, o poveri di materia organica; mentre per suoli già produttivi non si ha alcun effetto, oppure le quantità di biochar necessarie per ottenere un effetto risultano troppo elevate, fino ad arrivare a casi di riduzione della produzione o di erosione del suolo per assenza di coesione contro gli agenti atmosferici.

La maggior parte degli studi si riferisce a zone tropicali e desertiche e quindi non possono essere considerati esemplificativi di altre zone climatiche che avranno ciascuna la propria tipologia di suolo.

Le varie tipologie di suolo, infatti, si formano ed evolvono in relazione alla concomitante azione dei fattori pedogenetici:

1. Clima: le variabili climatiche principali, che incidono sulla formazione ed evoluzione del suolo, sono rappresentate dalle precipitazioni e dalla temperatura.
2. Litotipo: la roccia madre, essendo il materiale primario da cui prenderà origine il suolo, assume

grande importanza nella genesi dei vari pedotipi. Tale importanza dipende sia da alcune proprietà fisiche, come ad esempio la permeabilità, che da proprietà mineralogiche, come la composizione chimica. Le rocce madri vengono generalmente distinte in rocce eruttive, rocce sedimentarie e rocce metamorfiche.

3. Morfologia: le diverse conformazioni morfologiche terrestri determinano una sensibile influenza sul comportamento delle acque (infiltrazione o scorrimento), sull'irraggiamento solare (temperatura), sullo sviluppo della vegetazione e, in ultima analisi, sulla pedogenesi.
4. Tempo: la formazione di un suolo richiede tempi storici, quindi, seppur lunghi in confronto alla vita umana, di gran lunga più brevi di quelli necessari al manifestarsi di un evento geo-litologico.
5. Fattori biotici: gli organismi vegetali e animali interagiscono con i processi di decomposizione delle rocce e condizionano i caratteri della formazione del suolo. Tra i fattori biotici rientra anche l'uomo che può considerarsi il più importante tra i fattori della pedogenesi essendo in grado di modificare, in maniera incisiva e radicale, i processi pedogenetici.

Non esiste ancora un sistema tassonomico universalmente accettato, alcune classificazioni sono incomplete perchè si occupano solo dei suoli nazionali e le nomenclature a volte sono ridondanti e complesse risultando di difficile applicazione. Quasi tutte le classificazioni sono in continua evoluzione, per lo più aperte ed in aggiornamento continuo.

Una delle classificazioni più rilevanti nel panorama mondiale è la *World Reference Base For Soil Resources* (WRB) che fornisce un elenco di 30 gruppi pedologici di riferimento (IUSS Working Group WRB, 2006) (tab. 3).

Suoli organici	<i>Histosols</i>
Suoli minerali condizionati dall'influenza antropica	<i>Anthrosols</i>
Suoli minerali condizionati dal materiale parentale	<i>Andosols, Arenosols, Vertisols</i>
Suoli minerali condizionati dalla topografia	<i>Fluvisols, Gleysols, Leptosols, Regosols</i>
Suoli minerali condizionati da età limitata	<i>Cambisols, Umbrisols</i>
Suoli minerali condizionati da clima (sub) tropicale umido	<i>Plinthosols, Ferralsols, Nitisols, Acrisols, Alisols, Lixisols</i>
Suoli minerali condizionati da clima (semi)arido	<i>Solonchaks, Solonetz, Gypsisols, Calcisols, Durisols</i>
Suoli minerali condizionati da clima secco della steppa	<i>Kastanozens, Chernozens, Phaeozems</i>
Suoli minerali condizionati da clima temperato (sub)umido	<i>Luvisols, Albeluvisols, Planosols, Podzols</i>
Suoli minerali condizionati da clima freddo della tundra	<i>Cryosols</i>

Tab. 3
Elenco dei 30 gruppi pedologici di riferimento (WRB-world reference base for soil resources)

Le caratteristiche chimico fisiche dei biochar possono alterare significativamente le proprietà del suolo. È importante quindi considerarle attentamente prima della applicazione del biochar in suolo. Inoltre le caratteristiche dei biochar ne definiscono l'idoneità per una determinata applicazione, così come ne determinano la stabilità e di conseguenza il destino in ambiente (Lehmann, 2007).

1.5.2 Effetti sull'area superficiale e sulla porosità

L'area superficiale del suolo è un importante parametro fisico che controlla funzioni essenziali della fertilità del suolo come la capacità di trattenere acqua e nutrienti, l'aerazione e l'attività microbica (Van Zwieten et al., 2009).

Il miglioramento della produttività agronomica di suoli ammendati con biochar potrebbe essere collegata ad un'area superficiale maggiore del mix biochar-suolo. La grande area superficiale del biochar fornisce spazio per la formazione di legami e complessi di cationi e anioni con metalli ed elementi del suolo sulla sua superficie e ciò migliora la capacità di ritenzione di nutrienti del suolo (Atkinson C.J., 2010).

Mentre esistono numerosi studi che riportano valori di area superficiale per quanto riguarda biochar pirolizzati da differenti biomasse sotto condizioni diverse di pirolisi, ci sono solo pochi dati disponibili riguardo l'area superficiale di suoli ammendati con biochar. Comunque, l'aggiunta di biochar può far aumentare di oltre 4.8 volte in più il valore di area superficiale rispetto a suoli adiacenti (Liang B., 2006). Uno studio a lungo termine di incubazione in colonna ha indicato un aumento di area superficiale specifica di un suolo argilloso da 130 a 150 m²g⁻¹ grazie all'aggiunta di biochar da legno di latifoglie miste ad un tasso di applicazione da 0 a 20 gkg⁻¹ (Laird D.A., 2010).

Inoltre ci possono essere altri fattori associati all'alta area superficiale come la porosità totale che gioca un ruolo importante alterando le proprietà del suolo con biochar.

La mesoporosità può aumentare significativamente a spese dei macropori in suoli ammendati con biochar da rifiuto comparato al controllo, con un effetto maggiore collegato ad un tasso di applicazione biochar più frequente (Jones B.E.H., 2010).

Allo stato attuale è disponibile un numero limitato di dati per investigare i meccanismi che stanno alla base del cambiamento nell'area superficiale e nella porosità anche se miglioramenti dovuti all'aggiunta di biochar sono indicati nella tabella 4.

Soil type	Biochar type	Study type (Scale)	Rate of biochar application % (g g ⁻¹)	SA (m ² g ⁻¹)	Porosity (%)
Residue sand	Municipal green waste, 450 °C	Laboratory	0	-	0.46
			2.6	-	0.48
			5.2	-	0.51
Clarion fine loamy	Mixed hardwoods (Oak: <i>Quercus spp.</i> , Hickory: <i>Carya spp.</i>), 500 °C	Laboratory	0	130	-
			0.5	133	-
			1.0	138	-
			2.0	153	-
Sandy soil	Jarrah woods (<i>Eucalyptus marginata</i>), 600 °C	Greenhouse	0	1.3	56.1
			0.45	2.7 ¹	57.6
			2.27	8.4 ¹	62.1
Silt loam	Birch (<i>Betula pendula</i>), 400 °C	Field	0	-	50.9
			1.2	-	52.8

¹ Theoretical estimation, calculated based on the data acquired by personal communication.

Tab. 4

Impatto del biochar sull'area superficiale e porosità su suoli ammendati (tasso 0 rappresenta il controllo o suolo non ammendato con biochar) (Mukherjee A., 2013)

1.5.3 Effetti sul peso specifico secco, sull'aggregazione del suolo e sulla resistenza alla penetrazione

A differenza di quanto concerne l'area superficiale, ci sono diversi esperimenti sia in campo che in laboratorio sulla misura del peso specifico secco (*bulk density-BD*) di suoli ammendati con biochar. L'applicazione di biochar può far diminuire il BD dei suoli (Chen H.X., 2011).

Circa il 2% (w/w) di tasso di aggiunta di biochar sembra sufficiente a diminuire il BD dei suoli (tabella 5), comunque, in alcuni casi il BD può aumentare nel tempo grazie alla compattazione durante fenomeni di lisciviazione (Rogovska N., 2011).

Un esperimento condotto da Mankasingh et al. (2011) mostra che il BD del suolo è diminuito da 1.66 a 1.53 g cm⁻³, e un altro ancora mostra valori ancora più bassi rispetto ai controlli senza biochar in uno studio di incubazione in colonna (Laird D.A., 2010).

In uno studio condotto in campo, l'applicazione di biochar come ammendante ha diminuito il BD dell'orizzonte da 0 a 7.5 cm del 4.5 e 6.0 %, rispettivamente per un tasso di applicazione di 0.23 kg m⁻² e 0.45 kg m⁻² (Chen H.X., 2011).

Quindi, la diminuzione del peso specifico secco del suolo ammendato con biochar potrebbe essere uno degli indicatori di miglioramento della struttura del suolo o aggregazione e dell'areazione, e potrebbe essere suolo-specifico. Più grande è la porosità totale (micro- e macro-pori), più elevata è la qualità fisica del suolo perchè i micropori sono coinvolti nell'adsorbimento molecolare e nel trasporto, mentre i macropori incidono sull'areazione e sull'idrologia (Atkinson C.J., 2010).

Chiaramente, ammendando gli orizzonti superficiali si può far diminuire il BD, comunque, ci sono pochi dati per quanto riguarda la rilevanza di questo effetto per gli strati più profondi.

Soil type	Biochar type	Study type (Scale)	Rate of biochar application % (g g ⁻¹)	Bulk density (g cm ⁻³)
Norfolk loamy sand: E	Pecan (<i>Carya illinoensis</i>) shells, 700 °C	Laboratory	0	1.52
			2.1	1.45 ¹ , 1.52 ²
Norfolk loamy sand: E and Bt			0	1.34
			2.1	1.36 ¹ , 1.34 ²
Hydroagric stagnic anthrosol	Wheat (<i>Triticum spp.</i>) straw, 350–550 °C	Field	0	0.99, 0.94 ³
			1.1	0.96, 0.91 ³
			2.2	0.91, 0.86 ³
			4.4	0.89, 0.88 ³
Residue sand	Municipal green waste, 450 °C	Laboratory	0	1.65
			2.6	1.55
			5.2	1.44
Clarion fine loamy	Mixed hardwoods, 500 °C	Laboratory	0	1.21, 1.34 ⁴
			0.5	1.10, 1.24 ⁴
			1.0	1.08, 1.24 ⁴
			2.0	1.08, 1.24 ⁴
Norfolk loamy sand	Peanut (<i>Archis hypogaea</i>) hull, 400 °C	Laboratory	0	1.41 ⁵ , 1.57 ⁶
			2.0	1.38 ⁵ , 1.55 ⁶
	Peanut hull, 500 °C		2.0	1.38 ⁵ , 1.61 ⁶
	Pecan (<i>Carya illinoensis</i>) shell, 350 °C		2.0	1.39 ⁵ , 1.51 ⁶
	Pecan shell, 700 °C		2.0	1.49 ⁵ , 1.56 ⁶
	Poultry (<i>Gallus domesticus</i>) litter, 350 °C		2.0	1.38 ⁵ , 1.57 ⁶
	Poultry litter, 700 °C		2.0	1.40 ⁵ , 1.63 ⁶
	Switchgrass (<i>Panicum virgatum</i>), 250 °C		2.0	1.32 ⁵ , 1.43 ⁶
	Switchgrass, 500 °C		2.0	1.26 ⁵ , 1.50 ⁶

¹ measured after 44 days; ² measured after 94 days; ³ measured after one year; ⁴ measured after 15 months;

⁵ measured after 28 days leaching; ⁶ measured after 118 days leaching; ⁷ measured after 28 days leaching;

⁸ measured after 118 days leaching.

Tab. 5

Impatto dell'applicazione di biochar sul peso specifico secco del suolo (Mukherjee A., 2013)

Sono scarsi i risultati riguardo la stabilità di aggregazione e la resistenza alla penetrazione del biochar-suolo. Inoltre, dove esistono dati in materia, questi sono contrastanti. Esempi dei pochi studi che hanno investigato l'aggregazione del suolo con biochar, tutti condotti in laboratorio o in serra, sono mostrati nella tabella 6.

Soil type	Biochar type	Study type (Scale)	Rate of biochar application % (g g ⁻¹)	Aggregation (%)	Penetration resistance (MPa)
Norfolk loamy sand: E	Pecan shells, 700 °C	Laboratory	0	14.3	1.19 ¹ , 0.80 ²
			2.1	12.9	1.27 ¹ , 0.88 ²
Norfolk loamy sand: E and Bt			0	27.3	0.71 ¹ , 0.76 ²
			2.1	20.9	0.88 ¹ , 0.94 ²
Norfolk loamy sand: Ap	Pecan shells, 700 °C	Laboratory	0	9.95, 13.0 *	1.04 ¹ , 1.1 ²
			0.5	9.53, 12.7 *	0.96 ¹ , 1.15 ²
			1.0	10.7, 12.3 *	1.03 ¹ , 1.02 ²
			2.0	9.23, 11.8 *	0.82 ¹ , 0.87 ²
Albic Luvisol	Hydrochar, 220 °C	Laboratory	0	49.8	-
			5	69.0	-
			10	65.1	-
		Greenhouse	0	10.3	-
			5	20.8	-
			10	33.8	-

¹ measured after 44 days; ² measured after 96 days; * with switchgrass addition.

Tab.6

Impatto del biochar sull'aggregazione del suolo e sulla resistenza alla penetrazione (Mukherjee A., 2013)

Questi studi suggeriscono che le radici delle piante e funghi micorrizici, che erano assenti in studi di laboratorio, hanno un ruolo importante nell'aggregazione del suolo (George C., 2012).

Di contro, con o senza mescolare gli orizzonti Bt ed E con gusci di noce americana (*Carya illinoensis*), l'aggiunta di biochar ha diminuito l'aggregazione (tab. 6) comparato al controllo (Busscher W.J., 2011).

Mescolando il biochar da noce americana con panico verga si è aumentata l'aggregazione, comunque, l'effetto è stato significativamente minore quando il suolo è stato trattato solo con biochar e non mescolandolo con il panico verga (Busscher W.J., 2011).

Questo trend indica che un effetto positivo sulla stabilità di aggregazione del suolo richiede la presenza di un substrato (es., panico verga) insieme al biochar come ammendante.

In definitiva, il peso specifico secco potrebbe non cambiare e la percentuale di aggregazione potrebbe diminuire con l'aggiunta di biochar (tab. 5 e 6).

La compattazione del suolo non verrebbe diminuita dall'addizione di biochar nel breve periodo ma potrebbe variare a lungo termine come risultato dell'invecchiamento del biochar con conseguente cambiamento di proprietà (Mukherjee A., 2011). Assieme al tempo, anche il tipo di suolo è un importante fattore perchè un altro studio ha riportato una riduzione della resistenza alla penetrazione con l'applicazione dello stesso biochar in differenti tipologie di suolo (Norfolk argilloso sabbioso Ap) (Busscher W.J., 2011). Gli effetti dell'uso di biochar come ammendante sull'aggregazione del suolo e sulla resistenza alla penetrazione richiedono ulteriori ricerche includendo variazioni nella tipologia di biochar e di suolo.

1.5.4 Effetti sulle proprietà idrologiche

Le proprietà idrologiche del suolo (ad es. contenuto di umidità, capacità di ritenzione idrica, conduttività idraulica, tasso di infiltrazione d'acqua) sono invariabilmente collegate all'area superficiale, la porosità, *bulk density* e alla stabilità di aggregazione. Numerosi studi riportano alterazioni nella capacità di ritenzione idrica in suoli ammendati con biochar (Uzoma K.C., 2011) con tasso di applicazione di biochar inferiore al 0.5% (g g⁻¹) sufficiente a migliorare la ritenzione idrica (tab. 7).

Soil type	Biochar type	Study type (Scale)	Rate of biochar application (% (g g ⁻¹))	Water holding capacity (g cm ⁻³)
Residue sand	Municipal green waste, 450 °C	Laboratory	0	0.11
			2.6	0.16
			5.2	0.20
Norfolk loamy sand: Ap	Pecan shells, 700 °C	Laboratory	0	0.64
			0.5	0.59
			1.0	0.60
			2.0	0.66
Sandy loam	Ponderosa pine (<i>Pinus ponderosa</i>), 450 °C	Laboratory	0	11.9
			0.5	12.4
			1.0	13.0
			5.0	18.8
Norfolk loamy sand	Peanut hull, 400 °C	Laboratory	0	2.87 ¹ , 7.68 ² , 8.14 ³ , 7.71 ⁴
			2.0	3.97 ¹ , 8.08 ² , 8.59 ³ , 8.22 ⁴
			2.0	4.26 ¹ , 8.12 ² , 8.64 ³ , 8.47 ⁴
	Peanut hull, 500 °C		2.0	4.26 ¹ , 8.12 ² , 8.64 ³ , 8.47 ⁴
			2.0	3.30 ¹ , 7.78 ² , 8.27 ³ , 8.03 ⁴
	Pecan shell, 350 °C		2.0	3.61 ¹ , 8.08 ² , 8.30 ³ , 8.03 ⁴
			2.0	4.56 ¹ , 8.23 ² , 8.62 ³ , 8.31 ⁴
	Poultry litter, 350 °C		2.0	4.51 ¹ , 8.21 ² , 8.64 ³ , 8.26 ⁴
			2.0	3.37 ¹ , 7.73 ² , 8.14 ³ , 7.70 ⁴
	Switchgrass, 250 °C		2.0	4.29 ¹ , 8.12 ² , 8.35 ³ , 8.12 ⁴
			2.0	5.37 ⁵ , 11.99 ⁶ , 12.44 ⁷ , 12.50 ⁸
	Declo silt loam		Switchgrass, 250 °C	2.0
2.0		5.58 ⁵ , 12.10 ⁶ , 12.25 ⁷ , 11.92 ⁸		
Warden silt loam	Switchgrass, 250 °C	0	5.10 ⁵ , 12.14 ⁶ , 12.51 ⁷ , 12.26 ⁸	
		2.0	5.38 ⁵ , 12.23 ⁶ , 12.29 ⁷ , 12.06 ⁸	
		2.0	5.48 ⁵ , 12.06 ⁶ , 12.11 ⁷ , 11.68 ⁸	
Compacted sandy loam	Hardwood, 400 °C	Laboratory	0	1.73
			1	1.71
			2	1.73
			5	1.69
			10	1.63
Silt loam	Birch, 400 °C	Field	0	0.49
			1.2	0.54

¹ measured after 28 days leaching; ² measured after 63 days leaching; ³ measured after 90 days leaching; ⁴ measured after 118 days leaching; ⁵ measured after 34 days leaching; ⁶ measured after 62 days leaching; ⁷ measured after 92 days leaching; ⁸ measured after 127 days leaching.

Tab. 7
Impatto del biochar sulla capacità di ritenzione idrica del suolo (Mukherjee A., 2013)

Comunque, la variazione è specifica per la tipologia di biochar e suolo utilizzato nella sperimentazione. Ad esempio l'applicazione di biochar prodotto da *Robinia pseudoacacia* ha aumentato la capacità di disponibilità d'acqua del 97% e il contenuto d'acqua di saturazione del 56% ma riducendo la conduttività idraulica (Uzoma K.C., 2011).

Come già riportato, l'entità dell'effetto sulla ritenzione idrica è strettamente collegata alla tessitura del suolo. Tryon (1948) ha riportato nel suo studio che l'applicazione del biochar ha aumentato la capacità di disponibilità d'acqua in un suolo sabbioso, non ha mostrato effetti in suolo limoso, e diminuito l'umidità in un suolo argilloso.

Poichè la ritenzione di umidità del suolo può essere migliorata solo in suoli con tessitura grossolana, una scelta accurata della combinazione biochar/soilo deve essere presa in considerazione (Glaser B., 2002).

1.5.5 Effetti sulla disponibilità e lisciviazione dei nutrienti

Il valore nutritivo del biochar può essere rappresentato dalla cessione diretta dei nutrienti oppure da una cessione indiretta, rendendo disponibili per le piante quelli che già sono presenti nel suolo o riducendone la lisciviazione. Tuttavia un punto importante è che non tutti gli elementi contenuti nel biochar, specialmente i nutrienti come N e S, riflettono la reale disponibilità di questi per la pianta (Chan et al., 2009).

Le conoscenze attuali sugli effetti nella produttività agricola connessa all'applicazione del biochar sono limitate per le zone tropicali e secche. La maggior parte delle ricerche pubblicate sulla risposta delle colture riguardano le foreste tropicali e i climi della Savana in sud America e nel sud est dell'Asia.

L'aumento principale di produttività è documentato per sistemi tropicali e irrigati su suoli acidi e/o altamente degradati a causa delle abbondanti precipitazioni (Blackwell et al., 2009).

L'azoto è il nutriente che principalmente manca per la crescita delle piante nelle zone fredde e temperate. Nel suolo l'azoto si trova principalmente in forme organiche complesse, e per essere assorbito dalle piante, deve mineralizzare e quindi: ammonificare (NH_4^+) e poi nitrificare (NO_3^-). Dai dati disponibili in letteratura, che riportano le quantità dei nutrienti forniti direttamente dal biochar, si evince che l'azoto in forma minerale (NH_4^+ e NO_3^-) è scarso e non è ancora ben chiaro se, e in quale entità, il biochar riesca a rendere direttamente disponibile per le piante il suo contenuto totale di azoto. Questa disponibilità, che include il tasso di mineralizzazione dell'azoto organico presente nel biochar, ne determina il valore come ammendante in grado di rilasciare l'azoto nel suolo, in modo continuo e prolungato.

Un parametro che viene usato per indicare l'abilità di un suolo di mineralizzare e rilasciare azoto inorganico, è il rapporto molare carbonio/azoto (C/N) della parte organica del suolo stesso. Valori superiori a 20 di questo rapporto indicano che viene favorita l'immobilizzazione dell'azoto da parte dei microorganismi, rendendolo non disponibile per le piante (Chan et al., 2009). I valori del rapporto C/N per il biochar variano da 7 a 400 con una media di 67. Considerando la soglia di 20 si può dedurre che la maggior parte dei biochar induca l'immobilizzazione del N contenuto nel biochar stesso, non rendendolo disponibile per le piante.

Considerando che i tassi di mineralizzazione sono molto lenti, data la notevole stabilità del biochar nel suolo, i benefici derivanti dal rilascio di azoto in seguito alla decomposizione, si prospettano essere minimi nei periodi di tempo rilevanti per la crescita delle piante. (Chan et al., 2009).

Il biochar può comunque fornire nutrienti diversi dall'azoto, per esempio secondo Lehmann et al., (2002) l'aumento del 43% della biomassa fogliare registrato sui fagioli dall'occhio (*Vigna unguiculata*), con l'uso di biochar prodotto da foreste secondarie in due tipologie differenti di suoli (anthrosol con 85% sabbia, e ferralsol con 65% argilla), è dovuto all'apporto diretto di nutrienti, quali K, P, C, Zn e Cu.

Sembra quindi che il biochar possa apportare direttamente nutrienti, ma solo in minima parte (Glaser et al., 2002).

Per quanto riguarda la lisciviazione, questo fenomeno può essere definito come quello attraverso il quale nutrienti mobili in soluzione vengono rimossi da una porzione di suolo per mezzo dell'acqua che percola, e depositati laddove il moto delle acque cessa. I nutrienti assorbiti sui colloidi e sulle particelle di suolo possono venire trasportati in orizzonti più profondi. Una migrazione degli anioni deve essere accompagnata da una migrazione dei cationi (per mantenere l'elettroneutralità), quindi una perdita di NO_3^- (derivante per esempio da fertilizzante) e sostanza organica (che è carica negativamente) è accompagnata dalla perdita di cationi come Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} ecc. Il problema della lisciviazione non è solo legato alla perdita considerevole di nutrienti per le piante, ma anche alla conseguente contaminazione dei corpi idrici per l'eccessivo apporto di nutrienti derivanti dall'uso di fertilizzanti che vengono lisciviati (Major et al., 2009).

Yao et al., (2012) in uno studio sulla capacità di ritenzione dei nutrienti del biochar in suolo sabbioso (94% sabbia, 3% limo, 3% argilla e 1% materia organica) hanno rilevato che il biochar prodotto da Palissandro brasiliano, ed un altro dai gusci di arachidi, riescono a trattenere i nitrati rispettivamente del 34,3% e 34,0% in più rispetto ad un suolo senza biochar, mentre per l'ammonio hanno registrato una ritenzione di 14,4% e 34,7% in più, sempre rispetto al controllo. Secondo questo studio il biochar da Palissandro brasiliano è in grado di trattenere nel suolo il 20,6% dei fosfati dal percolato, d'altro canto invece, il biochar da gusci di arachidi ne favorisce la lisciviazione del 39,1%, rispetto a un suolo senza questo biochar.

Anche Ghosh et al., (2012) sostengono, con i risultati di una sperimentazione in suolo con biochar da segatura di legni di mangrovia, che l'aggiunta di biochar produca un aumento significativo dell'azoto nel suolo, in particolare per biochar triturato rispetto al grossolano. L'aggiunta di biochar nel suolo ha provocato d'altro canto un aumento del fosfato estraibile, in modo proporzionale alla quantità di biochar immesso.

Studi recenti hanno dimostrato che l'aggiunta di biochar nel suolo può influire direttamente sulla trasformazione dell'azoto (De Luca et al., 2009). Secondo lo studio di Nelissen et al., (2012) sul ciclo dell'azoto, il biochar da mais (in particolare quello ottenuto a bassa temperatura, es. 350°C) in suoli limosi-sabbiosi (82% sabbia, 13% limo, 5% argilla, 0,7% C e pH=4,98) e poveri di carbonio, può favorirne la mineralizzazione, in quanto i microrganismi del suolo responsabili della nitrificazione, sono stimolati a degradare la sostanza organica inerte in presenza del biochar. L'incremento dei nutrienti e della produttività agricola in suoli sabbiosi tipici delle aree geografiche soggette a forti precipitazioni e quindi lisciviazione dei nutrienti, viene riportato anche da Glaser et al., (2002).

I dati di letteratura suggeriscono che il biochar applicato al suolo ha un effetto sulla lisciviazione dei nutrienti attraverso alcuni meccanismi, per esempio la ritenzione dell'acqua nella zona radicale, attraverso il legame diretto o per assorbimento dei nutrienti, oppure attraverso l'interazione con altri costituenti del suolo. Questi meccanismi potrebbero sia aumentare che ridurre la lisciviazione, comunque i dati suggeriscono che il biochar può assorbire molecole organiche ed inorganiche e perciò potrebbe trattenere nutrienti contro la perdita per lisciviazione (Major et al., 2009).

1.5.6 *Effetti sulla componente biotica*

La struttura porosa del biochar, la sua elevata superficie specifica e la sua capacità di assorbire sostanza organica, gas e nutrienti inorganici, può fornire un habitat adatto alla colonizzazione, alla crescita e alla riproduzione di microrganismi, quali batteri, actinomiceti e micorrize arbuscolari (Thies et al., 2009) (Fig. 3).

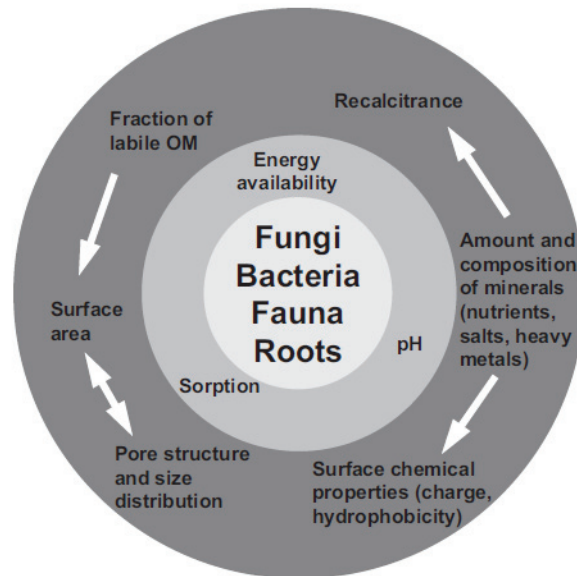


Fig. 3

Panoramica sulle connessioni tra le proprietà primarie del biochar (cerchio più esterno), i processi del suolo che possono influenzare (cerchio intermedio) e il biota pedologico (cerchio interno) (Lehmann J. et al., 2011)

Questi organismi hanno spesso un impatto positivo sulla nutrizione delle piante, per esempio mediante la mineralizzazione dei nutrienti o migliorando l'apporto di fosforo e magnesio mediante le ife dei funghi (Major et al., 2009). Gli AMF (*Arbuscolari Micorrizza Funghi*), sono funghi che instaurano una relazione simbiotica tra il micelio sotterraneo e le radici, o più raramente con altri organi della pianta (Fig. 4). In questa relazione di simbiosi il fungo riceve dalla pianta superiore i carboidrati che non è in grado di sintetizzare e fornisce alla stessa azoto dal terreno (la pianta da sola non è in grado di assorbirlo) e la capacità di acquisire più facilmente sali minerali e acqua oltre a fabbricare particolari sostanze di accrescimento utili ad entrambi i simbionti. Questi funghi simbiotici delle piante sono ubiquitari nel suolo e colonizzano molte delle più importanti specie coltivate come mais, riso, grano ecc.

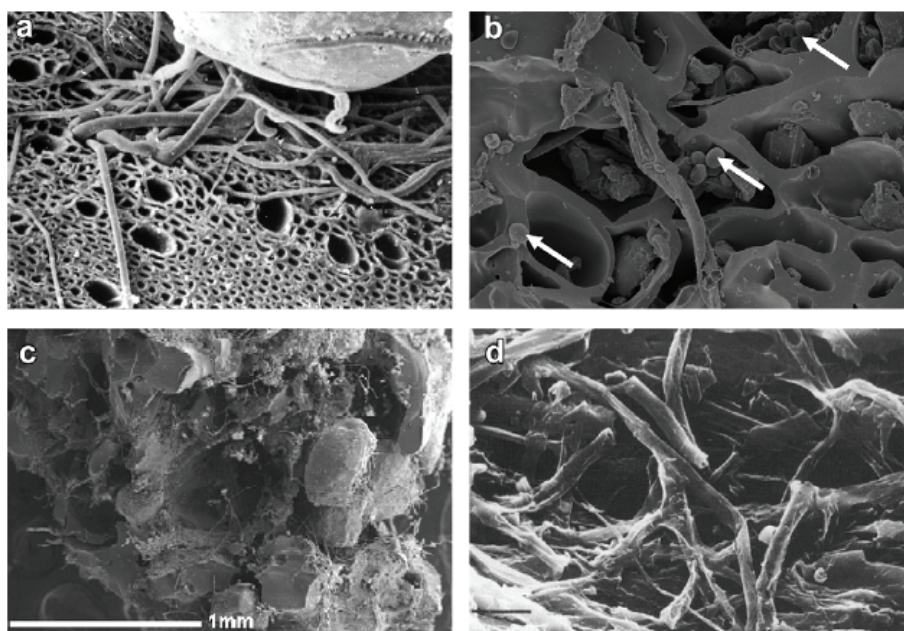


Fig. 4

Osservazione dell'associazione spaziale e della colonizzazione del biochar da parte di microorganismi: (a) biochar con ife fungine; (b) biochar con microorganismi nei pori; (c) char da incendio di una foresta di 100 anni; (d) char da incendio di foresta di più di 350 anni fa. (Lehmann e Joseph, 2009, Hockaday et al., 2007, Jin, 2010, Zackrisson et al., 1996)

Anderson et al., (2011), in uno studio sui cambiamenti della comunità batterica indotti dal biochar e le implicazioni nei cicli di C, N e P, sostengono che la struttura, la crescita e le funzioni delle comunità batteriche coinvolte nei cicli di questi nutrienti, sono favorite dalla presenza del biochar. Dallo studio risulta infatti che si ha un aumento dell'abbondanza relativa di alcuni generi come *Bradyrhizobiaceae* e *Hyphomicrobiaceae*. I *Bradyrhizobiaceae* sono batteri fissatori N₂. I microorganismi diazotrofi fissano N₂ mediante nitrogenasi che non avviene in presenza di O₂ e richiede Fe e Mo.

Grazie alla simbiosi col biochar i batteri che intervengono nel ciclo dell'azoto riducono il flusso di N₂O in atmosfera (Anderson, 2011), che è un potente gas serra: 298 volte maggiore della CO₂ (IPCC, 2006). Dall'analisi degli effetti che il biochar produce sull'abbondanza e attività di diversi tipi di micorrizze riassunti in letteratura (Warnock et al., 2007), ne risulta che c'è un aumento della colonizzazione delle radici delle piante in molti studi.

Altri organismi come i lombrichi, sono considerati parte essenziale della fauna del suolo e la loro presenza è ritenuta un indicatore della salute del suolo stesso (Edwards, 2004). Come risultato sono stati spesso utilizzati per avere una misura dei composti organici ed inorganici biodisponibili (Parrish et al., 2005). Busch et al. (2011) hanno studiato il comportamento di due lombrichi del genere *Eisenia* in suolo ammendato con biochar, rilevando che i vermi hanno preferito in 3 cicli di sperimentazione su 4, il suolo ammendato con biochar.

Il biochar usato è stato ottenuto da gusci di arachidi pirolizzati a 498°C (C=71,6%; N=1,84%; pH=8,1 in H₂O; IPA, PCB e diossine sotto i limiti critici o rilevabili) ed è stato mescolato al suolo a concentrazioni di 0 (controllo), 10 e 30 t ha⁻¹ più un controllo positivo con acido borico; la quantità d'acqua aggiunta è stata calcolata al 60% della ritenzione idrica. La sperimentazione ha previsto contenitori divisi a metà da un separatore che consentiva lo spostamento dei vermi da una metà all'altra del contenitore. In metà è stato messo il controllo e nell'altra la miscela, i vermi sono quindi stati posti in prossimità della separazione. Dopo due giorni è stato valutato lo spostamento dei vermi identificando un significativo spostamento di questi in direzione del suolo ammendato con biochar.

Il biochar sembra possa fornire per molti organismi condizioni ottimali alla proliferazione e crescita, come detto per i funghi arbuscolari per lombrichi e batteri. Tra gli organismi favoriti vi possono essere anche patogeni anche se ci sono pochissimi studi sull'interazione tra piante biochar e patogeni (Thies et al., 2009).

1.5.7 *Effetti su eventuali contaminanti presenti nel suolo*

Il carbone è stato per lungo tempo utilizzato per rimuovere impurità dai sistemi idrici (Ippolito et al., 2012b). Partendo da questo ragionamento la ricerca sul biochar si è estesa per comprendere il potenziale uso dello stesso per sequestrare dal terreno metalli pesanti, fosforo e antibiotici.

Uchimiya et al. (2012) hanno scoperto che per la stabilizzazione nel biochar, i metalli necessitano di interagire con il biochar per via elettrostatica, scambio ionico, assorbimento tramite scambio di protoni o specifici sistemi di legame. Gli Autori hanno studiato l'assorbimento del Pb, Cu, Ni e Cd da un Ultisol della Carolina del Sud ammendato con differenti biochar (tra cui pollina, lettiera da allevamento di tacchini, scarti di produzione casearia, deiezioni suine) pirolizzati ad una temperatura di 350 o 700°C.

L'applicazione dei biochar ha rafforzato la ritenzione di metalli pesanti misurata come concentrazione dei metalli pesanti in equilibrio con gli estratti acquosi, che erano sostanzialmente inferiori (per il Pb, Cu e Cd) o leggermente inferiore (per il Ni) rispetto alle concentrazioni degli stessi negli estratti acquosi dei terreni di controllo (vale a dire, senza l'aggiunta di biochar).

Anche se l'assorbimento da parte del biochar è stato prima attribuito ai fosfati e carbonati (Cao et al., 2009), queste relazioni non potevano spiegare l'assorbimento del Pb in questo studio. L'assorbimento del piombo è apparso essere correlato positivamente con la temperatura di pirolisi, come funzione sia del pH aumentato e sia dei complessi donatore-accettore di elettroni con le fasi aromatiche condensate.

L'assorbimento del Cd non ha mostrato un chiaro effetto della temperatura di pirolisi, mentre il nickel, il metallo meno impattato dall'applicazione di biochar, potrebbe essere influenzato dalla competizione con metalli maggiormente trattenuti come il rame.

Ippolito et al. (2012b) hanno osservato che il biochar è in grado di sequestrare più di 42 mg di Cu per kg di biochar da soluzioni acquose con dipendenza del pH iniziale della soluzione.

Simili alle scoperte di Uchimiya et al. (2012), gli Autori hanno mostrato che il rame è stato assorbito come fase organica ai valori di pH più bassi. A valori maggiori, il rame è stato trattenuto attraverso interazione con ligandi organici sulla superficie del biochar e tramite precipitazione come carbonato separato e fasi minerali di ossidi.

Buss et al. (2012), nel loro esperimento, hanno fatto crescere piante di *Chenopodium quinoa* Willd. in un suolo sabbioso a contatto con 0, 50, o 200 mg Cu kg⁻¹ e 0, 2, o 4% in peso di biochar da materiale legnoso di disboscamento. Senza biochar le piante hanno mostrato sintomi gravi di stress a 50 mg Cu kg⁻¹ e morte completamente a 200 mg Cu kg⁻¹. Aumentando la quantità di biochar si è ridotto lo stress alle piante e il loro assorbimento di rame.

Gli autori hanno riportato che il miglioramento nella crescita delle piante è correlato alla ridotta tossicità del rame che si è legato ai gruppi carbossilici del biochar caricati negativamente e all'aumento del pH del suolo.

Per quanto riguarda le deiezioni animali, queste possono contenere una considerevole quantità di antibiotici non metabolizzati (fino ad oltre il 90% dell'antibiotico fornito all'animale può essere espulso tramite deiezione; Sarmah et al., 2006), ed il loro utilizzo come ammendante può portare allo sviluppo di batteri nel suolo resistenti agli antibiotici. Jeong et al. (2012) hanno scoperto che l'applicazione di biochar sia da legno duro che morbido ha significativamente ridotto la mobilità nel suolo della tilosina (un comune antibiotico veterinario). La quantità di tilosina lisciviata da suoli di foresta e di campi di mais è diminuita all'aumentare del biochar (dallo 0 al 10% in peso) utilizzato come ammendante. Inoltre la quantità di tilosina rigettata dagli stessi suoli è stata ulteriormente ridotta aumentando il tasso di applicazione del biochar, probabilmente dovuta ai forti legami creati sulla superficie o all'intrappolamento della tilosina all'interno delle particelle di biochar (Spokas et al., 2009).

I risultati qui sopra elencati sono solo alcuni esempi degli studi pubblicati in letteratura, ma suggeriscono che il biochar può diventare un valore aggiunto nella bonifica di metalli biodisponibili e di antibiotici nei suoli.

1.5.8 Effetti sull'emissione di gas serra

Le emissioni di gas ad effetto serra (*greenhouse gases*-GHG) da suoli ammendati con biochar dipende dal tipo di biomassa da cui si è ricavato il biochar, dalle condizioni di pirolisi (temperatura, tempo di residenza), tipologia e proprietà fisiche del suolo (Rondon M. et al., 2005, Van Zwieten L., 2009, Zhang A.F. et al., 2012, Jones D.L. et al., 2011, Bruun E.W. et al., 2012). Comunque, l'applicazione del biochar può essere ininfluenza o persino aumentare in alcuni casi questo tipo di emissioni (Zimmerman A.R., 2010, Wardle D.A. et al., 2008).

Risultati così contraddittori sulle emissioni di GHG da studi di laboratorio (Singh B.P. et al., 2010, Rondon M. et al., 2005, Spokas K.A., 2009) contro osservazioni in campo (Scheer C. et al., 2011) indicano che bisogna fare attenzione ad interpretare ed estrapolare risultati di esperimenti di incubazione in laboratorio rapportati ad una scala più grande che è quella del campo (Scheer C. et al., 2011).

Di seguito vengono riportati alcuni risultati sulle emissioni dei più comuni gas ad effetto serra da suoli ammendati con biochar:

- Emissioni di N₂O: alcuni studi condotti in campo e in laboratorio hanno dimostrato una riduzione delle emissioni di N₂O da suoli ammendati con biochar (Zhang A.F. et al., 2012). Per esempio, uno studio condotto su un suolo argilloso ammendato con biochar prodotto da quercia (*Quercus spp.*) e noce (*Carya spp.*) ad una temperatura di 450-500 °C, ha dimostrato una riduzione delle emissioni di N₂O ma un aumento di quelle della CO₂ in un esperimento di incubazione a lungo termine. Questo studio, inoltre, ha indicato una riduzione delle emissioni di N₂O correlata ad un aumento dell'aerazione del suolo (Zhang A.F. et al., 2012). Un altro studio di incubazione con biochar prodotto da legno duro ha dimostrato una riduzione fino al 98% rispetto al controllo delle emissioni di N₂O da un suolo sabbioso ammendato (Case S.D.C. et al., 2012). Anche se la maggior parte degli studi ha documentato una riduzione delle emissioni, esistono alcuni esperimenti in cui da suoli ammendati

con biochar sono aumentate le emissioni di N_2O . Questo fenomeno è stato attribuito nella maggior parte dei casi ad un miglioramento dell'aerazione del suolo che ha stimolato la produzione di N_2O da attività microbica (Case S.D.C. et al., 2012).

- Emissioni di CO_2 e CH_4 : in contrasto con la diminuzione di emissioni di N_2O nella maggior parte dei casi, l'aggiunta di biochar nel suolo può aumentare le emissioni di CO_2 e CH_4 (Rondon M. et al., 2005). Aumenti iniziali nel rilascio di CO_2 sono causati sia da processi biotici che abiotici (Smith J.L. et al., 2010). Liu et al. (2011) hanno riportato che le emissioni di metano e anidride carbonica sono state ridotte del 51% e 91% rispettivamente, quando un suolo coltivato a riso è stato ammendato con biochar di bamboo (*Bambuseae spp.*) e paglia di riso pirolizzato a $600^\circ C$ (Liu Y.X. et al., 2011). In uno studio in campo, le emissioni di metano sono state ridotte da un suolo tropicale acido nelle pianure colombiane orientali ammendato con biochar derivato dall'albero di mango (*Mangifera indica*) (Rondon M. et al., 2006). Spokas et al. (2009) ha osservato una riduzione dell'emissione di CO_2 da un suolo limoso argilloso ammendato con biochar ottenuto da trucioli di legno in confronto al controllo, ad un tasso maggiore del 20% (w/w). Uno studio di incubazione di 100 giorni condotto da Spokas e Reicosky (2009) ha dimostrato riduzione delle emissioni dei tre GHG (N_2O , CH_4 e CO_2) quando tre differenti tipologie di suolo sono state ammendate con 16 tipologie di biochar. Comunque, non sono stati osservati trend consistenti per una correlazione al tipo di suolo e alla tipologia di biochar (Van Zwieten L., 2009).

1.6 SCOPO DELLA TESI

Quello del biochar è un settore emergente con un enorme potenziale di crescita e un suo possibile impiego futuro su macroscale potrà renderlo un importante ammendante del suolo. Un suo utilizzo in maniera "responsabile" richiede però una piena comprensione delle sue proprietà e dei meccanismi che controllano la sua attività nel terreno, che dipendono dalla biomassa di partenza e dalle condizioni di sintesi tramite pirolisi. E' acclarato, infatti, che le condizioni di pirolisi, in particolare la temperatura di processo e il tempo di residenza, determinano biochar con caratteristiche differenti.

In questo studio sono stati prodotti biochar da due diverse tipologie di biomassa residuale con caratteristiche molto diverse e ampiamente disponibili in termini sia quantitativi che logistici (stocchi di mais e pollina). I biochar sono stati sintetizzati a tre diverse condizioni, in termini di temperatura e tempo di residenza.

I biochar sono stati caratterizzati tramite analisi elementare, determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), analisi a livello molecolare mediante pirolisi accoppiata al sistema GC-MS (Py-GC-MS), determinazione del contenuto in acidi grassi volatili (VFA), dell'azoto ammoniacale ($N-NH_4^+$), pH, conduttività elettrica (EC) e capacità di ritenzione idrica.

Lo scopo è stato quello di valutare gli effetti sulla germinazione dei biochar con diverso grado di carbonizzazione provenienti dalla stessa biomassa (sia per quanto riguarda il biochar da stocchi di mais che da pollina).

I biochar sintetizzati sono stati utilizzati per fare due test di germinazione, ovvero valutare l'effetto positivo o negativo, sulla formazione delle prime strutture di crescita delle plantule. Il primo test è stato condotto per valutare l'effetto dei diversi biochar, a concentrazione crescente, sulla germinazione seguendo la metodologia, normata dalla ISO 11269:2012 (per quanto riguarda la scelta delle specie di piante utilizzate), usata da Zakaria et al., (2012) e Mancini E., (2013).

Il secondo saggio di tossicità eseguito è stato quello descritto dalla normativa in materia UNI-11357, valutando l'eventuale effetto di tossicità alla massima concentrazione delle varie tipologie di biochar; ossia nell'ipotesi che il substrato su cui germinano i semi sia costituito completamente da biochar.

CAPITOLO II: MATERIALI E METODI

2.1 MATERIALI

2.1.1 *Biomasse e Biochar*

La fase sperimentale di questo studio è stata effettuata su due tipologie di biochar ottenute dalla pirolisi delle seguenti biomasse fornite da un'azienda agro-zootecnica ravennate:

- Pellet di pollina,
- Pellet di stocchi di mais.

I pellet di stocchi di mais e di pollina sono stati pirolizzati senza che fosse necessario alcun trattamento preliminare.

2.1.2 *Materiale per l'analisi elementare*

Vanadio pentossido (Santis Analytical): catalizzatore per ottenere una miglior identificazione dello zolfo.

2.1.3 *Materiale per la determinazione del pH e umidità*

Taratura con soluzioni tampone: una a pH 4.01 ± 0.01 e l'altra a pH 7.00 ± 0.01 (Hamilton Duracal Buffer).

2.1.4 *Materiale per la determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*

Cicloesano, acetone, acetonitrile, diclorometano, toluene, etil acetato (tutti ultra-purity), e lo standard mix dei deuterati (per USEPA 525) contenente acenaftene-d10, fenantrene-d10 e crisene-d12 alla concentrazione di 500 mg l⁻¹ ognuno dei quali in acetone (Sigma-Aldrich).

Soluzione di IPA MIX contenente naftalene, acenaftilene, acenaftene, fluorene, fenantrene, antracene, fluorantene, pirene, crisene, benzo[a]antracene, benzo[b]fluorantene, benzo[k]fluorantene, benzo[a]pirene, dibenzo[a,h]antracene, indeno[1,2,3-cd]pirene e benzo[ghi]perilene, certificata alla concentrazione di 10 mg l⁻¹ per ogni specie in acetonitrile (Supelco: Bellefonte, PA, USA).

Soluzione di 1,3,5-tri-tert-butilbenzene (TTB) in acetone: cicloesano (1:1, v/v) preparata pesando i composti puri (Sigma-Aldrich).

2.1.5 *Materiale per i test di germinazione*

I test di tossicità eseguiti sono due: il primo per valutare l'effetto di diversi biochar a diversa concentrazione sulla germinazione seguendo la metodologia, normata dalla ISO 11269:2012, usata anche da Zakaria et al., (2012) e Mancini E., (2013); il secondo, seguendo la normativa UNI 11357, per valutare l'effetto di tossicità alla massima concentrazione di due diversi tipi di biochar, ossia nell'ipotesi che il substrato su cui germinano i semi sia costituito completamente da biochar.

Per il primo test sono stati utilizzati semi di *Lepidium sativum* L. (Crescione) e *Sorghum saccharatum* Moench (Sorgo), mentre per il secondo sono stati testati semi di *Cucumis sativus* L. (Cetriolo), *Lepidium sativum* L. (Crescione) e *Sorghum saccharatum* Moench (Sorgo). I semi sono stati acquistati presso un consorzio agrario di Forlì (FC); anche se i semi commercialmente distribuiti non presentano germinazione garantita almeno del 90%, si sono rivelati idonei alle prove. Ovviamente sono stati utilizzati prima della data di scadenza indicata e non adoperati semi trattati con insetticidi e/o fungicidi.

- Acqua di qualità 2 o migliore, secondo UNI EN ISO 3696.
- Camera termostata con regolazione della temperatura a $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, senza ventilazione. La norma esplicita che la camera non deve essere illuminata. Per rispettare le condizioni si è provveduto a coprire totalmente le Petri per non far passare la luce.
- Piastre Petri monouso, in policarbonato o materiale equivalente, del diametro di 100 mm.
- Filtri in carta del diametro di 90 mm.
- Sacchetti di materia plastica quale polietilene o materiale equivalente per refrigerazione alimenti, da (23×32) cm.

2.1.6 *Materiale per la determinazione degli acidi grassi*

- Soluzione satura di KHSO_4
- Soluzione a 957 mg/L di 2-etilbutinato
- Soluzione di dimetilcarbonato

2.1.7 *Materiale per la determinazione dell'azoto ammoniacale*

- Soluzione H_2SO_4 0,1 N e 0,01 N.
- Soluzione KCl 1 M.
- Soluzione H_3BO_3 al 2%.
- Indicatore per l'ammoniaca (preparato sciogliendo 0,1 g di rosso metile e 0,2 g di verde di bromocresolo in 100mL di alcool etilico al 95%).
- MgO 40,311 g mol⁻¹ (Labochimica S.R.L.).

2.2 **METODI**

2.2.1 *Sintesi dei biochar*

I campioni di biochar sono stati ottenuti mediante pirolisi delle due tipologie di biomasse oggetto di studio (pellet di pollina e pellet di stocchi di mais) in atmosfera inerte (sotto flusso di azoto costante a 1500 cm³min⁻¹) tramite un pirolizzatore da banco costituito da un forno in cui è inserito un tubo di quarzo (camera di pirolisi) all'interno del quale viene portato il campione mediante una navicella anch'essa in quarzo. La camera di pirolisi presenta due aperture all'estremità: una per l'introduzione del porta campioni (navicella) e del flusso di gas inerte, la seconda invece per raccogliere la frazione liquida (bio-olio) tramite l'applicazione di due trappole collegate in serie (una delle quali immersa nel ghiaccio così il vapore condensa prima).

La pirolisi è stata condotta a tre diverse temperature e differenti tempi di residenza:

- 400 °C x 20 minuti,
- 500 °C x 10 minuti,
- 600°C x 5 minuti.

Le stesse condizioni di pirolisi sono state mantenute per entrambe le tipologie di biomasse per un totale di 6 differenti biochar. Le pirolisi sono state fatte in *batch* (da 8 a 13 esperimenti a seconda della tipologia di biochar e delle condizioni di pirolisi, con circa 20 g di biomassa per i pellet di pollina e dai 30 a 38 g di biomassa per i pellet di stocchi di mais) fino a raggiungere una massa di biochar superiore ai 100 g per ogni campione (quantità ritenuta sufficiente per le successive analisi e sperimentazioni).

Al termine del tempo previsto, il biochar è stato estratto dal pirolizzatore e mantenuto in atmosfera inerte per qualche minuto in modo tale da farlo raffreddare evitando la combustione del campione (questa fase è risultata un passaggio delicato poichè è facile che si inneschi l'autocombustione con conseguente perdita del materiale). Come ulteriore precauzione il biochar appena estratto è stato riposto all'interno di un becker immerso nel ghiaccio per velocizzare il raffreddamento e successivo stoccaggio del campione in appositi contenitori di HDPE al fine di evitare eventuali contaminazioni.

I vari campioni di biochar sono stati successivamente conservati in freezer ad una temperatura di -30°C. Prima delle analisi e dei test di germinazione, i rispettivi campioni di biochar sono stati macinati manualmente utilizzando un mortaio ottenendo così campioni omogenei con morfologia polverulenta adatta per le analisi.

2.2.2 *Analisi elementare*

Per l'analisi elementare delle sei tipologie di biochar è stato utilizzato un analizzatore elementare Flash 2000 series CHNS/O (Thermo Scientific).

I campioni di biochar (dai 2 ai 4 mg analizzati in duplicato) sono stati posti in un crogiuolo di stagno e miscelati con circa 10 mg di vanadio pentossido (catalizzatore per ottenere una miglior

identificazione dello zolfo) e bruciati alla temperatura di 900 °C sotto flusso di azoto. Le analisi così effettuate hanno fornito i valori di C (Carbonio), H (Idrogeno), N (Azoto) e S (Zolfo).

Il contenuto di ceneri (Ash-A) è stato calcolato per perdita in peso dopo calcinazione a 950°C per 3 h; per fare ciò sono stati posti circa 100 mg di ciascun campione (sempre in duplicato) in crogiuoli di porcellana ed immessi in muffola.

Infine il contenuto di ossigeno è stato calcolato per differenza nel seguente modo:

- $O = 100 - (C + N + H + S + A)$ espresso in percentuale.

2.2.3 *Determinazione pH e umidità*

Per la determinazione del pH è stata miscelata un'aliquota di biochar polverizzato (circa 1 g) con acqua deionizzata (1:10 w/w) ottenendo un soluzione acquosa. Poi la soluzione così ottenuta ha subito un trattamento di agitazione tramite agitatore IKA KS260 BASIC al fine di omogeneizzare bene il campione. Dopo circa due ore i campioni sono stati tolti dall'agitatore ed il pH delle soluzioni sono stati quindi determinati tramite pHmetro Checker® (Hanna instruments). Prima di procedere alla determinazione del pH si è resa necessaria la taratura dello strumento con due soluzioni note: una a pH 4 e l'altra a pH 7. Questa procedura si è ripetuta anche intervallata tra le varie misurazioni per essere certi che lo strumento restasse calibrato.

Per la determinazione dell'umidità circa 1 g di ogni campione è stato prima macinato e poi inserito in muffola alla temperatura di 105°C per 24 h. Una volta tolti dalla muffola l'umidità è stata calcolata per differenza rispetto al peso precedente all'asciugatura del campione.

2.2.4 *Determinazione idrocarburi policiclici aromatici (IPA)*

Circa 1 g di biochar è stato riposto in un ditale celluloso di estrazione, a cui è stato aggiunto 0.1 ml di standard mix dei deuterati (Supelco per EPA 525 contenente acenaftene-d10, fenantrene-d10 e crisene-d12 5 g ml⁻¹ ognuno dei quali in acetone nitrile). Il ditale è stato tappato con cotone idrofilo, e inserito nell'estrattore Soxhlet. Sia i ditali sia tutto l'apparato Soxhlet, prima dell'estrazione, sono stati lavati tramite un'estrazione Soxhlet con acetone/cicloesano (1:1, v/v) per 4 ore.

L'estrazione vera e propria è stata condotta con 160 ml di soluzione estraente (acetone/cicloesano (1:1, v/v)) per 36 ore. Durante l'estrazione l'intero apparato è stato coperto con fogli di alluminio per inibire la fotodegradazione degli IPA alla luce del giorno.

Alla fine dell'estrazione il solvente contenente l'analita è stato filtrato (aggiungendo uno strato di Celite sul filtro); poi si è aggiunto 1 ml di n-nonano (per evitare l'evaporazione dell'analita) e il tutto è stato fatto evaporare tramite evaporatore *rotovapor* alla temperatura di 40 °C. Il concentrato è stato estratto mediante estrazione in fase solida (6 ml, 1 g DSC-Si Supelco lavato con acetato di etile, asciugato e condizionato con 4 ml di cicloesano).

Dopo la purificazione con 1 ml di cicloesano, gli IPA sono stati diluiti con 4 ml di acetone/cicloesano (1:1, v/v). La soluzione ottenuta è stata essiccata sotto flusso di azoto fino a raggiungere un volume di 10-50 µl e infine si è aggiunto 10 µl di soluzione standard interno (TTB a 12.7 mg l⁻¹) prima di effettuare l'analisi GC-MS (Fabbri D. et al., 2012a).

2.2.5 *Py-GC-MS*

Un campione pesato di biochar è stato introdotto in un tubo di quarzo chiuso alle due estremità (sopra e sotto il campione) da lana di quarzo e posto in un filamento di platino all'interno del probe.

Il probe è stato interfacciato al GC sotto flusso di elio (100 mL min⁻¹). Il filamento è stato quindi immediatamente riscaldato a 900 °C. Le condizioni termiche della colonna sono: temperatura iniziale 35 °C, quindi 5°C/min fino ad una temperatura finale di 310 °C.

Per la quantificazione di tutti i composti pirolitici è stato considerato come unitario il fattore di risposta. Sono stati quantificati i diversi prodotti di pirolisi e raggruppati in quattro principali famiglie in base all'origine: H, olocellulosa (zuccheri); L, lignina; C, biomassa "charred" (es.: derivati del benzene ed IPA); P, proteine (es.: pirrolo, indolo) (Fabbri D. et al., 2012b).

2.2.6 Test di germinazione

Per preparare le miscele usate nel primo test si è proceduto come segue: per ottenere la miscela 100g l⁻¹ sono stati pesati 2,5g di biochar poi diluiti in 25 ml d'acqua deionizzata (quantità sufficiente per eseguire 4 repliche). Per le altre miscele sono stati pesati esattamente 2g di biochar, che sono stati poi diluiti con 50 ml d'acqua deionizzata ottenendo una miscela 40g l⁻¹. La miscela è poi stata posta in agitatore IKA® 260 KS Basi, per 24 ore a 300 giri/minuto, al fine di ottenere una miscela il più possibile omogenea. Le miscele (per ogni tipologia di biochar) sono state successivamente diluite con acqua deionizzata per ottenere le miscele alle concentrazioni previste dalla sperimentazione. Prima di ogni prelievo di volume la miscela veniva agitata a mano.

Un volume di 6,25 ml della soluzione 40g l⁻¹ è stato portato a 50 ml con acqua deionizzata per ottenere la miscela a 5 g l⁻¹ di biochar. Per ottenere la miscela a 2 g l⁻¹ di biochar sono stati presi 20 ml dalla miscela a 5 g l⁻¹ ai quali sono stati aggiunti 30 ml d'acqua. Prima di effettuare il test di germinazione sono stati misurati, per ogni miscela acqua/biochar, il pH tramite pHmetro Checker® (Hanna instruments) e la conduttività elettrica tramite conduttimetro AMEL Instruments 160.

Le Petri sono state lavate con acqua deionizzata e numerate univocamente, è stato posato con una pinzetta un filtro di carta per ciascuna Petri.

Sono stati posti 5 g di ciascuna miscela per Petri, facendo attenzione a tenerle mescolate per evitare la deposizione dei frammenti di biochar più pesanti, per il controllo sono stati immessi solo 5 ml d'acqua deionizzata per Petri, come indicato nella normativa ISO 11269-2:2012, quindi sono stati posati i semi della specie utilizzate (una dicotiledone, il *Lepidium sativum* L. e una monocotiledone, il *Sorghum saccharatum* Moench, come espresso dalla normativa).

Le quattro repliche per ogni biochar alla stessa concentrazione e i controlli sono state poste in sacchetti di nylon. I sacchetti sono stati chiusi e posti in camera termostata al buio e alla temperatura di 25±2 °C. L'estrazione è avvenuta dopo 72±0,5 ore.

Ogni Petri è stata fotografata ed è stata effettuata la conta dei germinati.

Per il secondo test, la normativa utilizzata (UNI 11357) descrive un metodo per determinare gli effetti tossici cronici di sostanze presenti in matrici acquose sulla germinazione e allungamento radicale di semi di monocotiledoni e dicotiledoni. Nel mio lavoro di tesi mi sono limitato a misurare il tasso di germinazione per i semi di due dicotiledoni (*Cucumis sativus* L. e *Lepidium sativum* L.) e di una monocotiledone (*Sorghum saccharatum* Moench) come espresso dalla normativa.

La normativa UNI 11357 prevede la determinazione della ritenzione idrica che è stata condotta in questo modo: a circa 1 g, pesato esattamente (B), di biochar macinato viene aggiunta acqua deionizzata, pesandola esattamente (W), fino ad ottenere una miscela di 100 g l⁻¹ di biochar; la miscela è centrifugata, si separa per decantazione il surnatante (S) e per differenza si determina la quantità d'acqua trattenuta dal biochar.

Ritenzione idrica: $RI \text{ (acqua [g] / biochar [g])} = (W - S) / B$.

La prova deve essere effettuata con ciascuna delle tre specie di piante (cetriolo, crescione e sorgo), quindi, per ciascuna specie e per ciascun campione da sottoporre a prova, sono state predisposte 4 piastre Petri deponendo, in ciascuna di esse, l'equivalente di 10 g di massa secca del biochar e sopra un filtro in carta. Poi è stata aggiunta la quantità d'acqua necessaria per raggiungere il 100% di ritenzione idrica e infine altri 5 ml di acqua.

Lo studio si è basato sul tasso di germinati e a tal fine sono stati messi 50 semi per capsula Petri. La sperimentazione è stata suddivisa per specie di piante, confrontando di volta in volta i diversi biochar, perciò sono state fatte tre serie da 28 Petri.

Le Petri sono state identificate univocamente, insacchettate a gruppi di 4 e riposte in camera termostata a 25±2 °C protette dalla luce.

Dopo 72±0,5 ore le Petri con i semi sono state fotografate e si è proceduto alla conta dei germinati. Si considerano, per entrambi i test, germinati i semi per i quali sia evidente un allungamento radicale di almeno 1 mm. Per la validazione del metodo la germinazione dei semi nei controlli negativi deve essere >90%.

2.2.7 *Determinazione acidi grassi volatili (VFA)*

Per la determinazione degli acidi grassi volatili (VFA) (nel mio studio sono stati valutati: acido acetico, acido propionico, acido isobutirrico, acido butirrico, acido isovalerico, acido valerico) si è proceduto nel seguente modo: circa 0,2 g di biochar sono stati pesati e posti in vials adatti all'analisi finale GC-FID (*gas chromatography-flame ionization detection*). Al biochar sono stati aggiunti 100 μL di soluzione di standard interno 2-etilbutinato e 1000 μL di KHSO_4 . I vari campioni sono stati posti in centrifuga per almeno 10 minuti (fino a che si separa il surnatante dal biochar). In seguito è stata effettuata una SDE (Single Drop Extraction), prima creando la goccia tramite microsiringa Hamilton (circa 0,8 μL) nella soluzione di dimetilcarbonato, poi esponendo la goccia creata dentro il vial (non nel surnatante ma nello spazio di testa del vial) e infine immergendo la punta della microsiringa nel surnatante da analizzare per una durata di 15 minuti (tempo ritenuto sufficiente tramite costruzione di rette di cinetica). Trascorsi i 15 minuti si è ritratta la goccia dal surnatante per poi iniettarla nella strumentazione (Varian Star 3400) per le analisi.

2.2.8 *Determinazione azoto ammoniacale*

Un'aliquota di campione di biochar tal quale pari a 10 g viene posta in beuta da 250 mL e adizionata di 100 mL di soluzione di KCl 1 N; dopo 2 ore di agitazione, la sospensione viene filtrata tramite filtrazione su carta. Terminata la filtrazione, un'aliquota da 50 mL del surnatante viene posta in adatto provettone Kjeldahl unitamente a circa 1 g di MgO; si procede ad una distillazione in corrente di vapore dell'ammoniaca contenuta nell'estratto che viene fissata da 50 mL circa di una soluzione di H_3BO_3 al 2%. Si prosegue la distillazione fino ad un volume di circa 200 mL quindi si procede a titolare l'ammoniaca fissata dall'acido borico con H_2SO_4 0,1 N o 0,01 N per una maggiore sensibilità (se la titolazione viene effettuata manualmente si aggiungono 2 gocce di indicatore).

I calcoli del quantitativo in azoto ammoniacale (N-NH_4^+) si effettuano mediante la seguente relazione:

$$\text{N-NH}_4^+ [\text{mg/kg di tal quale}] = [(A * 0,1 * 14 * D)/P] * 1000$$

dove:

- A sono i mL di H_2SO_4 0,1 N utilizzati per la titolazione di N-NH_4^+ ;
- 14 è il peso equivalente dell'azoto;
- D è il fattore di diluizione;
- P è il peso del campione tal quale utilizzato per la determinazione di N-NH_4^+ ;

per riportare il dato dell'azoto alla sostanza secca (% s.s.) è necessario moltiplicare per il fattore Ft:

$$\text{Ft} = 100 / (100 - U\%[\text{totale}])$$

2.2.9 *Analisi statistiche*

I dati risultanti dai test di germinazione sul numero di germinati nel primo test sono stati analizzati con STATISTICA (StatSoft Italia, 2011), mentre i dati risultanti dal secondo test con GMAV (Underwood e Chapman, 1997) mediante i quali è stata realizzata una analisi ANOVA, ed un test post-hoc l'SNK (Student-Newman-Keuls) per entrambe.

CAPITOLO III: RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 SINTESI DEI BIOCHAR

3.1.1 Scelta delle biomasse

La prima biomassa selezionata per questo studio è stata il mais, più precisamente gli stocchi di mais (il gambo della pianta). Si è deciso di fare questa scelta perché gli stocchi di mais sono il residuo di un prodotto agricolo ampiamente utilizzato a fini alimentari e con elevate potenzialità d'uso nel settore energetico. Le ragioni della scelta di prendere in esame i resti del processo di raccolta del mais sono legate, quindi, essenzialmente all'ampia diffusione di questo residuo ed al suo basso costo. Il mais, infatti, è una delle colture più diffuse nel mondo, con una produzione annua di circa 966 milioni di tonnellate, in aumento del 13% rispetto alla stagione 2012 (USDA - FAS-*Foreign Agricultural Service*, WASDE-*World Agricultural Supply and Demand Estimates*, 2013).

La pollina invece rappresenta la biomassa ottenuta da reflui zootecnici (rifiuti del trattamento industriale delle deiezioni avicole). È il residuo delle lettiere degli allevamenti avicoli ed è costituito da segatura, paglia e carta tritate, il tutto mischiato a sterco. Si caratterizza per l'elevato contenuto in ceneri, acqua e composti azotati che condizionano il fine vita del materiale. Anche questa biomassa residuale è stata scelta tra le tante possibili per la sua larga produzione negli allevamenti avicoli, fatto che può rappresentare, e in molti casi già lo è, un problema nella gestione dello smaltimento o riutilizzo.

In Italia la superficie occupata dagli allevamenti avicoli è di 14.540.000 m², pari ad una produzione di pollina di 1.454.000 tonnellate (Comati G., 2008).

Il riutilizzo della pollina come fertilizzante è tuttora la principale forma di recupero, ma questa soluzione vede un ostacolo sempre più grande nell'attuazione della Direttiva Nitrati (limite di 170 kg di azoto per ettaro per anno: Direttiva 1991/676/CEE).

Gli stocchi di mais e la pollina sono stati utilizzati sottoforma di pellet (biomassa compressa in pezzi di forma cilindrica solitamente con diametri massimi di 25 mm)

La densificazione delle biomasse sottoforma di pellet o briquettes è spesso utilizzato su residui agroforestali, segatura o fibre di canna da zucchero. È un processo importante poiché non solo facilita l'uso di residui come energia ma ne facilita anche il trasporto riducendone i costi.

3.1.2 Pirolisi delle biomasse

In questo studio sono state scelte tre temperature (400, 500 e 600°C) e tre tempi di residenza (5, 10 e 20 minuti). Le combinazioni di questi due parametri, utilizzate nel mio lavoro di tesi, sono state adottate in accordo con dati presenti in letteratura (Kaal et al., 2009; Brewer et al., 2009; Spokas et al., 2009; Nguyen et al., 2010; Bruun et al., 2011; Calvelo Pereira et al., 2011) e come proseguo di sperimentazioni condotte precedentemente presso i laboratori in cui ho svolto le mie analisi (Conti R., 2012, Mancini E., 2013) in cui si è mostrato come l'adozione di questi parametri abbia prodotto biochar con un diverso grado di carbonizzazione.

La decisione di non usare tempi di residenza maggiori di 20 minuti è stata presa su base empirica in quanto tale tempo si è dimostrato sufficiente per completare il processo di pirolisi (Conti R., 2012).

Come combinazioni di temperatura e tempo di residenza, sono stati scelte sia per i pellet di pollina sia per i pellet di stocchi di mais, le seguenti condizioni:

- 400°C x 20 minuti,
- 500°C x 10 minuti,
- 600°C x 5 minuti.

Per misurare il tempo di residenza si è utilizzato un cronometro da polso, invece per quanto riguarda la temperatura del pirolizzatore mi sono attenuto alle temperature display/reattore ricavate precedentemente tramite curva di calibrazione (tab. 8).

Temperatura Display (°C)	Temperatura Reattore (°C)
372	400
475	500
523	550
568	600
627	650
684	700

Tab. 8
Corrispondenza tra le temperature del display del pirolizzatore da banco e reattore

Dalle diverse combinazioni di temperatura e tempo di residenza sono stati ottenuti 3 campioni di biochar per ciascuna biomassa residuale scelta.

Le rese di biochar, definite come il rapporto in peso tra il campione di biomassa iniziale prima e dopo il processo di pirolisi, sono riportate in tabella 9 e 10.

Tipologia Biomassa	Condizioni di pirolisi	Campione pirolizzato (g±0,01g)	Char ottenuto (g± 0,01g)	Resa	
Pollina	400°C x 20 minuti	20,08	10,11	0,50	
		20,20	9,77	0,48	
		20,17	11,01	0,55	
		20,23	10,60	0,52	
		20,36	10,05	0,49	
		20,32	10,05	0,49	
		20,19	8,45	0,42	
		20,76	10,73	0,52	
		20,49	10,32	0,50	
		20,53	10,06	0,49	
		Totale	203,33	101,15	-
				Media ± dvs = 0,50 ± 0,03	
	Pollina	500°C x 10 minuti	20,51	8,34	0,41
20,47			8,54	0,42	
20,84			8,70	0,42	
20,75			8,82	0,43	
20,77			8,45	0,41	
20,62			8,42	0,41	
20,78			8,71	0,42	
20,87			8,39	0,40	
20,83			8,42	0,40	
20,90			8,67	0,41	
20,68			8,67	0,42	
20,87			8,63	0,41	
Totale		248,89	102,76	-	
		Media ± dvs = 0,41 ± 0,01			
Pollina	600°C x 5 minuti	20,87	8,28	0,40	
		20,67	8,21	0,40	
		20,98	8,27	0,39	
		20,52	8,28	0,40	
		20,81	8,24	0,40	
		20,86	8,28	0,40	
		20,75	8,18	0,39	

Tipologia Biomassa	Condizioni di pirolisi	Campione pirolizzato (g±0,01g)	Char ottenuto (g± 0,01g)	Resa
		20,82	8,19	0,39
		20,98	8,23	0,39
		20,95	8,15	0,39
		20,69	7,99	0,39
		20,91	8,28	0,40
		20,39	7,97	0,39
	Totale	270,20	106,55	-
			Media ± dvs = 0,39 ± 0,01	

Tab. 9
Rese % di biochar da pellet di pollina ottenute alle diverse condizioni di pirolisi

Tipologia biomassa	Condizioni di pirolisi	Campione pirolizzato (g±0,01g)	Char ottenuto (g± 0,01g)	Resa
Stocchi Mais	400°C x 20 minuti	32,15	12,78	0,40
		30,90	12,09	0,39
		32,60	12,48	0,38
		35,87	13,51	0,38
		35,18	13,25	0,38
		36,00	13,45	0,37
		35,47	13,57	0,38
		36,74	14,08	0,38
	Totale	274,91	105,21	-
			Media ± dvs = 0,38 ± 0,01	
Stocchi Mais	500°C x 10 minuti	36,00	10,42	0,29
		36,59	12,17	0,33
		36,06	12,12	0,34
		38,54	12,83	0,33
		38,22	12,83	0,34
		38,89	13,07	0,34
		36,95	12,28	0,33
		36,25	12,29	0,34
	Totale	332,88	109,75	-
			Media ± dvs = 0,33 ± 0,02	
Stocchi mais	600°C x 5 minuti	36,86	11,38	0,31
		35,43	11,08	0,31
		36,78	11,49	0,31
		35,29	10,91	0,31
		36,78	11,40	0,31
		36,66	11,28	0,31
		37,23	11,89	0,32
		36,45	11,55	0,32
		36,57	11,59	0,32
		37,01	11,71	0,32
	Totale	365,06	114,28	-
			Media ± dvs = 0,31 ± 0,01	

Tab. 10
Rese % di biochar da pellet di stocchi di mais ottenute alle diverse condizioni di pirolisi

Alla fine degli esperimenti sono stati ottenuti più di 100 g di biochar per ogni combinazione di temperatura/tempo di residenza (quantità ritenuta sufficiente per le successive analisi e test da effettuare) e le rese tra le due biomasse residuali sono mostrati in tabella 11.

Biomassa	Cond. pirolisi	Media (%)	DS	RDS
Pollina	400°C x 20 min	49,6	3,4	6,9
Pollina	500°C x 10 min	41,4	0,9	2,2
Pollina	600°C x 5 min	39,5	0,5	1,3
Stocchi Mais	400°C x 20 min	38,3	0,9	2,3
Stocchi Mais	500°C x 10 min	33,0	1,6	4,8
Stocchi Mais	600°C x 5 min	31,4	0,5	1,6

Tab. 11
Riepilogo rese char alle diverse condizioni di pirolisi per le due biomasse residuali

Le rese di char per gli stocchi di mais sono state del 38% per la pirolisi condotta a 400°C x 20 minuti, del 33% per quella condotta a 500°C x 10 minuti e del 31% per le condizioni di sintesi 600°C x 5 minuti (tab. 11). Le rese rilevate da Mancini (2013) sono state per le stesse condizioni di pirolisi rispettivamente del 50% (400°Cx20 minuti), 33% (500°Cx10 minuti) e 30% (600°C x 5 minuti); quindi inferiori per le condizioni di sintesi a bassa temperatura (38% contro 50%) ma quasi identiche per le altre due combinazioni temperatura/tempo di residenza. Le rese rilevate da Conti (2012) sono state rispettivamente del 45%, 39,5% e 38,1%, quindi per ogni condizione di sintesi maggiori rispetto a quelle da me rilevate.

Per i campioni ottenuti da pellet di pollina ho riscontrato rese del 50% per la pirolisi condotta a 400°C x 20 minuti, del 41% per quella condotta a 500°C x 10 minuti e del 39% per le condizioni di sintesi 600°C x 5 minuti (tab. 11). Rispetto alle rese rilevate da Conti (2012), le rese da me ottenute sono state superiori per ogni combinazione temperatura/tempo di residenza (50% contro 45%, 41% contro 40% e 39% contro 38%).

Le rese di biochar diminuiscono all'aumentare della temperatura in accordo con i dati presenti in letteratura (Antal e Gronli, 2003, Demirbas, 2004, Kim et al., 2012; Song et al., 2012; Imam e Capareda, 2012) (tab. 12).

Pyrolysis temperature (°C)	Reaction time min	Yield (%) ^a
300	372 ± 10	60.13 ± 0.26
350	271 ± 8	56.17 ± 0.25
400	225 ± 5	51.52 ± 0.07
450	200 ± 7	48.69 ± 0.04
500	175 ± 3	47.57 ± 0.13
550	150 ± 8	46.62 ± 0.08
600	130 ± 5	45.71 ± 0.14

^a % of dry feed mass.

Tab. 12
Rese di biochar di pollina a diverse condizioni di pirolisi (Song et al., 2012)

A parità di temperatura di sintesi le rese di biochar diminuiscono anche all'aumentare del tempo di residenza mettendo in evidenza che anche brevi variazioni di tempo durante il processo di pirolisi influenzano fortemente le rese finali di biochar (Mašek et al., 2013, Conti R., 2012).

Questa osservazione indica che il processo di carbonizzazione si completa per la combinazione dei due parametri presi in considerazione e non esclusivamente con l'aumento della temperatura seppure quest'ultima rimane essere il parametro più influente (Mašek et al., 2013).

3.2 ANALISI ELEMENTARE, PH E UMIDITÀ

3.2.1 Biochar da pellet di stocchi di mais

I biochar da pellet di stocchi di mais (tabella 13) presentano valori di carbonio (C) compresi tra il 50,7% e il 51,2%; l'idrogeno (H) è compreso tra 2,4% e 3,3%; l'azoto (N) è compreso tra lo 0,81% e lo 0,96%; lo zolfo (S) presenta valori molto bassi tra lo 0 e lo 0,07%; l'ossigeno (O) tra il 13,8% e il 15,8% e il contenuto di ceneri (Ash) presenta valori tra il 28,9% e il 32,3%.

I valori di pH sono compresi tra 9,68 e 10,5, l'umidità varia dall'1,37% (per il biochar ottenuto a 400°C x 20 minuti), al 2,36% (per il biochar ottenuto a 500°C x 10 minuti) fino al 2,39% (per il biochar ottenuto a 600°C x 5 minuti).

Il rapporto H/C è compreso tra 0,56 e 0,77 e il rapporto O/C tra 0,20 e 0,23.

Dai dati in tabella si può notare che le tre tipologie di biochar da pellet di stocchi di mais presentano differenze significative tra loro e che all'aumentare del tempo della temperatura di pirolisi i rapporti molari H/C e O/C decrescono, mentre il pH aumenta.

	C(%)	H(%)	N(%)	S(%)	O(%)	Ash(%)	H/C	O/C	pH
S.Mais 400x20	50,9±2,1	3,28±0,17	0,96±0,03	0,07±0,01	15,8±1,9	28,95±0,00	0,77±0,01	0,23	9,68
S.Mais 500x10	51,2±1,6	2,73±0,00	0,91±0,04	0,03±0,04	14,9±0,1	30,14±0,02	0,64±0,02	0,22	10,4
S.Mais 600x5	50,7±0,3	2,37±0,09	0,81±0,03	0,00±0,00	13,8±1,6	32,30±0,02	0,56±0,02	0,20	10,5

Tab. 13

Caratteristiche elementari, determinazione di pH di biochar da pellet di stocchi di mais ottenuti in diverse condizioni di pirolisi

Le analisi effettuate da Conti (2012) per le stesse condizioni di pirolisi presentano valori di carbonio (C) compresi tra il 46,3% e il 53,6%; l'idrogeno (H) è compreso tra 1,9% e 2,8%; l'azoto (N) è compreso tra lo 0,89% e lo 0,96%; l'ossigeno (O) tra l'11,2% e il 15,2% e il contenuto di ceneri (Ash) presenta valori tra il 28,8% e il 36,2%.

I valori di pH sono compresi tra 9,6 e 10,3.

Il rapporto H/C è compreso tra 0,45 e 0,72 e il rapporto O/C tra 0,17 e 0,25.

Le analisi effettuate da Mancini (2013) per le stesse condizioni di pirolisi presentano valori di carbonio (C) compresi tra il 52,5% e il 54,1%; l'idrogeno (H) è compreso tra 2,1% e 3,2%; l'azoto (N) è compreso tra lo 0,8% e l' 1,0% e l'ossigeno (O) tra il 10,6% e il 13,6% .

Il rapporto H/C è compreso tra 0,45 e 0,71 e il rapporto O/C tra 0,15 e 0,19.

3.2.2 Biochar da pellet di pollina

I biochar da pellet di pollina (tabella 14) presentano valori di carbonio (C) compresi tra il 31,4% e il 33,7%; l'idrogeno (H) è compreso tra 1,7% e 2,7%; l'azoto (N) è compreso tra il 3,2% e il 3,6%; lo zolfo (S) presenta valori tra 1,7% e 2,3%; l'ossigeno (O) tra il 4,6% e l'11,9% e il contenuto di ceneri (Ash) presenta valori tra il 46,6% e il 56,8%.

I valori di pH sono compresi tra 10,04 e 11,3, l'umidità varia dall'2,66% (per il biochar ottenuto a 400°C x 20 minuti), al 2,97% (per il biochar ottenuto a 500°C x 10 minuti) fino al 3,33% (per il biochar ottenuto a 600°C x 5 minuti).

Il rapporto H/C è compreso tra 0,65 e 0,95 e il rapporto O/C tra 0,27 e 0,11.

	C(%)	H(%)	N(%)	S(%)	O(%)	Ash(%)	H/C	O/C	pH
Pollina 400x20	33,7±4,7	2,7±0,5	3,6±0,8	1,7±0,5	11,9±2,1	46,64±0,01	0,95±0,03	0,27	10,04
Pollina 500x10	33,5±1,0	2,1±0,0	3,4±0,0	2,2±0,0	6,5±0,9	52,29±0,04	0,74±0,01	0,15	10,8
Pollina 600x5	31,4±0,5	1,7±0,1	3,2±0,5	2,3±0,0	4,6±0,3	56,82±0,00	0,65±0,01	0,11	11,3

Tab. 14

Caratteristiche elementari, determinazione di pH di biochar da pellet di pollina ottenuti in diverse condizioni di pirolisi

I risultati riscontrati da Conti (2012) presentano valori di carbonio compresi tra 30,9% e 34,7%; l'azoto tra 2,9% e 3,9%; l'idrogeno tra 1,5% e 2,5%; l'ossigeno tra 2,3% e 5,0%; lo zolfo tra 2,2% e 2,4%. Il contenuto in ceneri (A) compreso tra 51,7% e 59,8%.

Il valori di pH ottenuti sono compresi tra 9,9 e 10,3.

Il rapporto H/C è compreso tra 0,56 e 0,86 e il rapporto O/C tra 0,06 e 0,11.

Come già riscontrato per i biochar di biomasse erbacee, anche nel caso dei biochar di pollina i rapporti H/C e O/C decrescono all'aumentare della temperatura di pirolisi.

Nella tabella 15 sono confrontati i rapporti molari ottenuti nella mia sperimentazione con quelli ottenuti da Mancini E., (2013) e Conti R., (2012).

Rap. Molare	Marisi G. (questa sperimentazione)		Mancini E., (2013)		Conti R., (2012)	
	H/C	O/C	H/C	O/C	H/C	O/C
Biochar						
M400	0,77	0,23	0,71	0,19	0,72	0,25
M500	0,64	0,22	0,55	0,18	0,55	0,20
M600	0,56	0,20	0,45	0,15	0,45	0,17
P400	0,95	0,27	-	-	0,86	0,11
P500	0,74	0,15	-	-	0,67	0,09
P600	0,65	0,11	-	-	0,56	0,06

Tab. 15

Confronto dei rapporti molari ottenuti in diverse sperimentazioni (in quella condotta da Mancini E., [2013], si è limitato a studiare tre biochar da stocchi di mais e non da pollina). M400 sta per biochar da stocchi di mais pirolizzato a 400°C x 20 minuti, M500=biochar stocchi di mais 500°C x 10 minuti, M600=biochar stocchi di mais 600°C x 5 minuti. Tutto ciò analogo per i biochar da pollina (P400, P500, P600).

3.2.3 Considerazioni generali analisi elementare

Come riscontrato per le rese dei biochar, i parametri di sintesi influenzano anche la composizione elementare dei biochar.

Prendendo in considerazione il biochar derivante dalla biomassa stocchi di mais si osserva che la percentuale di carbonio non segue un trend preciso mentre la percentuale di idrogeno, ossigeno, azoto e zolfo diminuisce all'aumentare della temperatura mentre i valori di ceneri e pH aumentano.

Krull et al., (2009) nel suo studio indica che i rapporti molari H/C e O/C decrescono all'aumentare della temperatura andando ad indicare un progressivo aumento del livello di aromaticità della struttura. Nel biochar sintetizzato dagli stocchi di mais il rapporto molare H/C decresce così come il rapporto molare O/C.

Feedstock	Temperature (°C)	pH (KCl)	pH (H ₂ O)	CEC ^a (mmolc kg ⁻¹)	CEC ^a (molc m ⁻²)	C (%)	C/N ratio	Total P (mg kg ⁻¹)	Ash ^b (%)	Volatiles ^b (%)	Fixed C ^b (%)	H/C ratio ^c	O/C ratio ^c
Oak wood	60	3.16	3.73	182.1	ND ^f	47.1	444	5	0.3	88.6	11.1	1.48	0.72
	350	5.18	4.80	294.2	0.65	74.9	455	12	1.1	60.8	38.1	0.55	0.20
	600	7.90	6.38	75.7	0.12	87.5	489	29	1.3	27.5	71.2	0.33	0.07
Corn stover	60	6.33	6.70	269.4	ND	42.6	83	526	8.8	85.2	6.0	1.56	0.74
	350	9.39	9.39	419.3	1.43	60.4	51	1889	11.4	48.8	39.8	0.75	0.29
	600	9.42	9.42	252.1	0.48	70.6	66	2114	16.7	23.5	59.8	0.39	0.10
Poultry litter	60	7.53	7.53	363.0	ND	24.6	13	16,685	36.4	60.5	3.1	1.51	1.03
	350	9.65	9.65	121.3	2.58	29.3	15	21,256	51.2	47.2	1.6	0.57	0.41
	600	10.33	10.33	58.7	0.63	23.6	25	23,596	55.8	44.1	0.1	0.18	0.62

^a Cation exchange capacity, determined at pH 7 using buffered ammonium acetate (Nguyen and Lehmann, 2009).

^b Mass % w/w analyzed using ASTM D1762-84.

^c Molar ratios.

Tab. 16

Proprietà fisiche e chimiche di biochar da differenti biomasse e temperature di pirolisi (Lehmann et al., 2011)

Diversamente dal biochar di stocchi di mais, il biochar di pellet di pollina presenta valori di carbonio che decrescono all'aumentare della temperatura; presenta inoltre una maggior quantità di ceneri, azoto e zolfo mentre valori di carbonio e ossigeno inferiori. Nel caso del biochar di pellet di pollina, tranne che per la percentuale di zolfo e ceneri, le altre percentuali (C, H, N, O) decrescono all'aumentare della temperatura. Anche i rapporti molari H/C (valori bassi per un elevato livello di aromaticità) e O/C (valori bassi per un elevato grado di carbonizzazione) decrescono all'aumentare della temperatura andando ad indicare un progressivo aumento del livello di aromaticità della struttura (in accordo con dati di letteratura, tab. 16). I dati relativi alla pollina dimostrano che i biochar ottenuti a basse temperature avendo una maggior percentuale di carbonio rispetto a quelli ottenuti a temperature più elevate, presentano una composizione maggiormente idonea per le applicazioni in campo agricolo.

Questi andamenti e differenze sono confermati da Song e Guo (2012), i quali studiando l'influenza della temperatura (300-600°C) su biochar da pollina riscontrano valori massimi di carbonio pari a 37,9% (ottenuti alla temperatura di 300°C) mentre il contenuto in cenere è circa del 60%.

Gli autori confermano quindi che per applicazioni in suolo sono consigliabili i biochar ottenuti a temperature comprese tra i 300-500°C. L'influenza dei parametri di sintesi si riscontra anche sul pH che infatti aumenta all'incrementare della temperatura (Lehmann, 2009; Gaskin et al., 2008, Song e Guo, 2012).

I pH riscontrati nei biochar analizzati sono basici per tutte e due le biomasse studiate in accordo con Lehmann (2007), Gaskin et al., (2008) e Keri B. et al., (2012).

Nel mio lavoro di tesi si è scelto di caratterizzare, e successivamente testare, biochar derivanti da una carbonizzazione lenta condotta a bassa temperatura (400°C x 20 minuti), da una carbonizzazione veloce condotta ad alta temperatura (600°C x 5 minuti) e infine da una carbonizzazione intermedia in termini di temperatura e tempo di residenza (500°C x 10 minuti). Questa scelta può avere come limitazione il fatto che non si sia tenuto fisso nessuno dei due parametri di sintesi dei biochar (tempe-

ratura e durata della pirolisi), però essa è supportata da risultati pregressi di letteratura, e anche dalle mie analisi che confermano, tra i biochar (derivanti dalla medesima biomassa), differenze significative ($p > 0,05$) in termini di grado di carbonizzazione (valutabile attraverso il rapporto molare H/C) (tab. 17).

H/C	M400	M500	M600	H/C	P400	P500	P600
M400	*	0,005243	0,002759	P400	*	0,002158	0,001570
M500	0,005243	*	0,020656	P500	0,002158	*	0,021561
M600	0,002759	0,020656	*	P600	0,001570	0,021561	*

Tab. 17

Confronto tramite test SNK (Student-Newman-Keuls) per valutare la significatività delle differenze dei rapporti H/C tra i biochar pirolizzati a diverse condizioni: i valori in tabella, essendo tutti inferiori al valore soglia 0.05, indicano l'esistenza di differenze significative tra i biochar in termini di grado di carbonizzazione

L'influenza dei parametri di sintesi si riscontra anche sul pH che infatti aumenta all'incrementare della temperatura (Lehmann, 2009; Gaskin et al., 2008, Song e Guo, 2012).

I pH riscontrati nei biochar analizzati sono basici per tutte e due le biomasse studiate in accordo con Lehmann (2007), Gaskin et al., (2008) e Keri B. et al., (2012) (tab. 18).

Feedstock	Pyrolysis temperature (°C)	pH
Dairy (MD)	0	8.3
	350	9.2
	700	9.9
Paved-feedlot (FL)	0	7.3
	350	9.1
	700	10.3
Poultry litter (PL)	0	8.2
	350	8.7
	700	10.3
Swine solids (SW)	0	7.8
	350	8.4
	700	9.5
Turkey litter (TL)	0	7.0
	350	8.0
	700	9.9

Tab. 18

Valori di pH di biochar da diverse biomasse (Keri B. et al., 2012)

I biochar da pollina presentano valori di pH più elevati rispetto al biochar da stocchi di mais; l'elevata basicità può essere dovuta all'elevato contenuto in ceneri caratteristico della pollina (Lehmann, 2009). Questo può essere messo in relazione con il fatto che le ceneri contribuiscono a rendere le soluzioni basiche per la presenza dei sali, tipo CaCO_3 e MgCO_3 e di anioni organici sulla superficie del biochar (Yuan et al., 2011).

3.3 DETERMINAZIONE IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA)

3.3.1 Considerazioni generali determinazione IPA

La presenza di IPA e di altri composti tossici nel biochar potrebbe introdurre sia rischi agronomici sia rischi per la salute umana inaccettabili nel caso di un suo uso diffuso come ammendante nel terreno. A causa della loro alta persistenza nelle matrici ambientali, gli IPA sono difficili da rimuovere dal suolo e perciò hanno la possibilità di entrare in contatto con gli organismi viventi nel terreno. Sono sostanze mutageniche e cancerogene; possono essere bioaccumulate e biomagnificate lungo la catena alimentare.

Quindi, l'analisi per la presenza di IPA, dovrebbe essere una componente essenziale della valutazione della qualità dei biochar per usi agronomici.

Infatti gli IPA sono tossici anche per le piante, influenzando la germinazione, la crescita e lo sviluppo in suoli contaminati (Kummerová M. et al., 2008).

In uno studio condotto da Somtrakoon K. et al., (2013), si è valutata la tossicità dell'antracene, fluorantene, fluorene, fenantrene, e delle miscele di questi idrocarburi policiclici aromatici nei confronti di tre colture di importanza economica in Thailandia. Semi di mais dolce, mais ceroso, e di riso sono stati piantati in terreni contaminati con ogni IPA (presi singolarmente), con miscele binarie degli stessi, e infine con miscele contenenti i quattro IPA insieme.

Nei casi in cui ogni IPA sopraindicato era presente da solo nel suolo, il fluorene, il fluorantene e l'antracene hanno fatto diminuire la percentuale di germinazione dei semi di mais dolce ma non del mais ceroso. La germinazione del riso è stata soppressa dalle concentrazioni più basse di fenantrene e fluorene, ma solo in concomitanza con le concentrazioni più alte di antracene e fluorantene.

La germinazione del mais ceroso è stata ritardata dagli IPA, ma il numero totale dei semi germinati non è cambiato, a differenza del mais dolce in cui il tasso di germinazione è diminuito.

Nel suolo gli IPA possono essere assorbiti dalle radici delle piante sia attraverso uptake passivi (guidati dalla diffusione e dal flusso di massa), sia attivi (guidati dal metabolismo delle piante) e come combinazione di questi (Zhan et al., 2010).

In un altro studio condotto da Rogovska N. et al., (2012) si è sperimentata la tossicità degli IPA in estratti acquosi di biochar nei confronti della germinazione e dello sviluppo iniziale di semi di mais.

Questi estratti contenevano IPA; comunque, non tutti i composti identificati nel biochar solido investigato erano presenti poi negli estratti acquosi.

I composti più abbondanti identificati sono stati IPA con due o tre anelli aromatici, i quali presentano una solubilità in acqua relativamente più elevata (tab. 19).

PAH†	Solubility in water‡
	$\mu\text{mol L}^{-1}$
Naphthalene	249
Quinoline	49,000
2-Methyl naphthalene	NA¶
Biphenyl	46
Biphenylene	NA
Acenaphthylene	29
Dibenzofuran	39
Isociano naphthlene	NA
2,3-Diazaphenathrene	NA
Phenanthrene	7.2
Anthracene	0.37
Fluoranthene	1.2
Pyrene	0.72
Triphenylene	0.18
Chrysene	0.013
Benzo(a)anthracene	0.048
Benzo(k)fluoranthene	0.003
Perylene	0.002
Benzo(a)pyrene	0.05–0.006

Tab. 19
Solubilità in acqua degli IPA (Rogovska N. et al., 2012)

Inoltre gli IPA con la più alta solubilità in acqua hanno mostrato indurre i più alti effetti fitotossici legati principalmente ad una biodisponibilità maggiore (Thygesen e Trapp, 2002; Hamdi et al., 2007; Juhasz et al., 2010).

Nell'esperimento condotto da Rogovska et al. (2012) tutti gli IPA presenti negli estratti dei sei biochar analizzati sono stati quelli costituiti da due o tre anelli. Nella seconda parte del suo studio ha testato se la tossicità dei biochar si riducesse dopo averli "lavati" per rimuovere i potenziali composti fitotossici solubili in acqua.

In generale, dopo questa pulizia dei biochar, gli estratti utilizzati poi per ripetere i test di germinazione hanno mostrato valori di pH diminuiti con una riduzione in concentrazione di elementi inorganici e composti organici. Inoltre il tasso di germinazione utilizzando questi estratti acquosi di biochar lavati è stato significativamente maggiore rispetto a quelli non trattati.

Questi miglioramenti (anche rilevati nella lunghezza dei germogli aumentata) potrebbero essere spiegati dalla rimozione dei composti organici solubili in acqua che inibivano la germinazione e la crescita dei semi.

I risultati di questo studio suggerisce che il pre-lavaggio del biochar può diventare un trattamento efficace per la rimozione dei composti fitotossici dal biochar. Comunque, a scala industriale, questa pratica potrebbe non essere attuabile, almeno attualmente (Rogovska et al., 2012).

3.3.2 Biochar da pellet di pollina

Nel mio studio di caratterizzazione dei biochar sono stati determinati i 16 IPA considerati prioritari per l'Environmental Protection Agency (EPA). I risultati sono mostrati nella tabella 20.

Biomassa	Pellet di pollina		
	400°C x 20 minuti	500°C x 10 minuti	600°C x 5 minuti
Parametri di sintesi			
IPA	[ng/g]		
Naftalene	107,6 ± 24,9	523,4 ± 13,2	351,1 ± 53,9
Acenaftilene	0	10,3 ± 1,8	23,5 ± 2,9
Acenaftene	50,8 ± 16,8	20,1 ± 2,4	31,5 ± 0,8
Fluorene	434,9 ± 61,2	160,3 ± 41,3	250,5 ± 10,3
Fenantrene	130,1 ± 40,6	47,7 ± 1,8	44,6 ± 7,6
Antracene	54,9 ± 14,2	7,4 ± 0,4	19,0 ± 2,6
Fluorantene	239,9 ± 55,1	20,0 ± 4,5	25,9 ± 3,2
Pirene	230,2 ± 5,6	19,7 ± 1,5	12,8 ± 0,9
Crisene	30,4 ± 2,7	6,2 ± 0,1	20,9 ± 2,1
Benzo[a]antracene	30,3 ± 7,1	7,4 ± 1,8	6,6 ± 1,9
Benzo[b]fluorantene	81,6 ± 1,4	43,8 ± 4,9	28,0 ± 2,7
Benzo[k]fluorantene	12,8 ± 2,8	4,2 ± 1,3	2,5 ± 0,5
Benzo[a]pirene	63,5 ± 32,9	5,8 ± 1,8	10,3 ± 3,4
Indeno[1,2,3-cd]pirene	76,7 ± 24,4	2,8 ± 0,9	11,0 ± 1,8
Dibenzo[a,h]antracene	0	0	0
Benzo[ghi]perilene	19,9 ± 5,5	3,9 ± 0,1	5,7 ± 0,9
Totale	1668,9 ± 218,3	884,2 ± 58,9	795,1 ± 11,3

Tab. 20
IPA nei biochar da pellet di pollina

Il valore totale dei 16 IPA (EPA) per i biochar da pellet di pollina sono: 1,67±0,22 µg/g per le condizioni di pirolisi 400°C x 20 minuti, 0,88±0,06 µg/g per le condizioni di pirolisi 500°C x 10 minuti e 0,79±0,01 µg/g per le condizioni di pirolisi 600°C x 5 minuti.

3.3.3 Biochar da pellet di stocchi di mais

Anche per quanto riguarda i biochar da pellet di stocchi di mais sono stati determinati i 16 IPA considerati prioritari per l'Environmental Protection Agency (EPA). I risultati sono mostrati nella tabella 21.

Biomassa	Pellet di stocchi di mais		
	400°C x 20 minuti	500°C x 10 minuti	600°C x 5 minuti
Parametri di sintesi			
IPA	[ng/g]		
Naftalene	215,7 ± 117,5	280,8 ± 187,2	268,3 ± 86,0
Acenaftilene	53,8 ± 9,0	49,1 ± 17,5	22,7 ± 3,8
Acenaftene	48,4 ± 2,8	33,7 ± 1,6	15,6 ± 1,9
Fluorene	110,2 ± 3,5	198,4 ± 47,9	130,7 ± 41,8
Fenantrene	68,5 ± 16,8	133,2 ± 61,1	56,3 ± 4,3
Antracene	10,2 ± 0,8	68,9 ± 53,2	35,9 ± 10,2
Fluorantene	39,6 ± 3,3	56,6 ± 18,1	36,4 ± 12,2
Pirene	44,3 ± 9,9	53,9 ± 31,7	40,3 ± 10,4
Crisene	26,1 ± 6,9	49,3 ± 7,4	33,9 ± 0,7
Benzo[a]antracene	17,9 ± 2,6	32,5 ± 3,2	15,2 ± 0,3
Benzo[b]fluorantene	45,4 ± 0,3	28,9 ± 1,5	22,0 ± 8,1
Benzo[k]fluorantene	13,2 ± 1,9	17,5 ± 3,5	7,5 ± 0,6
Benzo[a]pirene	15,8 ± 2,0	60,7 ± 26,4	17,3 ± 4,9
Indeno[1,2,3-cd]pirene	8,1 ± 1,8	27,2 ± 6,8	20,3 ± 2,9
Dibenzo[a,h]antracene	0	0	0
Benzo[ghi]perilene	4,9 ± 1,4	8,6 ± 0,3	5,2 ± 1,7
Totale	721,9 ± 66,3	1099,2 ± 58,1	844,2 ± 123,0

Tab. 21
IPA nei biochar da pellet di stocchi di mais

Il valore totale dei 16 IPA (EPA) per i biochar da pellet di stocchi di mais sono: 0,72±0,07 µg/g per le condizioni di pirolisi 400°C x 20 minuti, 1,10±0,06 µg/g per le condizioni di pirolisi 500°C x 10 minuti e 0,84±0,12 µg/g per le condizioni di pirolisi 600°C x 5 minuti.

Mancini E. (2013) nel suo studio ha riscontrato, per la stessa tipologia di biomassa e per le stesse condizioni di pirolisi, un valore totale dei 16 IPA (prioritari per l'EPA) rispettivamente di 1,32±0,01 µg/g (400°Cx20min), 1,41±0,20 µg/g (500°Cx10min) e 1,89±0,31 µg/g (600°Cx5min); essi rientrano nella media riportata in letteratura (Hale et al., 2011).

Non esistono normative che stabiliscono i livelli permessibili di IPA nei biochar applicati nel suolo. Per questo motivo, allo stato attuale, i biochar possono essere comparati alle sostanze biosolide applicate nei suoli, per le quali invece sono già stabiliti limiti di legge.

Le concentrazioni massime permesse nei biosolidi per uso agricolo (e quindi allo stato attuale anche per i biochar) sono di 6 mg/kg (o equivalenti 6 µg/g) per l'Europa (Malara A. et al., 2013).

Per tutti i sei biochar sintetizzati, i valori totali di IPA non superano i limiti attuali di legge per i composti biosolidi con applicazione agricola.

3.4 PY-GC-MS

3.4.1 Considerazioni generali Py-GC-MS

Le analisi in Py-GC-MS, dei biochar ottenuti sotto diverse condizioni di sintesi, sono state effettuate al fine di ottenere i pirogrammi dei prodotti di pirolisi tipici della lignina, dell'olocellulosa, dei frammenti proteici e dei prodotti cosiddetti "charred", caratteristici del processo di carbonizzazione delle biomasse.

Sono stati identificati 47 prodotti di pirolisi raggruppati nelle quattro principali famiglie in base all'origine: H, olocellulosa (zuccheri); L, lignina; C, biomassa "charred" (es.: derivati del benzene ed

IPA); P, Proteine (es.: pirrolo, indolo) (tab. 22). Per "charred" si intende la porzione carboniosa originata dalla degradazione termica dei costituenti della biomassa e si presume che in Py-GC-MS si formino principalmente benzene, toluene, xilene, stirene, IPA e benzofurani. Questi prodotti di pirolisi sono presi come indicativi della porzione charred delle biomasse (Kaal et al., 2009a).

È necessario tenere in considerazione che la loro formazione si può avere anche dalla pirolisi di lignina e soprattutto lipidi o proteine presenti nella biomassa originaria. Nonostante questi limiti è stato dimostrato che la percentuale di charred è indicativa del grado di carbonizzazione del char (Kaal et al., 2009a).

Oltre alle percentuali di prodotti associati alla frazione charred, il grado di alterazione termica è indicato dal livello di de-alchilazione.

Il livello di de-alchilazione si può descrivere tramite il rapporto tra un composto e il suo alchilato come per esempio il rapporto benzene/toluene (B/T) (Kaal et al., 2009b; Fabbri et al., 2011).

Secondo i dati in letteratura il rapporto B/T dovrebbe aumentare con l'aumento delle rese relative di composti rappresentativi del processo di carbonizzazione (prodotti "charred").

Composto	Origine	Composto	Origine	Composto	Origine
Acido acetico	H	4-idrossi-5,6-diidro-piranone	H	Catecolo	L
Benzene	C	Indolo	P	Vinil-fenolo	L
Idrossiacetone	H	3-idrossi-2-metil-ciclopentenone	H	Idrossimetilfurfurolo	H
Pirrolo	P	3-metilfenolo	L	4-vinilguaiacolo	L
Toluene	C	4-metilfenolo	L	4-metilguaiacolo	L
2-metiltofene	P	2-metossifenolo	L	Siringolo	L
Furaldeide	H	Metilbenzofurano(1)	C	Bifenile	C
o-xilene	C	Metilbenzofurano(2)	C	4-metilsiringolo	L
Alcool furfurilico	H	Metilbenzofurano(3)	C	trans-iso Eugenolo	L
m-p-xilene	C	2-etilfenolo	L	4-vinilsiringolo	L
Stirene	C	2,5-dimetilfenolo	L	Fenantrene	C
Etil-benzene	C	2,3-dimetilfenolo	L	Antracene	C
2-ciclopentanedione	H	3-etilfenolo	L	Fluorene	C
Benzonitrile	C	Naftalene	C	Fluorantene	C
Fenolo	L	2-metilnaftalene	C	Pirene	C
Benzofurano	C	1-metilnaftalene	C		

Tab. 22
Prodotti di pirolisi identificati e classificazione in base all'origine

3.4.2 Biochar da pellet di stocchi di mais

In tabella 23 vengono riportate le rese percentuali delle quattro categorie di composti per quanto riguarda i biochar da stocchi di mais.

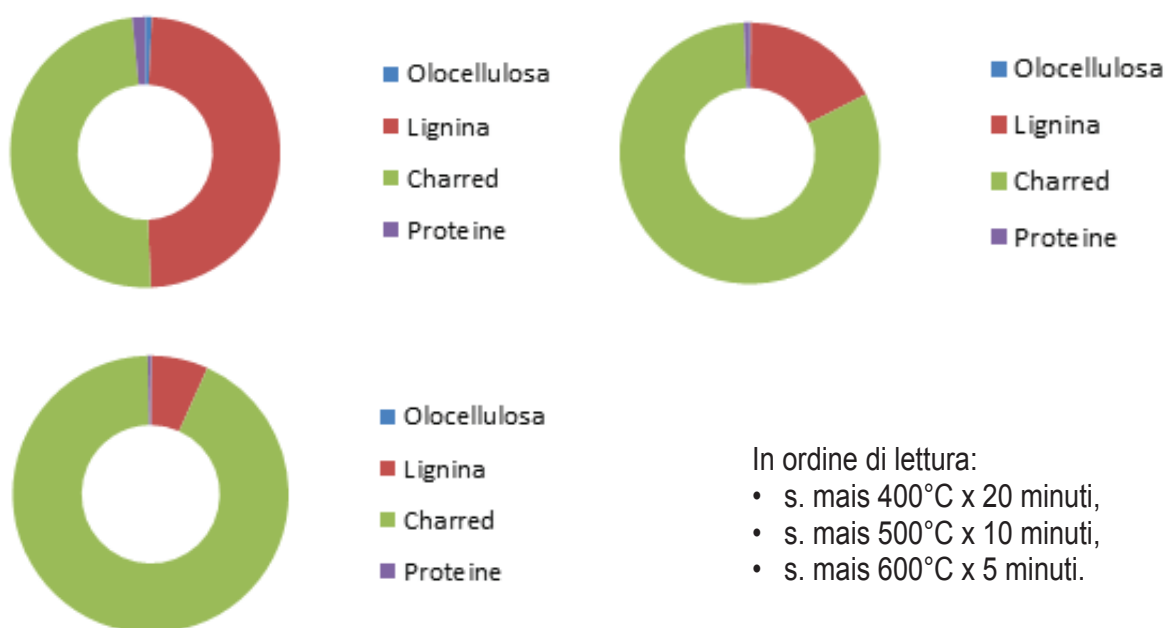
%	S. Mais 400°C x 20 minuti	S. Mais 500°C x 10 minuti	S. Mais 600°C x 5 minuti
Olocellulosa (H)	0,81 ± 0,60	0,15 ± 0,09	0,08 ± 0,05
Lignina (L)	48,5 ± 3,3	17,4 ± 4,0	6,7 ± 0,4
Charred (C)	49,1 ± 4,2	81,7 ± 3,7	92,9 ± 0,2
Proteine (P)	1,53 ± 0,35	0,73 ± 0,18	0,34 ± 0,10
Totale	100	100	100

Tab. 23
Py-GC-MS di biochar da stocchi di mais. Abbondanza relativa delle 4 categorie di prodotti di pirolisi in base all'origine

Partendo dall'analisi delle percentuali delle quattro famiglie di composti alla temperatura di 400°C, si nota che i composti della categoria lignina equivalgono a quelli della categoria charred, con le altre due categorie poco rappresentative (la loro somma non supera il 2,5% del totale).

All'aumentare della temperatura di pirolisi aumentano i composti charred, la cui percentuale è indicativa del grado di carbonizzazione del char. Questo dato segue il trend già esposto nella valutazione dell'analisi elementare dei biochar, nella quale si è visto come all'aumentare della temperatura, il rapporto molare H/C diminuisse, sottolineando un aumento del grado di carbonizzazione.

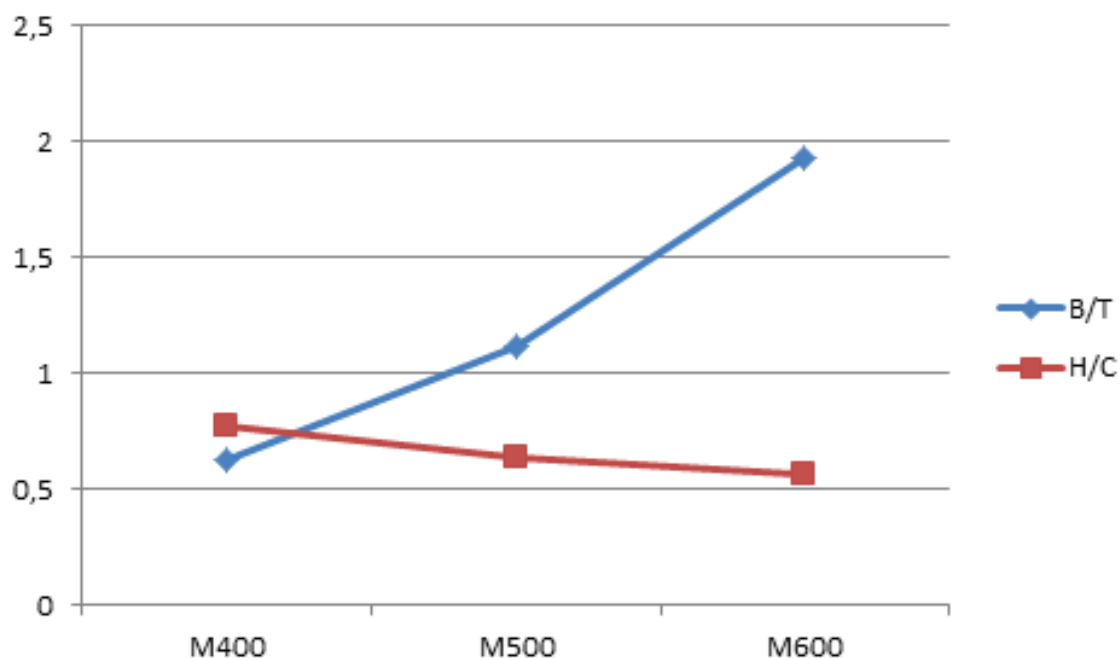
Invece, per quanto riguarda le altre tre categorie di composti (olocellulosa, lignina e proteine), ad un aumento della temperatura di pirolisi corrisponde una diminuzione della percentuale degli stessi, anche se per quanto concerne le famiglie olocellulosa e proteine, i loro valori sono poco significativi rispetto al totale dei composti già alla temperatura di pirolisi più bassa (400°C) (graf. 1), indicando che la loro degradazione è già avanzata a 400°C.



Graf. 1
Rappresentazione della distribuzione percentuale delle famiglie di composti nei biochar da stocchi di mais

Come già riportato, oltre alle percentuali di prodotti associati alla frazione "charred", il grado di alterazione termica è indicato dal livello di de-alchilazione, esprimibile ad esempio tramite il rapporto benzene/toluene (B/T) (Kaal et al., 2009b; Fabbri et al., 2011).

Secondo i dati in letteratura il rapporto B/T dovrebbe aumentare con l'aumento delle rese relative di composti rappresentativi del processo di carbonizzazione (prodotti "charred"). Nel caso dei biochar da stocchi di mais questa tendenza viene confermata, infatti il biochar pirolizzato a 600°C, quello con la percentuale di prodotti charred più elevata, presenta un valore del rapporto B/T pari a 1,93; rispetto ad un valore di 1,12 per il biochar a 500°C ed a un valore di 0,62 per il biochar pirolizzato a 400°C (graf. 2).



Graf. 2
Confronto rapporti B/T e H/C nei biochar da stocchi di mais

3.4.3 Biochar da pellet di pollina

In tabella 24 vengono riportate le rese percentuali delle quattro categorie di composti per quanto riguarda i biochar da pollina.

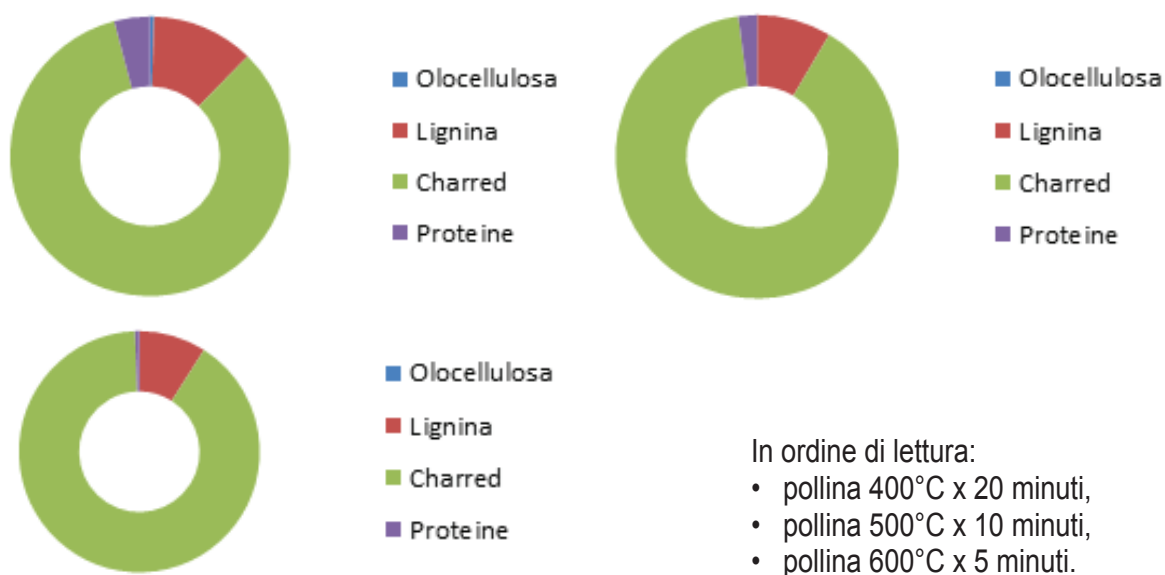
%	Pollina 400°C x 20 minuti	Pollina 500°C x 10 minuti	Pollina 600°C x 5 minuti
Olocellulosa (H)	0,48 ± 0,05	0	0
Lignina (L)	11,8 ± 5,57	8,5 ± 0,3	9,0 ± 1,7
Charred (C)	83,6 ± 9,0	89,3 ± 1,4	90,4 ± 1,7
Proteine (P)	4,1 ± 3,5	2,1 ± 1,7	0,59 ± 0,00
Totale	100	100	100

Tab. 24
Py-GC-MS di biochar da pollina. Abbondanza relativa delle 4 categorie di prodotti di pirolisi in base all'origine

Partendo dall'analisi delle percentuali delle quattro famiglie di composti alla temperatura di 400°C, si nota che i composti della categoria charred sono di gran lunga i più presenti, seguita in ordine di presenza dai composti caratteristici della lignina, delle proteine (più presenti in confronto ai biochar da stocchi di mais) e infine dell'olocellulosa, la cui percentuale è veramente scarsa. All'aumentare della temperatura di pirolisi aumentano i composti charred, anche se le differenze sono meno marcate rispetto al biochar da stocchi di mais. Comunque anche questo dato segue il trend già esposto nella valutazione dell'analisi elementare dei biochar, nella quale si è visto come all'aumentare della temperatura, il rapporto molare H/C diminuisce, sottolineando un aumento del grado di carbonizzazione.

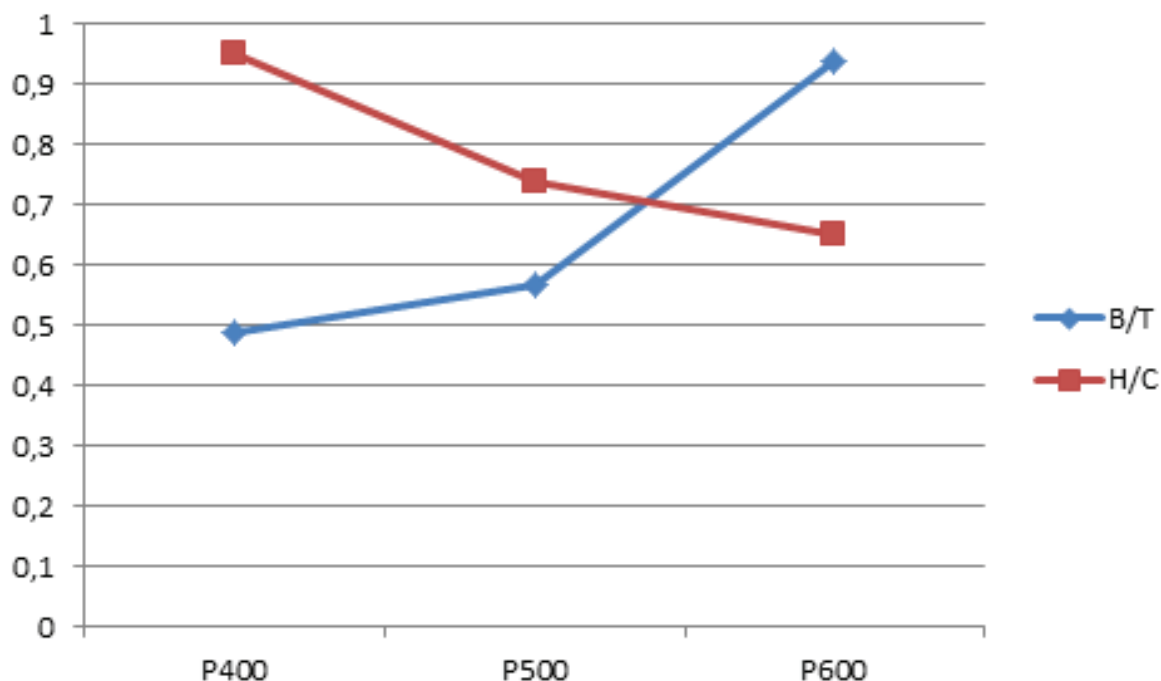
Per tutte e quattro le categorie di composti, le differenze tra biochar da pollina pirolizzata a 500 e 600°C sono inferiori rispetto alle variazioni rispetto al biochar a 400°C.

Come per i biochar da stocchi di mais, per quanto riguarda le altre categorie di composti (olocellulosa e proteine), ad un aumento della temperatura di pirolisi corrisponde una diminuzione della percentuale degli stessi; invece riguardo alla lignina, la percentuale a 600°C è leggermente superiore a quella a 500°C (graf. 3). Anche per i biochar da pollina, con l'aumento della temperatura, le rese totali di pirolizzato diminuiscono.



Graf. 3
Rappresentazione della distribuzione percentuale delle famiglie di composti nei biochar da pollina

Anche per i biochar da pollina, il rapporto B/T dovrebbe aumentare con l'aumento delle rese relative di composti rappresentativi del processo di carbonizzazione (prodotti "charred"). Come nel caso dei biochar da stocchi di mais questa tendenza viene confermata, infatti il biochar pirolizzato a 600°C, quello con la percentuale di prodotti charred più elevata, presenta un valore del rapporto B/T pari a 0,94; rispetto ad un valore di 0,57 per il biochar a 500°C ed a un valore di 0,49 per il biochar pirolizzato a 400°C (graf. 4).



Graf. 4
Confronto rapporti B/T e H/C nei biochar da pollina

3.4.4 Considerazioni finali Py-GC-MS

La pirolisi GC-MS ha permesso un'analisi dettagliata della composizione molecolare dei composti volatili rilevabili in analisi GC.

Sono state riscontrate delle buone correlazioni tra B/T e % di charred per i biochar di ciascuna biomassa (il rapporto B/T aumenta al diminuire del rapporto molare H/C). Poiché l'aumento dei valori del rapporto B/T dovrebbe indicare un maggior grado di carbonizzazione, questo risultato conferma che la maggior percentuale di composti charred rilevabili in sistema GC-MS può essere considerata rappresentativa dell'aumento grado di carbonizzazione.

3.5 DETERMINAZIONE ACIDI GRASSI VOLATILI

Gli acidi grassi volatili (o semi-volatili, VFA), chiamati anche acidi carbossilici a basso peso molecolare (Low weight carboxylic acids, LWCA), sono noti essere importanti inibitori delle colture agricole (Ulbright et al., 1982).

Sono essenziali sottoprodotti metabolici della degradazione microbica della sostanza organica in condizioni aerobiche, e inoltre di ipossia e anossia (Schlegel, 1986). Tra gli acidi carbossilici da 1 a 6 atomi di carbonio, l'acido formico (C1) è il più leggero come peso molecolare mentre l'acido caproico (C6) è il più pesante.

Per tutti essi, il gruppo carbossilico si dissocia in soluzioni acquose a ione carbossilato (COO^-) e catione ossonio (H_3O^+). Il grado di dissociazione dipende dal pKa dell'acido e dal pH della soluzione (Harris, 2003).

Gli acidi carbossilici sono volatili o semi-volatili in natura. Per questo motivo, oltre alla fitotossicità, un odore pungente e rancido rappresenta di solito un importante inconveniente nell'applicazione di substrati contenenti LWCA (Tolvanen et al., 1998).

Sebbene la fitotossicità di questi acidi sia un fenomeno noto, dati di concentrazione-effetto (EC-concentrazione di effetto) sono scarsi.

In uno studio condotto da Himanen M. et al. (2012) (fig. 5) si sono valutati gli effetti fitotossici acuti di sei acidi grassi volatili sulla germinazione di due specie vegetali: il loglio come pianta monocotiledone e il crescione come dicotiledone. L'esperimento è stato condotto attraverso una serie di diluizioni con sette concentrazioni nominali: per l'acido formico, acetico, propionico, valerico e butirrico le concentrazioni sono variate da un minimo di 0,1 fino a 4,8 mM. I test di germinazione sono stati condotti, in assenza di luce, in camera termostata ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) per 72 ore (per il crescione) e per 120 ore (per il loglio). Alla fine del test è stata effettuata la conta dei germinati.

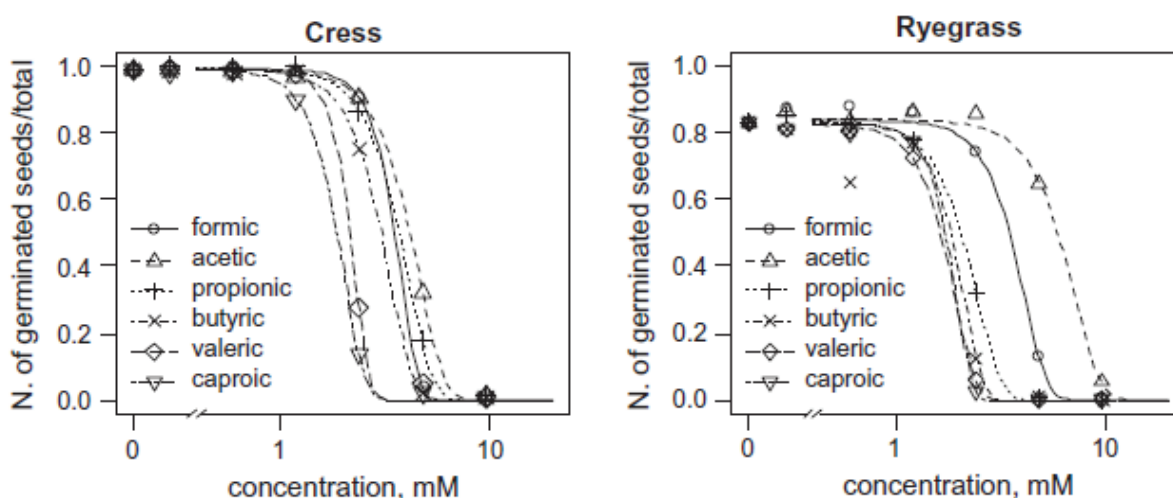


Fig. 5

Relazione concentrazione-germinazione ottenuta nei test di germinazione (Himanen M. et al., 2012)

Valori di EC50 per tutti i VFA ottenuti nei test di germinazione ricadono in un intervallo di 1,9-4,2 mM per il crescione, 1,8 fino a 6,4 mM per il loglio. Prendendo in considerazione gli intervalli di concentrazione EC10-EC90, questi variano da 0,5 a 3,0 mM per il crescione, da 0,1 a 5,0 mM per il loglio (le differenze tra specie non sono risultate significative per la maggior parte degli acidi carbossilici presi in esame) (tab. 25).

Acid	Acuteassay (mM)	
	Cress EC50 EC10-EC90	Ryegrass EC50 EC10-EC90
Formic	3.6 (0.1) 2.5 (0.1)-4.5 (0.1)	3.7 (0.1) 2.3 (0.2)-5.1 (0.1)
Acetic	4.2 (0.1) 2.5 (0.2)-5.8 (0.1)	6.4 (0.2) 3.8 (0.2)-9.0 (0.5)
Propionic	3.8 (0.1) 2.2 (0.1)-5.2 (0.1)	2.2 (0.1) 1.3 (0.1)-3.0 (0.2)
Butyric	3.1 (0.1) 1.9 (0.1)-4.2 (0.2)	1.8 (0.1) ^a 1.3 (0.1)-2.5 (0.1)
Valeric	2.2 (0.1) 1.6 (0.2)-2.6 (0.1)	1.8 (0.1) ^b 1.1 (0.1)-2.3 (0.9)
Caproic	1.9 (0.0) 1.2 (0.1)-2.5 (0.4)	1.8 (0.1) ^{ab} 1.3 (0.1)-2.2 (0.1)

VFA	P.M.	E.C. [$\mu\text{g/g}$] alla conc. 40g/L			E.C. [$\mu\text{g/g}$] alla conc. 100g/L		
		EC50	EC10	EC90	EC50	EC10	EC90
Valori per Crescione							
Acetico	60	6300	3750	8700	2520	1500	3480
Propionico	74	7030	4070	9620	2812	1628	3848
Butirrico	88	6820	4180	9240	2728	1672	3696
Valerico	102	5610	4080	6630	2244	1632	2652
Caproico	116	5510	3480	7250	2204	1392	2900

Tab. 25

Valori di EC50, EC10-EC90 dei VFA per riduzione della germinazione (Himanen M. et al., 2012) e conversione degli stessi in [$\mu\text{g/g}$] alla concentrazione di 40 e 100 g/L per quanto riguarda il crescione (cress)

Questo test di fitotossicità ha mostrato un trend di aumento di tossicità degli acidi associato ad un aumento degli atomi di carbonio: l'acido formico (C1) e l'acido acetico (C2) sono risultati i meno tossici mentre l'acido caproico il più tossico dei sei esaminati. Una ragione potrebbe essere imputata ad una maggiore lipofilia, cosa che aumenterebbe la biodisponibilità per le radici delle piante.

Un altro studio condotto da Shiralipour e McConnell (1997) sulla germinazione del cetriolo (*Cucumis sativum*) ha mostrato un valore di EC50 per l'acido acetico di 0,1 mM, quindi molto inferiore rispetto a quello di Himanen (2012) pari a 4,2 mM per lo stesso acido.

In letteratura sono presenti altri risultati di sperimentazioni condotte su varie specie di piante (tab. 26) e le concentrazioni di effetto sono molto variabili, fatto che può essere imputato alla diversa sensibilità delle piante testate.

Acid	EC50 values (mM)	Test plant
<i>Formic</i>		
Germination	4.4	Lettuce (<i>Lactuca sativa</i>)
Seedling growth	0.24	Wheat (<i>Triticum sp.</i>)
<i>Acetic</i>		
Germination	0.1	Cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)
	3.5	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
	7.8 ^a	Cress (<i>L. sativum</i>)
	15	Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)
Seedling growth	0.018	Cucumber (<i>Cucumis sativus</i>)
	1.03	Wheat (<i>Triticum sp.</i>)
	8.2	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
	10	Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)
<i>Propionic</i>		
Germination	1.7	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
	5	Barley (<i>Hordeum vulgare</i>)
Root elongation	0.05	Wheat (<i>Triticum sp.</i>)
<i>Butyric</i>		
Germination	2.1	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
Root elongation	0.08	Wheat (<i>Triticum sp.</i>)
<i>Valeric</i>		
Germination	1.3	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
	4.6	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
<i>Caproic</i>		
Germination	1	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
	2.7	Lettuce (<i>L. sativa</i>)
Root elongation	0.06	Wheat (<i>Triticum sp.</i>)

^a Concentration is expressed as mM kg⁻¹ dm.

Tab. 26
Valori di EC50 di vari acidi carbossilici su piante differenti (Himanen M. et al., 2012)

Di seguito sono riportati nelle tabelle 27 e 28 (espressi in duplicato: test 1 e test 2) i valori degli acidi grassi volatili analizzati nei biochar sintetizzati in questa tesi e le distribuzioni relative percentuali; sono risultati preliminari (per alcune determinazioni la deviazione standard è relativamente alta) poiché la metodologia seguita per la loro determinazione non è mai stata utilizzata su una matrice simile al biochar, comunque forniscono buone indicazioni sulla loro presenza.

Acidi grassi [µg/g]	Mais 400°C x 20 minuti		Mais 500°C x 10 minuti		Mais 600°C x 5 minuti	
	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2
Acetico	2181,2	3604,5	766,6	419,1	554,6	601,1
Propionico	344,6	439,7	56,5	29,8	1189,2	1121,3
Isobutirrico	102,7	63,4	113,2	52,8	187,9	90,0
Butirrico	94,5	240,1	104,5	51,0	n.r.	n.r.
Isovalerico	163,1	203,7	44,2	25,1	598,0	891,1
Valerico	60,0	122,9	74,6	73,6	n.r.	n.r.
Caproico	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Totale	2946,0	4674,2	1159,5	651,4	2529,7	2703,5

Acidi grassi	Mais 400°C x 20 minuti		Mais 500°C x 10 minuti		Mais 600°C x 5 minuti	
Distribuzione relativa %						
Acetico	74,0	77,1	66,1	64,3	21,9	22,2
Propionico	11,7	9,4	4,9	4,6	47,0	41,5
Isobutirrico	3,5	1,4	9,8	8,1	7,4	3,3
Butirrico	3,2	5,1	9,0	7,8	0,0	0,0
Isovalerico	5,5	4,4	3,8	3,9	23,6	33,0
Valerico	2,0	2,6	6,4	11,3	0,0	0,0
Caproico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Totale	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 27
Acidi grassi a catena corta identificati nei biochar da stocchi di mais

Acidi grassi	Pollina 400°C x 20 minuti		Pollina 500°C x 10 minuti		Pollina 600°C x 5 minuti	
[µg/g]	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2	Test 1	Test 2
Acetico	6170,7	7049,2	3345,4	1738,1	4804,4	3511,2
Propionico	1189,4	1297,2	2760,4	1009,5	1303,3	1259,9
Isobutirrico	109,8	89,6	192,8	153,2	130,7	112,6
Butirrico	1195,8	962,7	945,8	1139,7	347,4	421,8
Isovalerico	335,9	149,2	238,4	140,6	76,9	106,6
Valerico	73,9	57,3	252,6	124,7	96,8	88,5
Caproico	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Totale	9074,5	9605,2	7735,4	4305,8	8068,0	5500,6
Distribuzione relativa %						
Acetico	68,0	73,4	43,2	40,4	59,5	63,8
Propionico	13,1	13,5	35,7	23,4	26,2	22,9
Isobutirrico	1,2	0,9	2,5	3,6	1,1	2,0
Butirrico	13,2	10,0	12,2	26,5	6,7	7,7
Isovalerico	3,7	1,6	3,1	3,3	1,1	1,9
Valerico	0,8	0,6	3,3	2,9	5,3	1,6
Caproico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Totale	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 28
Acidi grassi a catena corta identificati nei biochar da pollina

I biochar da pollina presentano quantitativi di acidi grassi volatili nettamente superiori a quelli ottenuti dagli stocchi di mais. Inoltre i valori più elevati si riscontrano, sia nel caso del biochar da stocchi di mais sia in quello da pollina, alla temperatura più bassa di pirolisi, ovvero 400°C. Entrambe le tipologie di biochar, alla temperatura di 500°C, presentano valori di VFA più bassi per poi aumentare di nuovo alla temperatura di sintesi di 600°C.

Confrontando i dati di concentrazione-effetto rilevati da Himanen M. et al. (2012) per il crescere con le concentrazioni degli acidi grassi fornite dalle mie analisi preliminari si nota che: per quanto riguarda i biochar da stocchi di mais alla concentrazione 100 g/L, solo il biochar pirolizzato a 400°C presenta valori di acido acetico paragonabili ai valori EC riscontrati da Himanen M. et al. (2012); in particolare nel test 1 il valore di acido acetico supera il valore di EC10 e nel test 2 lo stesso acido supera il valore di EC90. A concentrazione 40 g/L il biochar da stocchi di mais non presenta per alcun VFA valori superiori alle soglie EC10, EC50 o EC90.

Per quanto riguarda i biochar da pollina, alla concentrazione 100 g/L, tutte e tre le tipologie di biochar (pirolizzate a 400, 500 e 600°C) presentano valori di acido acetico paragonabili ai valori EC riscontrati da Himanen M. et al. (2012); in particolare il biochar a 400°C in entrambi i test supera notevolmente il valo-

re di EC90. Anche il biochar a 600°C mostra valori superiori alla soglia EC50 e infine il biochar a 500°C, nel primo test presenta un valore di acido acetico superiore al EC50 e un valore di acido propionico superiore al EC10 mentre nel secondo test solo un valore di acido acetico superiore al EC10.

A concentrazione 40 g/L il biochar da pollina presenta per il solo acido acetico valori superiori alle soglie EC10 nel test 1 per il biochar a 400°C e nel test 1 per il biochar a 600°C. Il biochar pirrolizzato a 400°C infine, per lo stesso acido supera nel test 2 il valore di EC50.

3.6 DETERMINAZIONE AZOTO AMMONIACALE

Sebbene l'azoto sia uno degli elementi più largamente diffusi in natura, esso è spesso scarsamente disponibile per la nutrizione delle piante e pertanto costituisce un fattore limitante per lo sviluppo e la crescita dei vegetali. Infatti, anche nel caso di un contenuto molto elevato in azoto organico di un terreno (un terreno con lo 0,5% di azoto contiene in un ettaro circa 15 t di azoto), in media solo l'1% è disponibile per le piante a seguito dei processi di mineralizzazione, mentre il resto rimane come serbatoio di riserve potenziali.

Nel terreno l'azoto organico di origine animale, vegetale o microbico subisce una serie di trasformazioni ad opera dei microrganismi che lo trasformano in azoto ammoniacale (NH_4^+) e/o nitrico (NO_3^-) che può essere utilizzato da organismi vegetali e/o microbici ed essere trasformato di nuovo in azoto organico. Nei suoli agrari, nonostante gli interventi di concimazione azotata, il bilancio dell'azoto si chiude sempre in passivo poiché esso viene continuamente asportato con i raccolti andando a finire nella catena alimentare o animale. I vegetali superiori sono incapaci del tutto di utilizzare l'azoto molecolare (N_2) presente nell'atmosfera, processo svolto invece da alcuni microrganismi procarioti detti azotofissatori, sia liberi che in simbiosi con alcune specie vegetali (in particolare le leguminose).

Le piante possono invece utilizzare l'azoto presente nel terreno assorbendolo dalle radici come ione nitrato NO_3^- o ione ammonio NH_4^+ . Le piante utilizzano prontamente NH_4^+ come fonte azotata quando esso è disponibile evitando così il processo di riduzione del nitrato. Tuttavia, nella maggior parte dei suoli aerobi NH_4^+ non risulta essere importante come fonte azotata a causa dell'attività ossidativa dei batteri chemioautotrofi (*Nitrosomonas* e *Nitrobacter*) e del fatto che esso è adsorbito sulle particelle colloidali. Il nitrato assorbito dalle radici può essere ridotto ed assimilato nelle radici stesse ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NH}_4^+ \rightarrow$ glutammina) o essere trasportato alle foglie come NO_3^- per essere poi ridotto ed assimilato in loco.

La disponibilità delle forme azotate nel suolo dipende da svariati fattori abiotici (livello di ossigeno, pH, umidità, temperatura) e biotici (popolazioni microbiche) che influenzano la concentrazione delle forme di azoto inorganico e fanno variare questa disponibilità in modo più o meno marcato. Per questo motivo le piante hanno sviluppato dei meccanismi di assorbimento in grado di contrastare tali variazioni. L'assorbimento dell'azoto ammoniacale e di quello nitrico dipende da diversi fattori tra i quali di fondamentale importanza è la specie vegetale. Ad esempio, le piante calcifughe, vale a dire piante adattatesi a bassi valori di pH del suolo, e quelle, come il riso, che crescono a bassi valori di potenziale riducente, preferiscono lo ione NH_4^+ . Al contrario, le piante calcicole, che si sono adattate a terreni calcarei o terreni non calcarei con pH alcalino, assorbono preferibilmente lo ione NO_3^- .

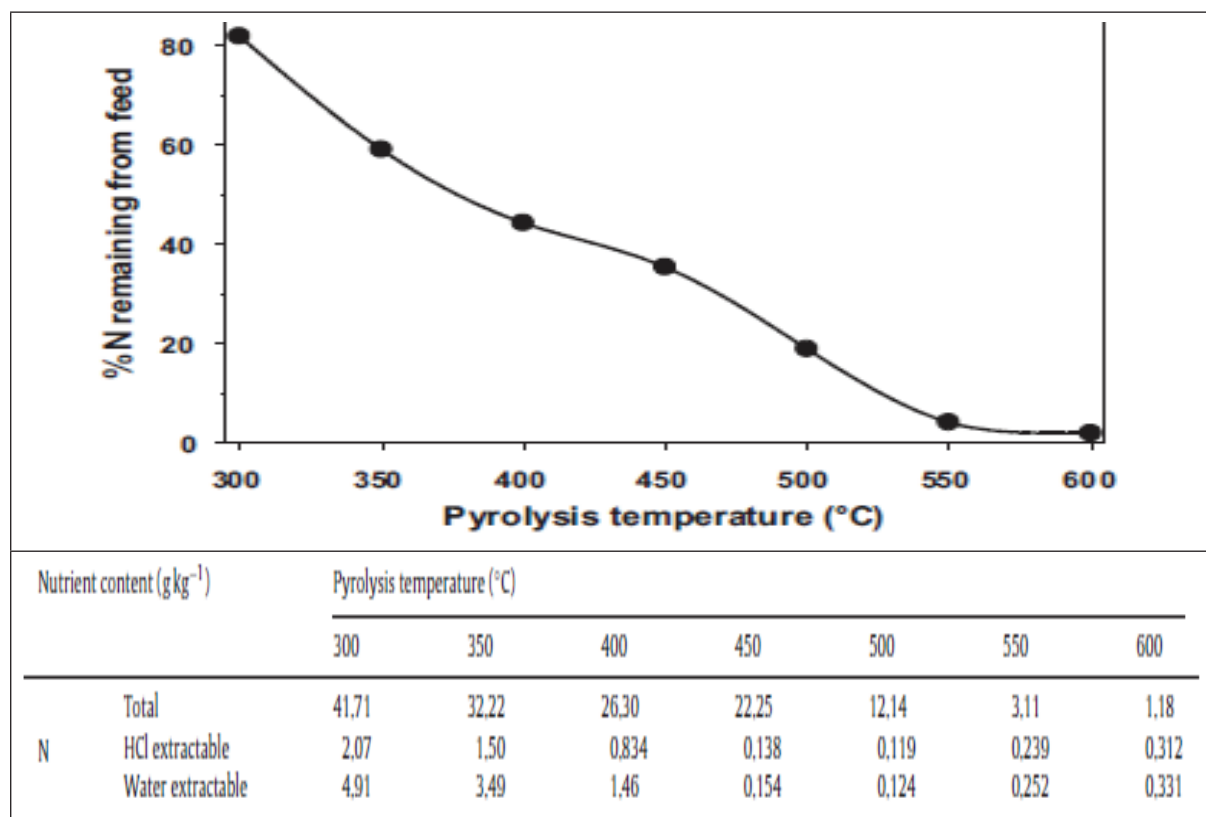
Il quantitativo in azoto ammoniacale (N-NH_4^+), effettuato sui tre tipi di biochar ottenuti dalla pirrolisi dei pellet di pollina, è riportato nella tabella 29.

[mg/kg]	Pollina 400°Cx20 min.	Pollina 500°Cx10 min.	Pollina 600°Cx5 min.
N-NH_4^+	43,8	24,1	14,0
N-NH_4^+ (s.s.)	44,9	24,8	14,5

Tab. 29

Valori di azoto ammoniacale nei biochar da pollina (su peso umido e su sostanza secca-s.s)

Dai risultati in tabella 29 si riscontra che il quantitativo in azoto ammoniacale nei tre tipi di biochar da pollina diminuisce all'aumentare della temperatura, trend confermato anche dai risultati ottenuti da Song W. et al., (2012) (tab. 30).



Tab. 30
Variazioni in contenuto di N in biochar da pollina ottenuti a diverse temperature (Song W. et al., 2012)

Nell'esperimento di Song W. et al., (2012) si è confrontato il contenuto in nutrienti della pollina non pirolizzata col corrispettivo biochar. Se per nutrienti come il fosforo (P), potassio (K), calcio (Ca) e magnesio (Mg) la concentrazione è aumentata pirolizzando la pollina (rispetto alla biomassa tal quale), con un trend positivo legato all'aumento della temperatura di pirolisi, per quanto riguarda il contenuto in azoto (N), questo è diminuito rispetto alla pollina fresca e la perdita di azoto è stata più significativa tanto più si è alzata la temperatura di pirolisi.

Ad una temperatura di pirolisi superiore di 400°C, la maggior parte dell'azoto (>56%) è stato perso sotto forma di volatili (es. N₂O, NO, NO₂) nel bio-olio e nel syngas.

La pirolisi di biochar da reflui zootecnici, tra cui la pollina, dovrebbe essere condotta a basse temperature (ad es. 300°C) per conservare il contenuto di azoto.

L'azoto nel biochar da pollina, d'altro canto, è presente soprattutto in forma organica non estraibile (> 95%, con meno del 5% di NO₃⁻-N e NH₄⁺-N) (Song W. et al., 2012).

3.7 TEST DI GERMINAZIONE

3.7.1 Considerazioni generali test di germinazione

Biochar ottenuti da diverse biomasse e attraverso condizioni di pirolisi differenti potrebbero non essere ugualmente adatti come ammendanti del suolo, soprattutto se contengono composti indesiderati che potrebbero inibire la germinazione del seme e lo sviluppo iniziale delle radici (Garnett et al., 2004; Hille e Den Quden, 2005).

A causa di questa variabilità tra i biochar, come riportato in letteratura, si è cercato di valutare come saggio biologico l'uso di piastre Petri senza suolo; infatti esso rappresenta un test ecotossicologico rapido e semplice, utile per uno screening preliminare dei biochar, prima di una loro applicazione

nel suolo come ammendante. Test biologici rapidi, tra cui le prove di germinazione, sono considerati adatti a valutare la presenza di eventuali composti tossici (Major, 2009).

L'uso di piastre Petri senza suolo (solo miscele acqua/biochar), oltre a fornire indicazioni consistenti sui potenziali effetti dei biochar sulla germinazione e sullo sviluppo iniziale della piantina nel suolo, offre il vantaggio di evitare che il tipo di suolo utilizzato possa complicare l'interpretazione ecotossicologica preliminare dovuta alla variabilità stessa del suolo (variabilità fisica, chimica e microbica) (OECD, 1984).

In letteratura vengono riportati risultati in cui il biochar fa aumentare (Chan et al., 2008; Yamato et al., 2006) o fa diminuire (Deenik et al., 2010) la crescita delle piante e la resa ma pochi sono gli studi sull'effetto dei biochar sugli stadi iniziali dello sviluppo della pianta, come la germinazione e la crescita del seme.

La stimolazione o l'inibizione della germinazione legata all'applicazione di biochar è stata investigata, per la maggior parte dei casi, su vegetazione forestale (Choi et al., 2009; Pierce e Moll, 1994; Reyes e Casal, 2006; Tian et al., 2007). Per piante ad uso agricolo, un carbone attivo (trattato a vapore) ha stimolato la germinazione di patate (Bamberg et al., 1986), mentre in un altro studio condotto da Van Zwieten et al. (2010) si è dimostrato come la germinazione del grano sia aumentata con l'apporto di biochar da cartiera ad un tasso di 10 ton/ha. Al contrario Free et al. (2010), riferiscono che il tasso di germinazione non è stato significativamente alterato dall'apporto di biochar prodotti da un'ampia varietà di biomasse organiche.

Nello studio sulla germinazione di Zakaria et al., (2011), analogo in termini di procedura e concentrazioni a quello effettuato da Mancini E. (2013), viene riportato che l'applicazione di cinque tipologie di biochar (prodotti da 'Oil Mallee' [VERVE Pty Ltd, Australia Occidentale], lolla di riso [Filippine], 'New Jarrah' [SIMCOA Pty Ltd, Australia occidentale], 'Old Jarrah' [carbone metallurgico vecchio di 35 anni] e pula di frumento [Sud Africa]) con concentrazioni tra 10-50 g l⁻¹ (10 e 50 t ha⁻¹), produce un aumento sulla germinazione, che invece si riduce, o non produce alcun effetto, per quantità più elevate come 100 g l⁻¹ (100 t ha⁻¹).

I test di tossicità eseguiti nella mia sperimentazione sono due: il primo per valutare l'effetto di diversi biochar a diversa concentrazione sulla germinazione seguendo la metodologia, normata dalla ISO 11269:2012, usata anche da Zakaria et al., (2012) e Mancini E., (2013). Le quantità di biochar riportate in letteratura, relative anche ad una applicazione nel suolo, sono comprese tra 1 e 100 t ha⁻¹ (Jeffery et al., 2011; Zakaria et al., 2012, Quilliam, 2012).

Si è quindi scelto di valutare nel primo test l'effetto del biochar sulla germinazione, alle concentrazioni che possono rispecchiare una reale applicazione nel suolo: 2, 5, 40 e 100 g l⁻¹ che corrispondono a 2, 5, 40, 100 ton ha⁻¹ per uno spessore di 10 cm; se si considera uno spessore di 30 cm invece, le concentrazioni sopra indicate corrispondono a 6, 15, 120, 300 ton ha⁻¹. Per questo test sono stati utilizzati semi di *Lepidium sativum* L. (Crescione) e *Sorghum saccharatum* Moench (Sorgo).

Il secondo test, seguendo la normativa UNI 11357, valuta invece l'effetto di tossicità alla massima concentrazione delle diverse tipologie di biochar, ossia nell'ipotesi che il substrato su cui germinano i semi sia costituito completamente da biochar. La normativa descrive un metodo per determinare gli effetti tossici cronici di sostanze presenti in matrici acquose sulla germinazione e allungamento radicale di semi di monocotiledoni e dicotiledoni. Nel mio lavoro di tesi mi sono limitato a misurare il tasso di germinazione per i semi di due dicotiledoni (*Cucumis sativus* L. e *Lepidium sativum* L.) e di una monocotiledone (*Sorghum saccharatum* Moench) come espresso dalla normativa.

Prima di effettuare entrambi i test si è proceduto alla determinazione del pH (tab. 31), della conduttività elettrica (tab. 32) delle miscele acqua/biochar e infine della ritenzione idrica (tab. 33) dei biochar: tutte informazioni richieste dalle normative adottate nei test di germinazione (per quanto riguarda i tre biochar da pollina non sono stati effettuati i test di germinazione alla concentrazione [100g/L], per cui i valori di conduttività elettrica non sono disponibili a tale concentrazione, quelli di pH erano stati calcolati precedentemente insieme all'analisi elementare, quindi sono disponibili).

pH	[2g/L]	[5g/L]	[40g/L]	[100g/L]
Mais 400°C x 20 minuti	7,6	8,0	8,5	9,7
Mais 500°C x 10 minuti	8,2	8,5	9,3	10,4
Mais 600°C x 5 minuti	8,4	8,9	10,1	10,5
Pollina 400°C x 20 minuti	8,0	9,0	9,7	10,4
Pollina 500°C x 10 minuti	8,4	9,3	10,2	10,8
Pollina 600°C x 5 minuti	9,4	9,8	10,3	11,3

Tab. 31
Valori di pH delle miscele acqua/biochar

Cond.elettrica [μS/cm]	[2g/L]	[5g/L]	[40g/L]	[100g/L]
Mais 400°C x 20 minuti	16,2	75,6	1777,0	3740,0
Mais 500°C x 10 minuti	72,3	76,3	1986,0	4640,0
Mais 600°C x 5 minuti	194,0	355,0	1930,0	4160,0
Pollina 400°C x 20 minuti	712,0	1294,0	7262,0	-
Pollina 500°C x 10 minuti	875,0	1526,0	7667,0	-
Pollina 600°C x 5 minuti	929,0	1980,0	8109,0	-

Tab. 32
Valori di conduttività elettrica delle miscele acqua/biochar

Biochar	Ritenzione idrica [%]
Mais 400°C x 20 minuti	69,5
Mais 500°C x 10 minuti	81,1
Mais 600°C x 5 minuti	73,7
Pollina 400°C x 20 minuti	88,6
Pollina 500°C x 10 minuti	94,1
Pollina 600°C x 5 minuti	92,3

Tab. 33
Valori di ritenzione idrica dei biochar analizzati

Dai risultati espressi nella tabella 31 si nota come, per tutti i biochar, il pH delle miscele aumenti all'aumentare della quantità di biochar presente. Il pH delle miscele con biochar da pollina è superiore a quello delle miscele con biochar da stocchi di mais. D'altronde il valore di pH per le miscele tende ad essere maggiore per i biochar con livelli maggiori di ceneri (nel mio caso quelli da pollina), le quali aumentano all'aumentare della temperatura di pirolisi (Yuan et al., 2011). Questo può essere messo in relazione con il fatto che le ceneri contribuiscono a rendere le soluzioni basiche per la presenza dei sali, tipo CaCO_3 e MgCO_3 e di anioni organici sulla superficie del biochar (Yuan et al., 2011).

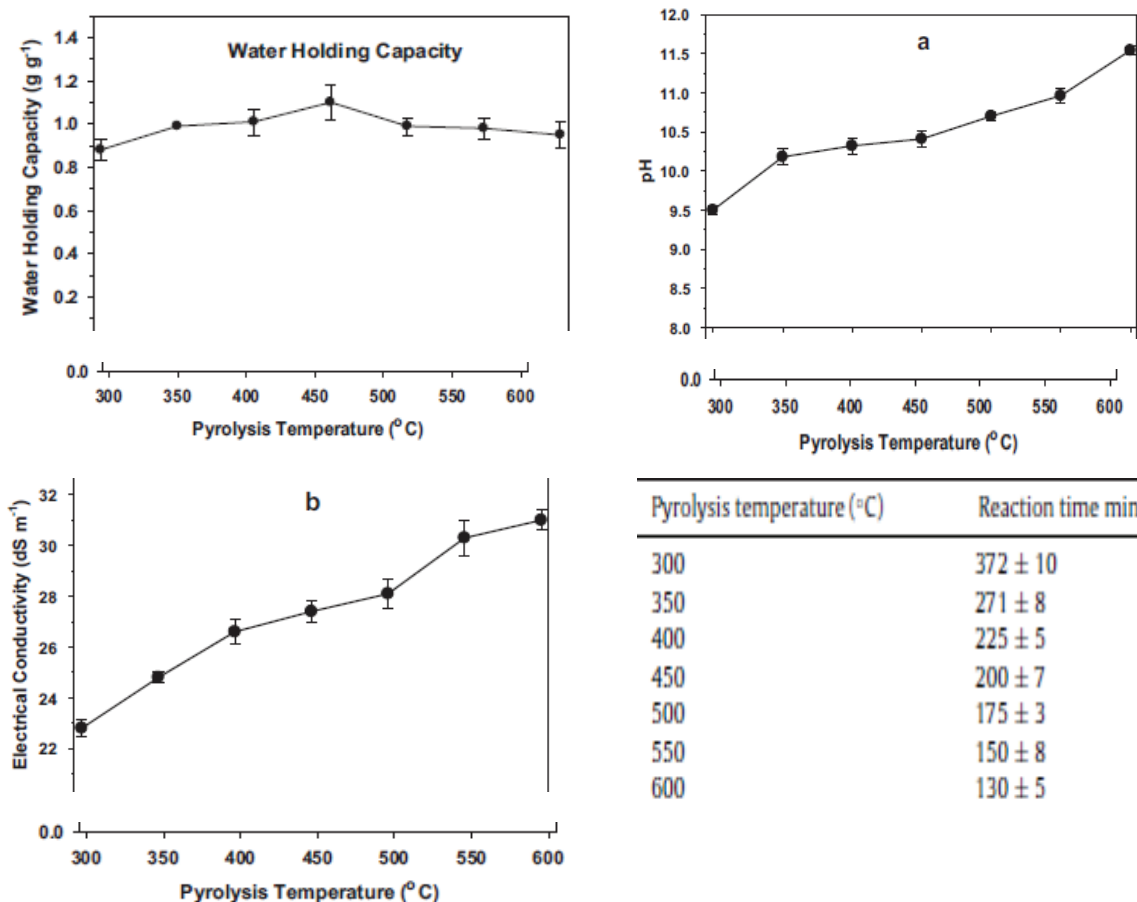
I valori di pH registrati da Conti (2012) per quanto riguarda il biochar da stocchi di mais su miscele al 10% p/p sono leggermente inferiori: 9,6 per il biochar 400°C x 20 minuti, 10,3 per il biochar 500°C x 10 minuti e 9,9 per il biochar 600°C x 5 minuti. Anche i valori di pH per quanto riguarda il biochar da pollina sono leggermente inferiori rispetto a quelli registrati da Conti (2012): 10,3 per il biochar 400°C x 20 minuti, 9,9 per il biochar 500°C x 10 minuti e 10,2 per il biochar 600°C x 5 minuti.

Per quanto riguarda la conduttività elettrica (tab. 32), dai risultati si evince che tale parametro aumenta notevolmente all'aumentare della quantità di biochar, con un incremento massimo nelle miscele con il biochar da pollina in cui i valori di conduttività superano nettamente le corrispondenti miscele con biochar da stocchi di mais. Persino le miscele a 40 g l⁻¹ (pollina) mostrano valori doppiamente più elevati rispetto alle miscele 100 g l⁻¹ di biochar da stocchi di mais. Inoltre questo parametro aumenta con la temperatura di pirolisi, poichè aumenta il contenuto in ceneri e quindi anche l'insieme dei sali presenti in soluzione.

Considerando la sua elevata salinità, il biochar da pollina dovrebbe essere applicato nel suolo a tassi controllati per limitare potenziale tossicità sulla germinazione e sullo sviluppo del seme (Song W. et al., 2012).

Infine come valori di ritenzione idrica (tab. 33) si constata che, a parità di condizioni di pirolisi, il biochar da pollina possiede una capacità di trattenere acqua superiore al biochar da stocchi di mais.

In tabella 34 vengono riportati alcuni dei risultati di uno studio condotto da Song W. et al., (2012), volto a caratterizzare biochar da pollina pirolizzati a diverse temperature e tempi di residenza che diminuiscono all'aumentare della temperatura (condizioni di pirolisi con tempi di residenza molto più lunghi; condizioni più "industriali", piuttosto che da reattore da banco come nel mio caso).



Tab. 34

Grafici di capacità di ritenzione idrica (WHC), pH e conduttività elettrica di biochar da pollina (Song W. et al., 2012)

La capacità di ritenzione idrica si mantiene costantemente attorno a valori prossimi al 90-100%, con un picco di 110% nel caso del biochar pirolizzato a 450°C. I valori di pH e conduttività elettrica, entrambi condotti ad un rapporto 1:5 biochar/acqua, crescono all'aumentare della temperatura di pirolisi, risultati in accordo con quelli ottenuti nella mia sperimentazione.

3.7.2 Risultati test di germinazione a diverse concentrazioni acqua/biochar

Per analizzare statisticamente i dati di germinazione a diverse concentrazioni acqua/biochar si sono effettuate tre analisi della varianza, ciascuna ad un singolo fattore (come fattore è stato considerato il trattamento inteso come controllo o miscela acqua/tipo di biochar):

1. Biochar da stocchi di mais e germinazione crescione;
2. Biochar da stocchi di mais e germinazione sorgo;
3. Biochar da pollina e germinazione crescione;

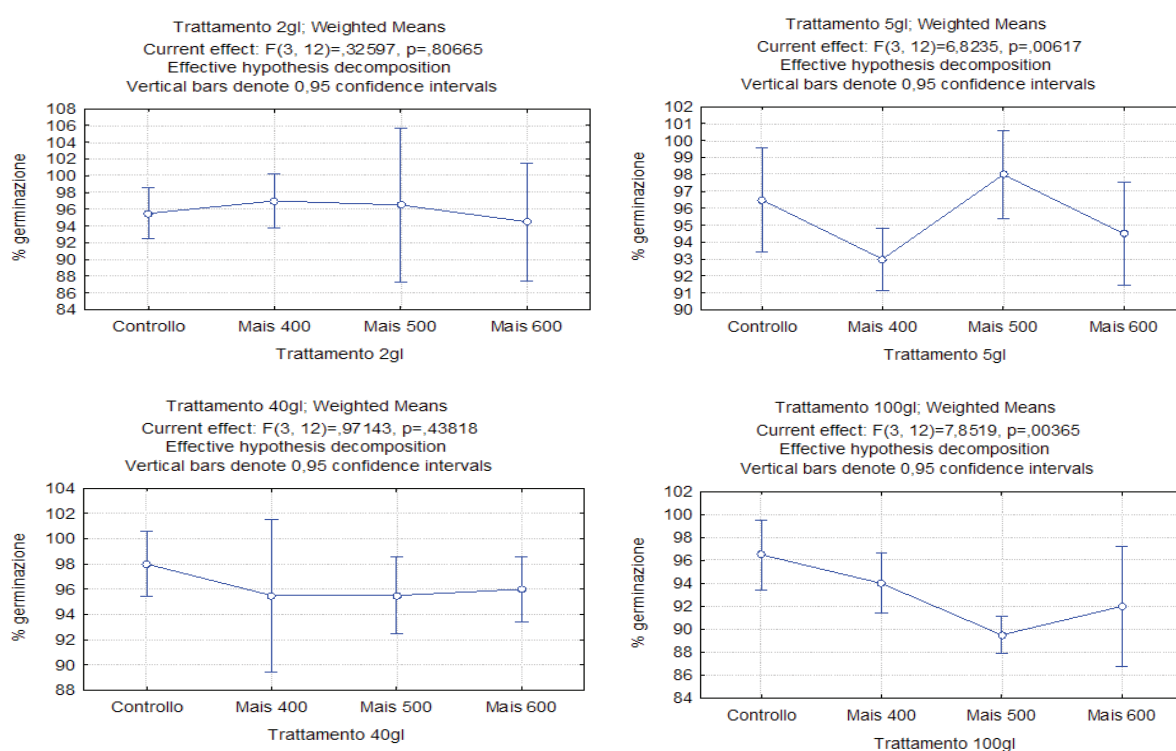
Inoltre per ciascuna ANOVA è stato effettuato il test di Cochran per verificare l'assunzione di normalità dei dati, il test di Dunnett (per confronti multipli rispetto ad un controllo) e infine il test post-hoc SNK (Student-Newman-Keuls).

- **Biochar da stocchi di mais e germinazione crescita**

Alla concentrazione 2 g/L le tre miscele di biochar da stocchi di mais (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) non hanno provocato alla germinazione del crescione differenze significative ($p > 0,05$) rispetto al controllo. Alla concentrazione 5 g/L, il biochar 400°C x 20 minuti ha provocato differenze significative (minor tasso di germinazione) rispetto al controllo, mentre per gli altri due biochar nessuna differenza significativa.

Alla concentrazione 40 g/L, le tre miscele di biochar da stocchi di mais (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) non hanno provocato differenze significative rispetto al controllo.

Infine alla concentrazione 100 g/L il biochar sintetizzato a 400°C è stato l'unico dei tre a non provocare un calo significativo alla germinazione del crescione (graf. 5).



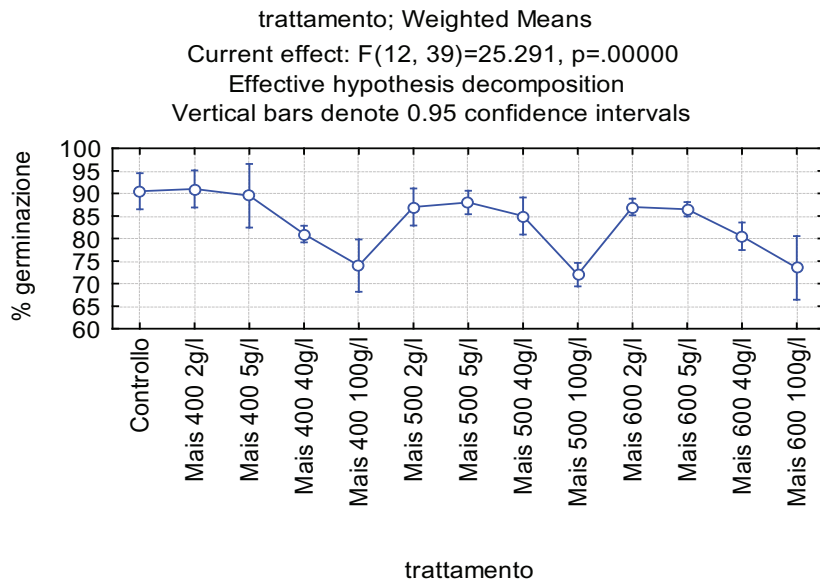
Graf. 5

Percentuale di germinazione del crescione alle diverse miscele biochar da stocchi di mais/acqua

- **Biochar da stocchi di mais e germinazione sorgo**

Alla concentrazione di 2 g/L e 5 g/L le tre miscele di biochar da stocchi di mais (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) non hanno provocato alla germinazione del sorgo differenze significative ($p > 0,05$) rispetto al controllo.

Invece alle concentrazioni 40 g/L e 100 g/L, le tre miscele di biochar da stocchi di mais (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) hanno provocato differenze significative rispetto al controllo (graf. 6).



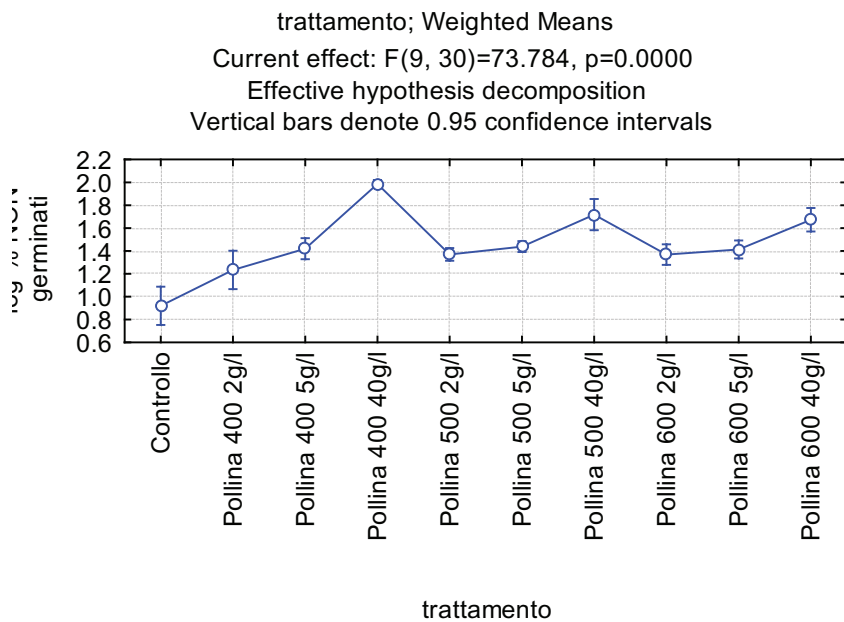
Graf. 6
 Percentuale di germinazione del sorgo alle diverse miscele biochar da stocchi di mais/acqua

• **Biochar da pollina e germinazione crescita**

Alla concentrazione 2 g/L le tre miscele di biochar da pollina (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) hanno provocato alla germinazione del crescita differenze significative (minor tasso di germinazione) ($p>0,05$) rispetto al controllo. Alla concentrazione 5 g/L, i tre biochar hanno provocato differenze significative rispetto al controllo e alla concentrazione 2 g/L.

Alla concentrazione 40 g/L, le tre miscele di biochar da pollina (400°C x 20 min, 500°C x 10 minuti, 600°C x 5 min) hanno provocato differenze significative rispetto al controllo e alle miscele 2 e 5 g/L, con un ulteriore calo significativo alla germinazione del crescita, in particolare il biochar da pollina 400°C x 20 minuti si è rivelato essere il più tossico dei tre (graf. 7).

Da sottolineare il fatto che per soddisfare l'assunzione di normalità dei dati (valutata tramite test di Cochran) è stata necessaria effettuare una trasformazione ai dati tramite la funzione arcoseno della radice quadrata del tasso dei germinati ($=\text{ARCSEN}(\text{RADQ}[x])$).



Graf. 7
 Percentuale di germinazione del crescita alle diverse miscele biochar da pollina/acqua (dati trasformati)

3.7.3 Risultati test di germinazione UNI 11357

Per effettuare l'analisi statistica del test di germinazione UNI 11357 si sono valutati i dati nel seguente modo: le specie di semi utilizzati e le tipologie di trattamento (controllo, i 3 tipi di biochar da stocchi di mais e i 3 da pollina) sono state considerate come 2 fattori ortogonali tra loro:

- Fattore 1 fisso (no random): Specie su 3 livelli (crescione, sorgo, cetriolo);
- Fattore 2 fisso (no random): Trattamento su 7 livelli (controllo, 3 tipi mais, 3 tipi pollina); ognuno dei quali con 4 repliche.

Per questa analisi non è stata necessaria alcuna trasformazione ai dati per soddisfare l'assunzione di normalità dei dati (valutata tramite test di Cochran). Questo tipo di analisi a due fattori ortogonali ha permesso di valutare, oltre alla significatività dei due fattori considerati singolarmente, anche l'interazione dei due fattori (specie x trattamento) considerati contemporaneamente.

Innanzitutto si è valutata se ci fossero significative differenze nella germinazione delle tre specie nei confronti del controllo. Anche se la germinazione del crescione è stata la più alta (pari al 94%) rispetto al sorgo (91%) e al cetriolo (90%), le differenze non sono risultate significative ($p > 0,05$); quindi le tre specie di piante testate senza biochar germinano allo stesso modo.

Proseguendo nella considerazione delle risposte delle tre specie al singolo trattamento (prima il controllo, ora biochar da stocchi di mais 400°C x 20 minuti), la germinazione del crescione non è risultata significativamente ($p > 0,05$) diversa rispetto a quella del sorgo. Invece la germinazione del cetriolo è risultata significativamente inferiore rispetto alle altre due specie.

Al trattamento mais 500°C x 10 minuti le differenze tra le tre specie non sono risultate significative.

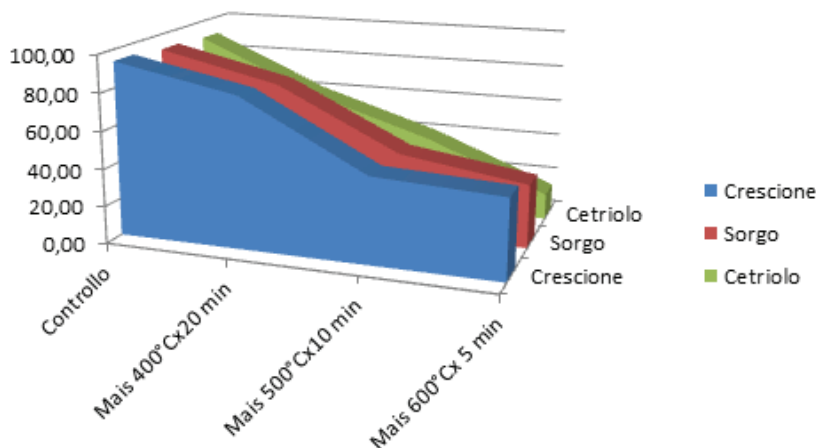
Al trattamento mais 600°C x 5 minuti le differenze tra specie sono risultate tutte significative: in particolare tra il cetriolo e il sorgo le differenze sono risultate normalmente significative mentre tra il crescione e le altre due altamente significative.

Per quanto riguarda i tre biochar da pollina, questi sono risultati completamente tossici per tutte e tre le specie.

Prendendo in considerazione singolarmente la risposta di ogni specie di seme ai 4 trattamenti (controllo più i tre tipi di biochar da stocchi di mais, la pollina come già detto è risultata completamente fitotossica a questa concentrazione) è risultato che, per il crescione le differenze tra il controllo (94% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (81%), mais 500°C x 10 minuti (41%) e mais 600°C x 5 minuti (14%) sono tutte altamente significative; per il sorgo le differenze tra il controllo (91% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (77%), mais 500°C x 10 minuti (46%) sono altamente significative, mentre tra il mais 600°C x 5 minuti (43%) e il mais 500°C x 10 minuti le differenze non sono significative.

Infine per quanto riguarda il cetriolo le differenze tra il controllo (90% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (61%), mais 500°C x 10 minuti (44%) e mais 600°C x 5 minuti (34%) sono risultate tutte altamente significative.

I risultati di questo test sono illustrati nel grafico 8.



Graf. 8
Percentuali di germinazione del crescione, sorgo e cetriolo nel test UNI11357

3.7.4 Considerazioni finali test di germinazione

I due test di germinazione effettuati nella mia tesi sono stati svolti per valutare sia un potenziale effetto inibente dei biochar sintetizzati alle concentrazioni che possono rispecchiare una reale applicazione nel suolo: 2, 5, 40 e 100 g l⁻¹ (primo test), sia l'effetto di potenziale tossicità dei biochar alla massima concentrazione di applicazione (secondo test).

Per quanto riguarda la prima biomassa residuale testata, ovvero gli stocchi di mais, si osserva nel primo test che le miscele fino a 40 g/L non provocano cali significativi alla germinazione del crescione rispetto al controllo, mentre per quanto riguarda le miscele a 100 g/L, i biochar pirolizzati a 500 e 600°C provocano un calo significativo rispetto al controllo, che comunque consente una germinazione prossima al 90%.

Considerando la stessa tipologia di biomassa, ma cambiando la pianta testata (prima crescita adesso sorgo), le miscele fino a 5 g/L non provocano differenze significative alla germinazione mentre, per tutte e tre le tipologie di biochar da stocchi di mais alle concentrazioni 40 e 100 g/L, si evidenzia un calo significativo rispetto al controllo fino a percentuali di germinazione tra 80 e 85% circa (per le miscele 40 g/L) e comprese tra 72 e 74% (per quanto riguarda le miscele a 100 g/L).

Infine considerando sempre i biochar da stocchi di mais, ma passando alle condizioni più estreme del secondo test è risultato che, per il crescione le differenze tra il controllo (94% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (81%), mais 500°C x 10 minuti (41%) e mais 600°C x 5 minuti (14%) sono tutte altamente significative; per il sorgo le differenze tra il controllo (91% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (77%), mais 500°C x 10 minuti (46%) sono altamente significative, mentre tra il mais 600°C x 5 minuti (43%) e il mais 500°C x 10 minuti le differenze non sono significative.

Infine per quanto riguarda il cetriolo le differenze tra il controllo (90% di germinazione), mais 400°C x 20 minuti (61%), mais 500°C x 10 minuti (44%) e mais 600°C x 5 minuti (34%) sono risultate tutte altamente significative.

Quindi si constata che, per quanto riguarda il biochar da stocchi di mais, sia le concentrazioni a 100 g/L sia quelle adottate nel test UNI11357, provocano una diminuzione significativa alla germinazione, e queste diminuzioni sono più accentuate tanto più aumenta la temperatura di pirolisi dei biochar.

Passando all'altra biomassa studiata, la pollina, si osserva nel primo test (effettuato solo sul crescione) che fin dalle concentrazioni più basse, ovvero 2 e 5 g/L, si hanno cali di germinazione significativi rispetto al controllo; diminuzione nel numero dei germinati che diventa ancor più evidente aumentando la concentrazione delle miscele biochar/acqua a 40 g/L. In particolare, il biochar da pollina che mostra un potenziale effetto tossico più marcato, è quello pirolizzato a 400°C x 20 minuti.

Nel secondo test, invece, le tre tipologie di biochar da pollina hanno provocato una germinazione delle specie vegetali testate pari a zero, fatto che induce a pensare che le condizioni del test UNI11357 siano proibitive per questo tipo di biomassa ai fini della germinazione.

I biochar utilizzati nella mia sperimentazione sono alcalini. Sia l'alta alcalinità, sia l'alta acidità può inibire la germinazione dei semi (Pierce et al., 1999; Horne et al., 1996).

La diminuzione del tasso di germinazione osservata alle più alte concentrazioni di applicazione potrebbe essere dovuto alla presenza in traccia, nei biochar, di composti fitotossici che agiscono solo al di sopra dei tassi agronomici attuali di applicazione (Thies e Rillig, 2009).

Alcuni biochar, in particolare quelli prodotti a temperature più elevate o derivanti da deiezioni animali (Chan e Xu, 2009; Novak et al., 2009), possono avere un elevato contenuto in ceneri, che possono sia fornire micro e macronutrienti benefici, ma anche provocare effetti negativi sulla germinazione a causa dello stress salino o della presenza di metalli pesanti (Chan et al., 2007; Chan et al., 2008; Rondon et al., 2007).

Durante la pirolisi si formano composti fitotossici come gli IPA e i fenoli, entrambi ampiamente noti come fattori di stress (Hilber et al., 2012). È riportato in letteratura che gli IPA nel biochar inibiscono la germinazione del mais (Rogovska et al., 2011). I fenoli possono essere responsabili di effetti fitotossici. È noto che durante la decomposizione della paglia, vengono rilasciati composti fenolici che inibiscono la germinazione (Patrick, 1971, Cochrane et al., 1977).

Bargmann et al. (2013), nel loro studio hanno constatato che i possibili composti fitotossici presenti nel biochar sono per lo più solubili in acqua. La natura idrosolubile di queste sostanze è confermata dall'osservazione che la maggior parte dei biochar utilizzati nei test di germinazione perdevano il loro effetto negativo sulla germinazione dopo un prelavaggio. Questo risultato è supportato anche dalla sperimentazione condotta da Rogovska et al. (2011), nella quale l'inibizione alla germinazione scompariva quando i biochar venivano lavati prima di testarli sui semi.

Gell K. et al. (2011) hanno investigato la fitotossicità di alcuni biochar da deiezioni animali (tra cui anche biochar da pollina); alcuni biochar, probabilmente a causa di alti valori di conduttività elettrica e della presenza di composti organici idrosolubili, hanno rivelato un rischio potenziale alla germinazione. Un'altra possibile causa potrebbe essere stata la presenza di idrocarburi policiclici aromatici (IPA) nei biochar. Sempre in questo studio condotto da Gell K. et al. (2011), si è notato che i biochar che esibivano effetti inibenti alla germinazione erano quelli pirolizzati a più bassa temperatura, biochar che contenevano, a causa delle temperature di sintesi più basse, un numero più elevato di gruppi funzionali chimicamente attivi, i quali aumentano la capacità di scambio cationico e la quantità di carbonio non stabile. Un ultimo meccanismo è stato proposto per spiegare la fitotossicità dei biochar, ovvero la capacità di aumentare il pH. Comunque nell'esperimento Gell K. et al. (2011) non è stata riscontrata alcuna correlazione tra pH e tossicità dei biochar. Gli Autori hanno concluso che, per quanto riguarda biochar da deiezioni animali, caratteristiche di bassa conduttività elettrica (bassa salinità) e/o temperature di pirolisi elevate, sembrano minimizzare la fitotossicità dei biochar.

CONCLUSIONI

Nel presente lavoro sono stati studiati biochar derivanti da due diverse tipologie di biomasse residuali: una biomassa erbacea, gli stocchi di mais, e una biomassa ottenuta da reflui zootecnici, la pollina. I biochar sono stati prodotti tramite un reattore pirolitico da banco a letto fisso, a diverse condizioni di sintesi in termini di temperatura e tempo di residenza (rispettivamente 400°C x 20 minuti, 500°C x 10 minuti e 600°C x 5 minuti).

L'influenza della tipologia di biomassa e dei parametri di pirolisi adottati è stata valutata tramite analisi differenti: analisi elementare, determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), analisi a livello molecolare mediante pirolisi accoppiata al sistema GC-MS (Py-GC-MS), indicazioni sul contenuto in acidi grassi volatili (VFA) e determinazione dell'azoto ammoniacale (N-NH_4^+).

Infine sulle tipologie di biochar sintetizzate sono stati condotti test di germinazione in piastre Petri.

Tutto ciò è stato valutato poichè l'analisi delle caratteristiche chimiche dei biochar in relazione alle condizioni di sintesi, e gli studi di fitotossicità, sono alla base del processo conoscitivo riguardante le applicazioni del biochar in campo agricolo.

L'aspetto chiave sarebbe quello di individuare la migliore relazione tra tipologia di biomassa, condizioni di pirolisi, tipo di suolo e coltura. Lo studio è complesso per la diversità di queste variabili, soprattutto se si considerano i numerosi tipi di suolo.

Considerando le difficoltà degli studi in campo, una prima valutazione degli effetti negativi o positivi è stata condotta con test di tossicità brevi tramite capsule Petri.

La scelta delle biomasse è stata fatta in base all'ampia disponibilità delle stesse; la scelta delle diverse condizioni di sintesi (temperatura e tempo di residenza) invece si è basata su risultati di letteratura, poi confermati da questo lavoro di tesi, che evidenziano differenze significative tra i biochar in termini di grado di carbonizzazione.

Dai risultati ottenuti dalla pirolisi delle biomasse si può concludere che le rese di biochar diminuiscono all'aumentare della temperatura di pirolisi anche mantenendo tempi di residenza più brevi.

Il quadro che emerge dalle analisi elementari sui biochar evidenzia che: passando da condizioni di sintesi più blande a condizioni più spinte (per quanto riguarda la temperatura di pirolisi), si ha un incremento del livello di carbonizzazione caratterizzato da percentuali di carbonio circa costanti accompagnato da un decremento dei rapporti H/C e O/C. I biochar da stocchi di mais presentano valori più elevati di carbonio, idrogeno e ossigeno maggiori rispetto ai biochar di pollina. Quest'ultimi presentano invece valori di azoto e zolfo più elevati, e aumenta notevolmente il contenuto in ceneri.

I valori di pH delle miscele acqua/biochar sono basici e aumentano con l'aumento della temperatura. I biochar di pollina presentano i valori di pH maggiori probabilmente a causa dell'elevato contenuto di ceneri.

I valori dell'analisi elementare indicano quindi un aumento del grado di carbonizzazione, identificato da una riduzione dei rapporti molar O/C e H/C, con l'aumento della temperatura di pirolisi.

Tutti e sei i biochar contengono IPA a concentrazioni relativamente basse ($< 2 \mu\text{g g}^{-1}$ per i 16 IPA prioritari EPA) e sotto i limiti normativi, con i valori maggiori per quanto riguarda il biochar da pollina sintetizzato a 400°C x 20 minuti.

La Py-GC-MS ha permesso un'analisi dettagliata della composizione molecolare della frazione volatilizzabile dei biochar, con la possibilità di associare ad ogni prodotto di pirolisi il suo corrispondente precursore (olocellulosa, lignina, charred, proteine) utile per ottenere informazioni sul grado di carbonizzazione (frazione "charred") dei biochar.

Il contributo relativo della porzione "charred" aumenta con la temperatura (indice di un aumento del grado di carbonizzazione), in accordo con i risultati dell'analisi elementare.

La frazione di prodotti di pirolisi associata all'olocellulosa (più elevata nei biochar da stocchi di mais) e alle proteine (più rilevante nei biochar da pollina) è molto bassa per entrambi i biochar (indicando che la loro degradazione è già avanzata ad una temperatura di 400°C) e diminuisce all'aumen-

tare della temperatura mentre quella associata alla lignina è più consistente, ma anch'essa diminuisce passando a temperature di pirolisi più elevate.

Per quanto riguarda la valutazione preliminare sul contenuto degli acidi grassi volatili si deduce che i biochar da pollina presentano quantitativi superiori rispetto a quelli ottenuti dagli stocchi di mais, inoltre i valori più elevati si riscontrano, per entrambe le tipologie di biochar, alla temperatura di pirolisi di 400°C.

Il quantitativo in azoto ammoniacale (valutato per i biochar da pollina) diminuisce all'aumentare della temperatura di sintesi, indicando che la pirolisi dovrebbe essere condotta a basse temperature se si intende conservare il contenuto di azoto.

Sui biochar sono stati fatti due tipologie di test di germinazione.

Il primo test è stato condotto per valutare l'effetto dei diversi biochar, a concentrazione crescente (2, 5, 40 e 100 g/L), sulla germinazione seguendo la metodologia, normata dalla ISO 11269:2012.

Per questo test le concentrazioni delle miscele acqua/biochar sono state scelte sulla base delle quantità di biochar utilizzate come ammendante nel suolo.

Il secondo saggio di tossicità eseguito è stato quello descritto dalla normativa in materia UNI-11357, valutando l'eventuale effetto di tossicità alla massima concentrazione delle varie tipologie di biochar.

I semi utilizzati nel primo test sono stati: come specie dicotiledone il crescione (*Lepidium sativum* L.) e come specie monocotiledone il sorgo (*Sorghum saccharatum* M.); mentre i semi utilizzati per il secondo test sono stati: come specie dicotiledoni il cetriolo e il crescione (rispettivamente *Cucumis sativus* L. e *Lepidium sativum* L.) e come monocotiledone il sorgo (*Sorghum saccharatum* M.).

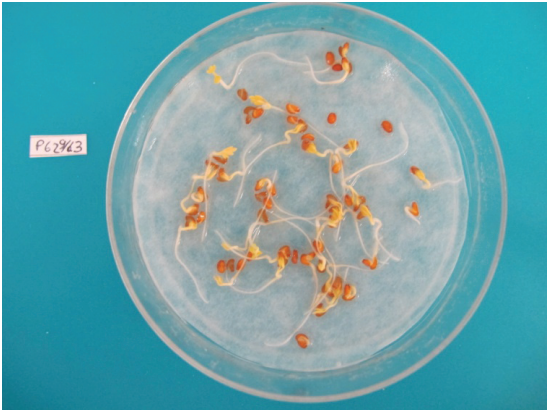
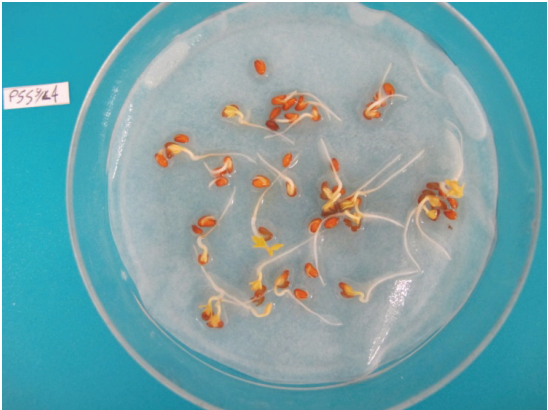
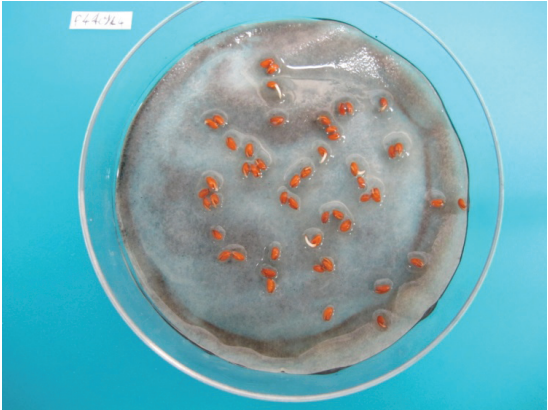
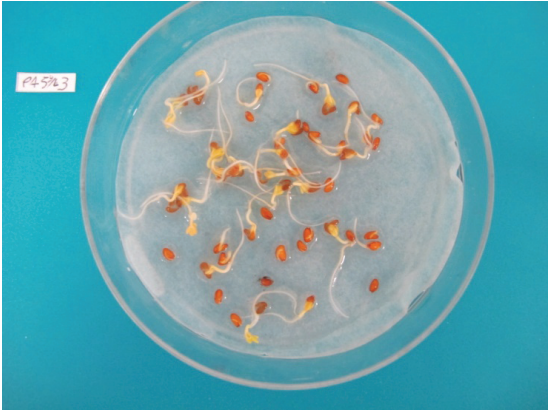
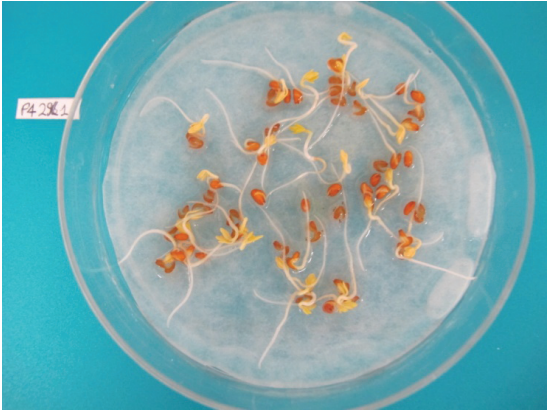
Dai risultati dei due test si constata che, per quanto riguarda il biochar da stocchi di mais, sia le concentrazioni a 100 g/L per entrambe le specie testate (ma anche la concentrazione a 40 g/L per il sorgo), sia quelle adottate nel test UNI-11357, provocano una diminuzione significativa alla germinazione, e queste diminuzioni sono più accentuate per i biochar più carbonizzati.

Per i biochar da pollina, si osserva nel primo test (effettuato solo sul crescione) che fin dalle concentrazioni più basse, ovvero 2 e 5 g/L, si hanno cali di germinazione significativi rispetto al controllo; diminuzione nel numero dei germinati che diventa ancor più evidente aumentando la concentrazione delle miscele biochar/acqua a 40 g/L. In particolare, il biochar da pollina che mostra un potenziale effetto tossico più marcato, è quello pirolizzato a 400°C x 20 minuti.

Nel secondo test, invece, le tre tipologie di biochar da pollina hanno provocato una germinazione delle tre specie vegetali testate pari a zero, fatto che induce a pensare che le condizioni del test UNI-11357 siano proibitive per questo tipo di biomassa ai fini della germinazione.

APPENDICE

FOTO PETRI



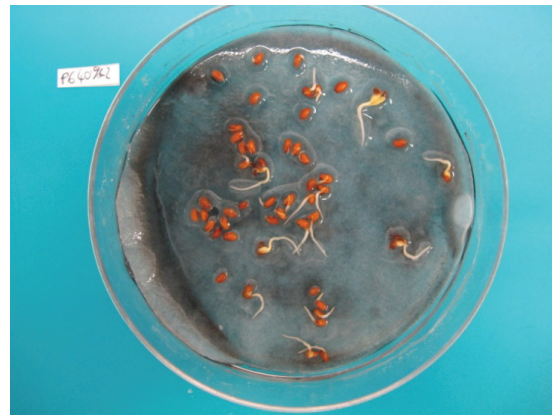
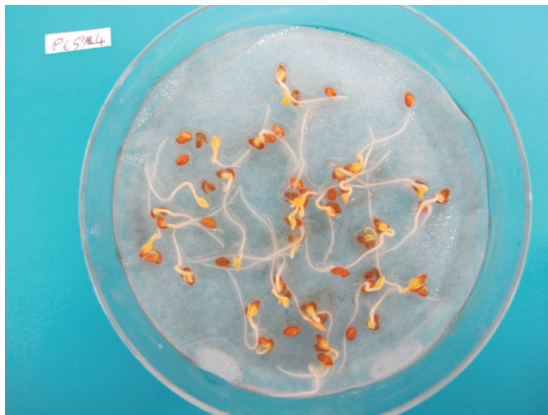


Foto Petri 1. Alcune foto delle piastre Petri della germinazione del crescione (*Lepidium sativum*), dopo circa 72 ore di germinazione. In ordine di lettura: controllo, miscela pollina 400°C x 20 minuti allo 0,2% p/v, miscela pollina 400°C x 20 minuti al 0,5% p/v, miscela pollina 400°C x 20 minuti al 4%, miscela pollina 500°C x 10 minuti allo 0,2% p/v, miscela pollina 500°C x 10 minuti al 0,5% p/v, miscela pollina 500°C x 10 minuti al 4%, miscela pollina 600°C x 5 minuti allo 0,2% p/v, miscela pollina 600°C x 5 minuti al 0,5% p/v, miscela pollina 600°C x 5 minuti al 4%.



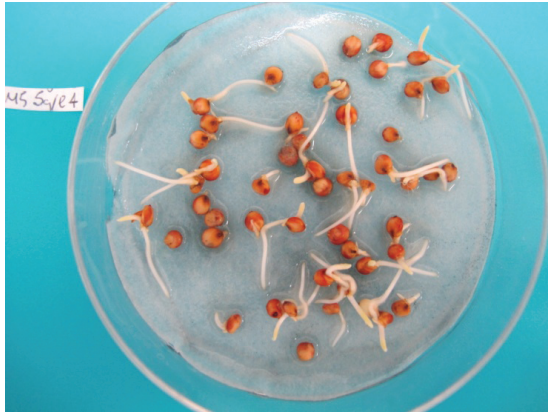


Foto Petri 2. Alcune foto delle piastre Petri della germinazione del sorgo (*Sorghum saccharatum* Moench), dopo circa 72 ore di germinazione. In ordine di lettura: controllo, miscela mais 400°C x 20 minuti allo 0,2% p/v, miscela mais 400°C x 20 minuti al 0,5% p/v, miscela mais 400°C x 20 minuti al 4%, miscela mais 400°C x 20 minuti al 10% p/v, miscela mais 500°C x 10 minuti allo 0,2% p/v, miscela mais 500°C x 10 minuti al 0,5% p/v, miscela mais 500°C x 10 minuti al 4%, miscela mais 500°C x 10 minuti al 10% p/v, miscela mais 600°C x 5 minuti allo 0,2% p/v, miscela mais 600°C x 5 minuti al 0,5% p/v, miscela mais 600°C x 5 minuti al 4%, miscela mais 600°C x 5 minuti al 10% p/v.

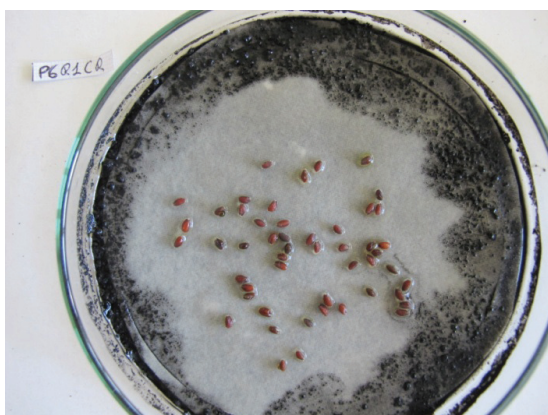
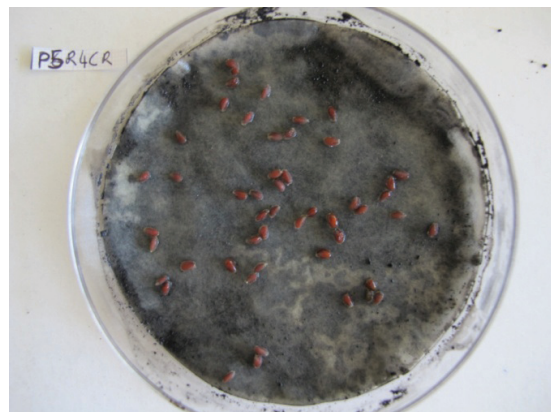


Foto Petri 3. (Test UNI 11357) Alcune foto delle piastre Petri della germinazione del crescione (*Lepidium sativum* L.), dopo 72 ore di germinazione. In ordine di lettura: controllo, mais 400°C x 20 minuti, mais 500°C x 10 minuti, mais 600°C x 5 minuti, pollina 400°C x 20 minuti, pollina 500°C x 10 minuti, pollina 600°C x 5 minuti.

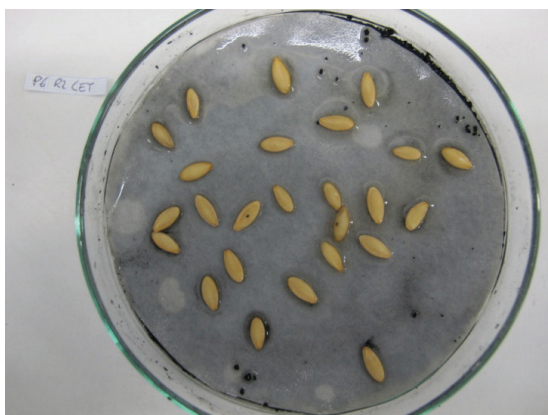


Foto Petri 4. (Test UNI 11357) Alcune foto delle piastre Petri della germinazione del cetriolo (*Cucumis sativus* L.), dopo 72 ore di germinazione. In ordine di lettura: controllo, mais 400°C x 20 minuti, mais 500°C x 10 minuti, mais 600°C x 5 minuti, pollina 400°C x 20 minuti, pollina 500°C x 10 minuti, pollina 600°C x 5 minuti.

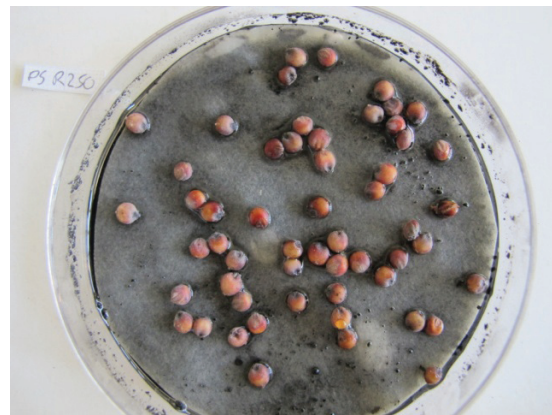


Foto Petri 5. (Test UNI 11357) Alcune foto delle piastre Petri della germinazione del sorgo (*Sorghum saccharatum* Moench), dopo 72 ore di germinazione. In ordine di lettura: controllo, mais 400°C x 20 minuti, mais 500°C x 10 minuti, mais 600°C x 5 minuti, pollina 400°C x 20 minuti, pollina 500°C x 10 minuti, pollina 600°C x 5 minuti.

Risultati test di germinazione a diverse concentrazioni acqua/biochar

Miscela biochar/acqua [2g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	49	48	47	47
Mais 400x20	47	49	49	49
Mais 500x10	49	50	50	44
Mais 600x5	45	46	48	50

Miscela biochar/acqua [5g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	48	49	47	49
Mais 400x20	47	46	47	46
Mais 500x10	50	49	49	48
Mais 600x5	48	46	48	47

Miscela biochar/acqua [40g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	48	49	49	50
Mais 400x20	45	49	49	48
Mais 500x10	47	48	49	47
Mais 600x5	48	49	48	47

Miscela biochar/acqua [100g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	49	49	48	47
Mais 400x20	47	48	46	47
Mais 500x10	45	45	44	45
Mais 600x5	46	44	48	46

Miscela biochar/acqua [2g/L] Sorgho (<i>Sorghum saccharatum</i> Moench)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	44	45	47	45
Mais 400x20	45	46	47	44
Mais 500x10	42	43	45	44
Mais 600x5	44	44	43	43

Miscela biochar/acqua [5g/L] Sorgho (<i>Sorghum saccharatum</i> Moench)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	44	45	47	45
Mais 400x20	44	43	48	44
Mais 500x10	45	44	43	44
Mais 600x5	43	43	44	43

Miscela biochar/acqua [40g/L] Sorgho (<i>Sorghum saccharatum</i> Moench)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	44	45	47	45
Mais 400x20	40	41	40	41
Mais 500x10	42	44	41	43
Mais 600x5	41	39	40	41

Miscela biochar/acqua [100g/L] Sorgho (<i>Sorghum saccharatum</i> Moench)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	44	45	47	45
Mais 400x20	39	38	36	35
Mais 500x10	36	35	36	37
Mais 600x5	36	34	39	38

Miscela biochar/acqua [2g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	47	45	46	45
Pollina 400x20	44	40	41	40
Pollina 500x10	39	39	37	38
Pollina 600x5	37	37	39	40

Miscela biochar/acqua [5g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	47	45	46	45
Pollina 400x20	39	36	35	37
Pollina 500x10	35	37	37	36
Pollina 600x5	37	36	36	39

Miscela biochar/acqua [40g/L] Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	47	45	46	45
Pollina 400x20	0	1	0	5
Pollina 500x10	24	22	30	18
Pollina 600x5	26	24	31	24

Risultati test di germinazione UNI 11357

Crescione (<i>Lepidium sativum</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	46	47	48	47
Mais 400x20	39	41	40	42
Mais 500x10	22	20	18	21
Mais 600x5	6	5	10	7
Pollina 400x20	0	0	0	0
Pollina 500x10	0	0	0	0
Pollina 600x5	0	0	0	0

Sorgo (<i>Sorghum saccharatum</i> M.)				
Numero replica	1[n germinati/50]	2[n germinati/50]	3[n germinati/50]	4[n germinati/50]
Controllo	47	45	45	46
Mais 400x20	40	38	36	39
Mais 500x10	21	29	22	20
Mais 600x5	18	23	25	19
Pollina 400x20	0	0	0	0
Pollina 500x10	0	0	0	0
Pollina 600x5	0	0	0	0

Cetriolo (<i>Cucumis sativus</i> L.)				
Numero replica	1[n germinati/25]	2[n germinati/25]	3[n germinati/25]	4[n germinati/25]
Controllo	22	23	23	22
Mais 400x20	12	18	17	14
Mais 500x10	10	13	8	13
Mais 600x5	8	9	10	7
Pollina 400x20	0	0	0	0
Pollina 500x10	0	0	0	0
Pollina 600x5	0	0	0	0

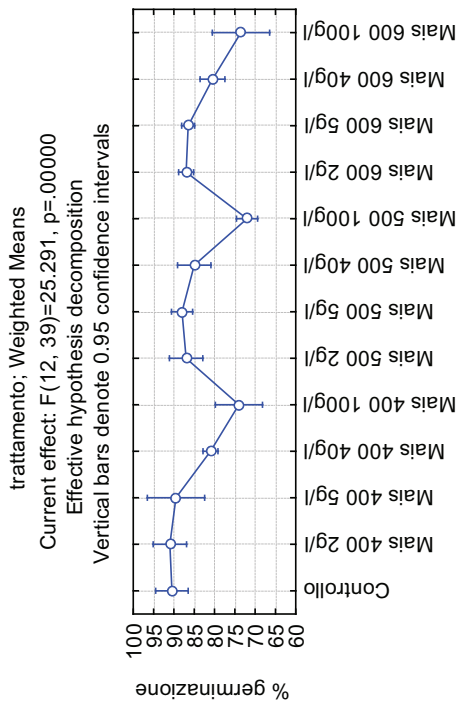
ANOVA- TEST DI COCHRAN- TEST DI DUNNETT-TEST SNK: MAIS vs SORGO

Test di Cochran

Hartley 19,66667
Cochran 0,214545
Bartlett 14,65656
df 12
p 0,260757

Test di Dunnett

trattamento	Mais500 5g/l	Mais500 40g/l	Mais500 100g/l	Mais500 2g/l	Mais500 5g/l	Mais500 40g/l	Mais500 100g/l	Mais500 2g/l	Mais500 5g/l	Mais500 40g/l	Mais500 100g/l	Mais600 2g/l	Mais600 5g/l	Mais600 40g/l	Mais600 100g/l	
Controllo																
Mais 400 2g/l																
Mais 400 5g/l																
Mais 400 40g/l																
Mais 400 100g/l																
Mais 500 2g/l																
Mais 500 5g/l																
Mais 500 40g/l																
Mais 500 100g/l																
Mais 600 2g/l																
Mais 600 5g/l																
Mais 600 40g/l																
Mais 600 100g/l																

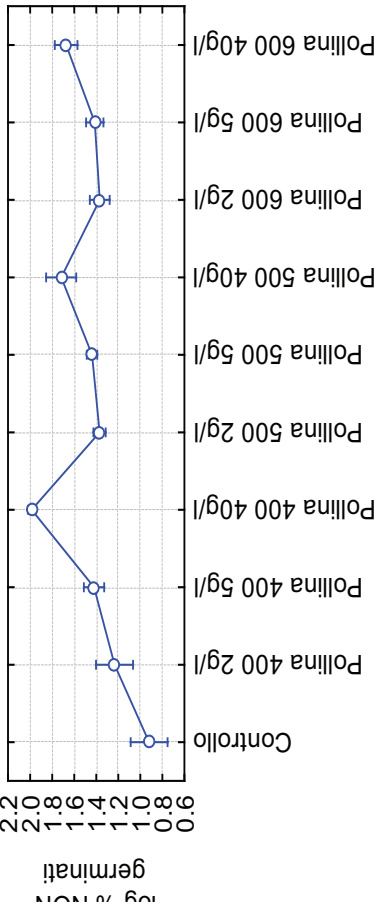


Test SNK	Controllo	Mais400 2g/l	Mais400 5g/l	Mais400 40g/l	Mais400 100g/l	Mais500 2g/l	Mais500 5g/l	Mais500 40g/l	Mais500 100g/l	Mais600 2g/l	Mais600 5g/l	Mais600 40g/l	Mais600 100g/l
Controllo													
Mais 400 2g/l	0,791546					0,353333	0,386739	0,075929	0,000123	0,260091	0,293580	0,000175	0,000175
Mais 400 5g/l	0,597466	0,706007				0,293680	0,391806	0,050741	0,000130	0,228217	0,227431	0,000216	0,000123
Mais 400 40g/l	0,000372	0,000265	0,001121			0,549075	0,429351	0,182564	0,000175	0,386739	0,507806	0,000701	0,000150
Mais 400 100g/l	0,000372	0,000265	0,001121	0,001828		0,014204	0,007614	0,039611	0,000348	0,021989	0,015352	0,791546	0,001641
Mais 500 2g/l	0,000150	0,000175	0,000136	0,001828		0,000143	0,000129	0,000167	0,541134	0,000131	0,000126	0,001439	0,791546
Mais 500 5g/l	0,353333	0,293580	0,549075	0,014204	0,000143		0,855920	0,541134	0,000129	1,000000	0,791546	0,010995	0,000131
Mais 500 40g/l	0,386739	0,391806	0,429351	0,007614	0,000129	0,855920		0,507806	0,000150	0,597466	0,854566	0,004875	0,000136
Mais 500 100g/l	0,075929	0,050741	0,182564	0,039611	0,000167	0,541134	0,507806		0,000143	0,712520	0,429351	0,054766	0,000128
Mais 600 2g/l	0,000123	0,000130	0,000175	0,000348	0,541134	0,000129	0,000150	0,000143	0,000143	0,000136	0,000131	0,000448	0,429351
Mais 600 5g/l	0,260091	0,228217	0,386739	0,021989	0,000131	1,000000	0,597466	0,712520	0,000136	0,961791	0,961791	0,015561	0,000129
Mais 600 40g/l	0,293580	0,227431	0,507806	0,015352	0,000126	0,791546	0,854566	0,429351	0,000131	0,961791	0,961791	0,014204	0,000143
Mais 600 100g/l	0,000265	0,000216	0,000701	0,791546	0,001439	0,010995	0,004875	0,054766	0,000448	0,015561	0,014204	0,01828	0,001828
Mais 600 40g/l	0,000175	0,000123	0,000150	0,001641	0,791546	0,000131	0,000136	0,000128	0,429351	0,000129	0,000143	0,001828	0,001828

ANOVA- TEST DI COCHRAN- TEST DI DUNNETT-TEST SNK: POLLINA vs CRESCIONE

Test di Cochran
 Hartley 23,40579
 Cochran 0,245887
 Bartlett 11,42182
 df 9
 p 0,247899

Test di Dunnett



trattamento; Weighted Means
 Current effect: $F(9, 30)=73.784, p=0.0000$
 Effective hypothesis decomposition
 Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

trattamento

Test SNK	Controllo	Pol. 400 2g/l	Pol. 400 5g/l	Pol. 400 4g/l	Pol. 500 2g/l	Pol. 500 5g/l	Pol. 500 4g/l	Pol. 600 2g/l	Pol. 600 5g/l	Pol. 600 4g/l
Controllo										
Pollina 400 2g/l		0,000137	0,000134	0,000163	0,000160	0,000141	0,000149	0,000121	0,000135	0,000141
Pollina 400 5g/l		0,000134	0,004197	0,000149	0,020599	0,000141	0,000141	0,008562	0,004016	0,000141
Pollina 400 4g/l		0,000163	0,000135	0,000135	0,546204	0,000162	0,000162	0,695808	0,876074	0,000149
Pollina 500 2g/l		0,000149	0,000135	0,000141	0,000141	0,000140	0,000140	0,000141	0,000134	0,000122
Pollina 500 5g/l		0,000160	0,546204	0,000141	0,484991	0,000160	0,000134	0,972555	0,374434	0,000137
Pollina 500 4g/l		0,000141	0,705901	0,000160	0,000134	0,000140	0,000125	0,585790	0,853090	0,000161
Pollina 600 2g/l		0,000121	0,000149	0,000141	0,000140	0,000125	0,000141	0,000137	0,000137	0,353601
Pollina 600 5g/l		0,000135	0,876074	0,000134	0,972555	0,374434	0,000137	0,621765	0,621765	0,000138
Pollina 600 4g/l		0,000141	0,000149	0,000122	0,000137	0,000141	0,353601	0,000138	0,000186	0,000186

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Abrajano, T. A.; Yan, B.; ÓMalley, V. High-molecular-weight petrogenic and pyrogenic hydrocarbons in aquatic environments. In *Treatise on Geochemistry*; Lollar, B. S., Ed.; Elsevier-Pergamon: 2004; Vol. 9, pp 475–509.
- Anderson C.R., Leo M. Condrona, Tim J. Clough, Mark Fierse, Alison Stewart, Robert A. Hilla, Robert R. Sherlock (2011), Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus, *Pedobiologia - International Journal of Soil Biology*, 54, 309-320.
- Antal Jr, M.J. and Grönli, M., (2003). The art, science, and technology of charcoal production. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 42(8): 1619-1640.
- Asai, H., Samson B.K., Stephan, H, M., Songyikhangsuthor, K., Hommaa, k., Kiyono, Y., Inoue, Y., Shiraiwa, T., Horie, T., (2009). Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield. *Field Crops Research*, Vol.111, 81-84.
- Atkinson, C.J.; Fitzgerald, J.D.; Hipps, N.A. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: A review. *Plant Soil* 2010, 337, 1-18.
- Bamberg JB, Hanneman RE Jr, Towill LE (1986) Use of activated charcoal to enhance the germination of botanical seeds of potato. *Am Potato J* 63:181-189.
- Barrow C.J., (2012). Biochar: Potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography* 34, 21-28.
- Beaton, J.D., Peterson, H.B., Bauer, N., 1960. Some aspects of phosphate adsorption to charcoal. *Soil Science Society of America Proceedings* 24, 340-346.
- Bengough, A.G., Mullins, C.E., 1990. Mechanical impedance to root growth: a review of experimental techniques and root growth responses. *Journal of Soil Science* 41, 341-358.
- Blackwell, P, Riethuller, G., Collins, M., (2009). Biochar application to soil. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management*. Earthscan, London, pp. 207-227.
- Bourke, J., Manley-Harris, M., Fushimi, C., Dowaki, K., Nonoura, T., Antal, M.J., 2007. Do all carbonized charcoals have the same chemical structure? 2. A model of the chemical structure of carbonized charcoal. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 46, 5954-5967.
- Brewer, C.E., Schmidt-Rohr, K., Satrio, J.A., Brown, R.C., 2009. Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems. *Environmental Progress and Sustainable Energy* 28, 386-396.
- Bruun, S., El-Zahery, T., Jensen, L., 2009. Carbon sequestration with biochar - stability and effect on decomposition of soil organic matter. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 6, doi:10.1088/1755-1307/1086/1084/242010.
- Bruun, E.W.; Ambus, P.; Egsgaard, H.; Hauggaard-Nielsen, H. Effects of slow and fast pyrolysis biochar on soil C and N turnover dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 2012, 46, 73-79.
- Bruun, E.W., (2011). Application of Fast Pyrolysis Biochar to a Loamy soil -Effects on carbon and nitrogen dynamics and potential for carbon sequestration. PhD Thesis, Ris DTU, National Laboratory for Sustainable Energy, Denmark.
- Busch D., Kammann C., Grünhage L., Müller C., (2011), Simple Biototoxicity Tests for Evaluation of Carbonaceous Soil Additives: Establishment and Reproducibility of Four Test Procedures, *Journal of Environmental Quality*, doi:10.2134. 0122.
- Busscher, W.J.; Novak, J.M.; Ahmedna, M. Physical effects of organic matter amendment of a southeastern us coastal loamy sand. *Soil Sci.* 2011, 176, 661-667.
- Busscher, W.J.; Novak, J.M.; Evans, D.E.; Watts, D.W.; Niandou, M.A.S.; Ahmedna, M. Influence of pecan biochar on physical properties of a norfolk loamy sand. *Soil Sci.* 2010, 175, 10-14.
- Calvelo Pereira, R., Kaal, J., Camps Arbestain, M., Pardo Lorenzo, R., Aitkenhead, W., Hedley, M., Marcias, F., Hindmarsh, J., Marcià-Agullò, J.A.. (2011). Contribution to characterisation of biochar to estimate the labile fraction of carbon. *Organic Geochemistry*, Vol. 42, 1331-1342.

- Case, S.D.C.; McNamara, N.P.; Reay, D.S.; Whitaker, J. The effect of biochar addition on N₂O and CO₂ emissions from a sandy loam soil—The role of soil aeration. *Soil Biol. Biochem.* 2012, 51, 125-134.
- Castaldi, S.; Riondino, M.; Baronti, S.; Esposito, F.R.; Marzaioli, R.; Rutigliano, F.A.; Vaccari, F.P.; Miglietta, F. Impact of biochar application to a mediterranean wheat crop on soil microbial activity and greenhouse gas fluxes. *Chemosphere* 2011, 85, 1464-1471.
- Chan, K.Y., Xu, Z., 2009. Biochar: nutrient properties and their enhancement. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 67-84.
- Chan K.Y., Van Zwieten L, Meszaros I, Downie A, Joseph S (2008) Using poultry litter biochars as soil amendments. *Aust J Soil Res* 46:437-444.
- Chan, K.Y., L. Van Zwieten, I. Meszaros, A. Downie, and S. Joseph. 2007. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *Aust. J. Soil Res.* 45:629-634. doi:10.1071/SR07109.
- Chen, H.-X.; Du, Z.-L.; Guo, W.; Zhang, Q.-Z. Effects of biochar amendment on cropland soil bulk density, cation exchange capacity, and particulate organic matter content in the North China plain. *Yingyong Shengtai Xuebao* 2011, 22, 2930-2934.
- Cheng, C.H., Lehmann, J., Engelhard, M., 2008. Natural oxidation of black carbon in soils: changes in molecular form and surface charge along a climosequence. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 72, 1598-1610.
- Cheng, C.H.; Lehmann, J. Ageing of black carbon along a temperature gradient. *Chemosphere* 2009, 75, 1021-1027.
- Cho, Y.K., Bailey, J.E., 1978. Immobilization of enzymes on activated carbon: properties of immobilized glucoamylase, glucose oxidase, and gluconolactonase. *Biotechnology and Bioengineering* 10, 1651-1665.
- Choi D, Makoto K, Quoreshi AM, Qu LY (2009) Seed germination and seedling physiology of *Larix kaempferi* and *Pinus densiflora* in seedbeds with charcoal and elevated CO₂. *Landsc Ecol Eng* 5:107-113.
- Cochrane, V. L., L. F. Elliott, and R. I. Papendick, 1977: The production of phytotoxins from surface crop residues. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 903-908.
- Comati Gianni. Valorizzazione della pollina a fini energetici e ambientali - Problemi e prospettive. 2008.
- Conti R. (2012), Sintesi e caratterizzazione di carboni ottenuti dalla pirolisi di biomasse (biochar) per applicazioni in campo agricolo, Tesi di laurea in Chimica Ambientale C.I.
- Deenik, J.L., McClellan, T., Uehara, G., Antal, N.J., Campbell, S., 2010. Charcoal volatile matter content influences plant growth and soil nitrogen transformations. *Soil Science Society of America Journal* 74, 1259-1270.
- DeLuca T.H., MacKenzie D.M., Gundale M.J., (2009), Biochar Effects on Soil Nutrient Transformation, in *Biochar for environmental management*, Johannes Lehmann e Stephen Joseph (Eds), Science and Technology. Earthscan, London.
- Demirbas, A., 2004. Effects of temperature and particle size on bio-char yield from pyrolysis of agricultural residues. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 72(2): 243-248.
- Earl, B., (1995). Tin smelting. *The Oriental Institute News and Notes*, 146.
- Edwards, C.A., 2004. The importance of earthworms as key representatives of the soil fauna. In: Edwards, C.A. (Ed.), *Earthworm Ecology*, second ed. Florida, Boca Raton, pp. 3-11.
- Fabbri D., Rombolà G.A., Torri C., Spokas A.K. (2012a), Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar and biochar amended soil, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2012.10.003>.
- Fabbri D., Torri C., Spokas A.K. (2012b), Analytical pyrolysis of synthetic chars derived from biomass with potential agronomic application (biochar). Relationships with impacts on microbial carbon dioxide production, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 93, 77-84.

- Free HF, McGill CR, Rowarth JS, Hedley MJ (2010) The effect of biochars on maize (*Zea mays*) germination. *New Zeal J Agr Res* 53:1-4.
- Freitas, J.C.C., Passamani, E.C., Orlando, M.T.D., Emmerich, F.G., Garcia, F., Sampaio, L.C., Bonagamba, T.J., 2002. Effects of ferromagnetic inclusions on ¹³C MAS NMR Spectra of heat-treated peat samples. *Energy and Fuels* 16, 1068-1075.
- Garcia-Perez, M., 2008. The formation of polyaromatic hydrocarbons and dioxins during pyrolysis. In: Washington State University.
- Garnett E, Jonsson LM, Dighton J, Murnen K (2004) Control of pitch pine seed germination and initial growth exerted by leaf litters and polyphenolic compounds. *Biol Fertil Soils* 40:421-426.
- Gell Kealan, JanWillem van Groenigen, Maria Luz Cayuela, Residues of bioenergy production chains as soil amendments: Immediate and temporal phytotoxicity *Journal of Hazardous Materials* 186 (2011) 2017-2025.
- George, C.; Wagner, M.; Kucke, M.; Rillig, M.C. Divergent consequences of hydrochar in the plant-soil system: Arbuscular mycorrhiza, nodulation, plant growth and soil aggregation effects. *Appl. Soil Ecol.* 2012, 59, 68-72.
- Ghosh S., D. Yeo, B. Wilson & L. F. Ow (2012), Application of char products improves urban soil quality, *Soil Use and Management*, 28, 329-336.
- Glaser, B.; Lehmann, J.; Zech, W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal—A review. *Biol. Fertil. Soils* 2002, 35, 219-230.
- Haefele, S.M., Konboonc, Y., Wongboon, W., Amarante, S., Maarifat, S.S., Pfeiffer, E.M., Knoblauch, C., (2011). Effects and fate of biochar from rice residues in rice based systems. *Field Crops Research*, Vol., 121, 430-440.
- Hamdi, H., S. Benzariti, L. Manusadzianas, I. Aoyama, and N. Jedidi. 2007. Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions. *Soil Biol. Biochem.* 39:1926- 1935. doi:10.1016/j.soilbio.2007.02.008.
- Hammes, K.; Schmidt, M. Changes in Biochar in Soil. In *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*; Lehmann, J., Joseph, S., Eds.; Earthscan: London, UK, 2009; pp. 169-182.
- Hale, S., Lehmann, J., Rutherford, D., Zimmerman, D.A., Bachmann, R.T., Shitumbanuma, V., O'Toole, A., Sundqvist, K.L., Hans Peter, H., Cornelissen, G., (2012). Quantifying the total and bioavailable PAHs and dioxins in biochars. *Environmental Science and Technology*, DOI: 10.1021/es203984k.
- Hale S.E., Marie Elmquist, Rahel Brändli, Thomas Hartnik, Lena Jakob, Thomas Henriksen, David Werner, Gerard Cornelissen (2011), Activated carbon amendment to sequester PAHs in contaminated soil: A lysimeter field trial, *Chemosphere* 87, 177-184.
- Hilber, I., F. Blum, J. Leifeld, H.-P. Schmidt, and T. D. Bucheli, 2012: Quantitative determination of PAHs in biochar: a prerequisite to ensure its quality and safe application. *J. Agric. Food Chem.* 60, 3042-3050.
- Hille M, den Quden J (2005) Charcoal and activated carbon as adsorbate to phytotoxic compounds—a comparative study. *Oikos* 108:202-207.
- Horne JE, Kalevitch AE, Filimonova MV (1996) Soil acidity effect on initial wheat growth and development. *J Sustain Agr* 7:5-13.
- Imam, T., Capareda, S., (2012) Characterization of bio-oil, syn-gas and bio-char from switchgrass pyrolysis at various temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, Vol. 93, 170-177.
- IUSS Working Group WRB. (2006). World reference base for soil resources 2006. *World Soil Resources Reports No. 103*. FAO, Rome.
- Jeffery S., F.G.A. Verheijen, M. van der Velde, A.C. Bastos (2011), A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using meta-analysis, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144 175-187.
- Jones, D.L.; Murphy, D.V.; Khalid, M.; Ahmad, W.; Edwards-Jones, G.; DeLuca, T.H. Short-term biochar-induced increase in soil CO₂ release is both biotically and abiotically mediated. *Soil Biol. Biochem.* 2011, 43, 1723-1731.

- Jones, B.E.H.; Haynes, R.J.; Phillips, I.R. Effect of amendment of bauxite processing sand with organic materials on its chemical, physical and microbial properties. *J. Environ. Manag.* 2010, 91, 2281-2288.
- Joseph, S.D., Camps-Arbestain, M., Lin, Y., Munroe, P., Chia, C.H., Hook, J., van Zwieten, L., Kimber, S., Cowie, A., Singh, B.P., Lehmann, J., Foidl, N., Smernik, R.J., Amonette, J.E., 2010. An investigation into the reactions of biochar in soil. *Australian Journal of Soil Research* 48, 501-515.
- Juhasz, A., E. Smith, N. Walker, R. Stewart, and J. Weber. 2010. Bioavailability of residual polycyclic aromatic hydrocarbons following enhanced natural attenuation of creosote-contaminated soil. *Environ. Pollut.* 158:585-591. doi:10.1016/j.envpol.2009.08.018.
- Kaal, J, Cortizas, A.M., Nierop, K.G.J., (2009a). Characterisation of aged charcoal using a coil probe pyrolysis-GC/MS method optimised for black carbon. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, Vol. 85, 408-416.
- Kaal, J., Rumpel, C., (2009b). Can pyrolysis-GC/MS be used to estimate the degree of thermal alteration of black carbon?. *Organic Geochemistry*, Vol.40,1179-1187.
- Karaosmanoglu, F., Isigigur-Ergundenler, A., Sever, A., 2000. Biochar from the strawstalk of rapeseed plant. *Energy and Fuels* 14, 336-339.
- Keiluweit, M.; Kleber, M.; Sparrow M.A.; Bernd R. T.; Prah F.G. Solvent-Extractable Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Biochar: Influence of Pyrolysis Temperature and Feedstock dx.doi.org/10.1021/es302125k | *Environ. Sci. Technol.* 2012, 46, 9333-9341.
- Keiluweit, M., Nico, P.S., Johnson, M.G., Kleber, M., 2010. Dynamic molecular structure of plant-derived black carbon (biochar). *Environmental Science and Technology* 44, 1247-1253.
- Keri B. Cantrell, Patrick G. Hunt a, Minori Uchimiya, Jeffrey M. Novak, Kyoung S. Ro, Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar *Biore-source Technology* 107 (2012) 419-428.
- Kim, K.H., Kim, J-Y., Cho, T-S., Choio, J.W., (2012). Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Biore-source Technology*, In press, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.094>.
- Krull, E., Baldock, J., Skjemstad, J., Smernik, R., (2009). Characteristics of biochar: Organochemical properties. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management*. Earthscan, London, pp. 53-65.
- Kummerová, M., Váňoová, L., Krulová, J., and Zezulka, Š., The Use of Physiologically Characteristics for Comparison of Organic Compounds Phytotoxicity, *Chemosphere*, 2008, vol. 71, pp. 2050-2059.
- Kuzyakov, Y, Subbotina, I, Chen, H, Bogomolova, I, Xu, X. (2009) Black carbon decomposition and incorporation into microbial biomass estimated by ¹⁴C labeling. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 210-219.
- Laflamme, R. E.; Hites, R. A. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 1978, 42, 289-303.
- Laird, D.A.; Fleming, P.; Davis, D.D.; Horton, R.; Wang, B.Q.; Karlen, D.L. Impact of biochar amendments on the quality of a typical midwestern agricultural soil. *Geoderma* 2010, 158, 443-449.
- Ledesma, E. B., Marsh, N. D., Sandrowitz, A. K., Wornat, M. J., 2002. Global kinetics rate parameters for the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from the pyrolysis of catechol, a model compound representative of solid fuels moieties. *Energy and Fuels*, Vol. 16, 1331-1336.
- Lee, J.G., Cutler, I.B., 1975. Formation of silicon carbide from rice hulls. *Ceramics Bulletin* 54, 195-198.
- Lee, M. L.; Novotny, M. V.; Bartle, K. D. *Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds*; Academic Press: New York, 1981.
- Lehmann J., Matthias C. Rillig, Janice Thies, Caroline A. Masiello, William C. Hockaday, David Crowley (2011), Biochar effects on soil biota. A review. *Soil Biology & Biochemistry* 43 1812-1836.
- Lehmann J., S. Joseph (2009), *Biochar for Environmental Management: An Introduction*. in *Biochar for Environmental Management*, di Johannes Lehmann e Stephen Joseph (Eds), Science and Technology. Earthscan, London.

- Lehmann J., Gaunt, J., Rondon M., (2006). Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems - a review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, Vol.11, 403-427.
- Lehmann, J., (2007). Bio-energy in the black. *Frontiers in Ecology and the Environment*, Vol. 5, 381-387.
- Lehmann, J., Liang, B., Solomon, D., Lerotic, M., Luizão, F., Kinyangi, F., Schäfer, T., Wirick, S., Jacobsen, C., 2005. Near-edge X-ray absorption fine structure (NEXAFS) spectroscopy for mapping nano-scale distribution of organic carbon forms in soil: application to black carbon particles. *Global Biogeochemical Cycles* 19, GB1013.
- Leinweber, P., Kruse, J., Walley, F.L., Gillespie, A., Eckardt, K.-U., Blyth, R., Regier, T., 2007. Nitrogen K-edge XANES e an overview of reference compounds used to identify 'unknown' organic nitrogen in environmental samples. *Journal of Synchrotron Radiation* 14, 500-511.
- Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., Skjemstad, J.O., Thies, J., Luizão, F.J., Petersen, J., Neves, E.G., 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. *Soil Science Society of America Journal* 70, 1719-1730.
- Liu, Y.X.; Yang, M.; Wu, Y.M.; Wang, H.L.; Chen, Y.X.; Wu, W.X. Reducing CH₄ and CO₂ emissions from waterlogged paddy soil with biochar. *J. Soils Sediments* 2011, 11, 930-939.
- Malara A., P. Oleszczuk, Application of a battery of biotests for the determination of leachate toxicity to bacteria and invertebrates from sewage sludge-amended soil, *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2013), <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-11012-11268-11353> (in press).
- Mancini E. (2013). Limiti e benefici del biochar in applicazioni agronomiche, Tesi di laurea in Analisi Chimica Organica.
- Mankasingh, U.; Choi, P.C.; Ragnarsdottir, V. Biochar application in a tropical, agricultural region: A plot scale study in Tamil Nadu, India. *Appl. Geochem.* 2011, 26, S218-S221.
- Major, J., Lehmann, J., Rondon, M., Goodale, C., 2010. Fate of soil-applied black carbon: downward migration, leaching and soil respiration. *Global Change Biology* 16, 1366-1379.
- Ministry of New and Renewable Energy: National Biomass Resource Atlas <http://www.mnes.nic.in>
- Mohan, D., Pittman, C., Steele, P., (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: A critical review. *Energy fuels*, Vol. 20, 848-889.
- Moreno-Castilla, C., 2004. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. *Carbon* 42, 83-94.
- Morf, P.; Hasler, P.; Nussbaumer, T. Mechanisms and kinetics of homogeneous secondary reactions of tar from continuous pyrolysis of wood chips. *Fuel* 2002, 81 (7), 843-853.
- Mukherjee, A. Physical and Chemical Properties of a Range of Laboratory-produced Fresh and Aged Biochars. Ph. D. Thesis, University of Florida, Gainesville, FL, USA, 2011.
- Mukherjee, A. e Rattan, L. Biochar impacts on soil physical properties and greenhouse gas emissions (2013) *Agronomy*, 3, 313-339.
- Nelissen V., Tobias Rütting, Dries Huygens, Jeroen Staelens, Greet Ruyschaert, Pascal Boeckx, (2012). Maize biochars accelerate short-term soil nitrogen dynamics in a loamy sand soil, *Soil Biology & Biochemistry* 55 20-27.
- Nguyen, BT, Lehmann, J, Kinyangi, J, Smernik, R, Riha, S, Englehard, MH (2009) Long-term black carbon dynamics in cultivated soil. *Biogeochemistry*, 92, 163-176.
- Nguyen, B., Lehmann, J., Hockaday, W.C., Joseph, S., Masiello, C.A., 2010. Temperature sensitivity of black carbon decomposition and oxidation. *Environmental Science and Technology* 44, 3324-3331.
- Nguyen, B., Lehmann, J., Kinyangi, J., Smernik, R., Riha, S.J., Engelhard, M.H., 2008. Long-term black carbon dynamics in cultivated soil. *Biogeochemistry* 89, 295-308.
- Novak, J.M., I. Lima, B. Xing, J.W. Gaskin, C. Steiner, K.C. Das, M. Ahmedna, D. Rehrh, D.W. Watts, W.J. Busscher, and H. Schomberg. 2009. Characterization of designer biochar produced at different temperatures and their effects in a loamy sand. *Ann. Environ. Sci.* 3:195-206.
- Özçimen, D., Karaosmanolu, F., 2004. Production and characterization of bio-oil and biochar from rapeseed cake. *Renewable Energy* 29, 779-787.

- OECD (1984) Terrestrial plant test: seedling emergence and seedling growth test. OECD Guidelines for testing of chemicals 208. OECD, Paris.
- Ondrůj Mašek, Peter Brownsort, Andrew Cross, Saran Sohi (2013), Influence of production conditions on the yield and environmental stability of biochar Fuel 103 151-155.
- Parrish Z. D., Jason C. White, Mehmet Isleyen, Martin P.N. Gent, William Iannucci-Berger, Brian D. Eitzer, Jason W. Kelsey, Maryjane Incorvia Mattina (2006), Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species, Chemosphere 64 609-618.
- Patrick, Z. A., 1971: Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. Soil Sci. 111, 13-18.
- Pierce GL, Warren GL, Mikkelsen RL, Linker HM (1999) Effects of soil calcium and pH on seed germination and subsequent growth of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). Weed Technol 13:421-424.
- Pignatello, J.J., Kwon, S., Lu, Y., 2006. Effect of natural organic substances on the surface and adsorptive properties of environmental black carbon (char): attenuation of surface activity by humic and fulvic acids. Environmental Science and Technology 40, 7757-7763.
- Purcaro, G.; Moret, S.; Conte L.S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation and innovative determination in food. Talanta 105 293-305,2013.
- Quilliam R.S., Karina A. Marsden, Christoph Gertler, Johannes Rousk, Thomas H. DeLuca, Davey L. Jones (2012), Nutrient dynamics, microbial growth and weed emergence in biochar amended soil are influenced by time since application and reapplication rate, Agriculture, Ecosystems and Environment 158, 192-199.
- Reyes O, Casal M (2006) Seed germination of *Quercus robur*, *Q. pyrenaea* and *Q. ilex* and the effects of smoke, heat, ash and charcoal. Ann Forest Sci 63:205-212.
- Rogovska, N.; Laird, D.; Cruse, R.; Fleming, P.; Parkin, T.; Meek, D. Impact of biochar on manure carbon stabilization and greenhouse gas emissions. Soil Sci. Soc. Am. J. 2011, 75, 871-879.
- Rogovska, N., D. Laird, R. M. Cruse, S. Trabue, and E. Heaton, 2011: Germination tests for assessing biochar quality. J. Environ. Qual. 41, 1014-1022.
- Rondon, M.; Molina, D.; Hurtado, M.; Ramirez, J.; Lehmann, J.; Major, J.; Amezquita, E. Enhancing the Productivity of Crops and Grasses While Reducing Greenhouse Gas Emissions through Bio-Char Amendments to Unfertile Tropical Soils. In Proceedings of the 18th World Congress of Soil Science, Philadelphia, PA, USA, 9-15 July 2006.
- Rondon, M.; Ramirez, J.; Lehmann, J. Charcoal Additions Reduce Net Emissions of Greenhouse Gases to the Atmosphere. In Proceedings of the 3rd USDA Symposium on Greenhouse Gases and Carbon Sequestration, Baltimore, MD, USA, 21-24 March 2005; p. 208.
- Rondon, M., J. Lehmann, J. Ramirez, and M. Hurtado. 2007. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with biochar additions. Biol. Fertil. Soils 43:699-708. doi:10.1007/s00374-006-0152-z.
- Scheer, C.; Grace, P.R.; Rowlings, D.W.; Kimber, S.; Van Zwieten, L. Effect of biochar amendment on the soil-atmosphere exchange of greenhouse gases from an intensive subtropical pasture in northern new south wales, Australia. Plant Soil 2011, 345, 47-58.
- Schmidt, M.W.I., Noack, A.G., 2000. Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications, and current challenges. Global Biogeochemical Cycles 14, 777-793.
- Simoneit, B. R. T. Biomarker PAHs in the environment. In The Handbook of Environmental Chemistry, Neilson, A. H., Ed.; Springer: Heidelberg, 1998; Vol. 3, pp 176-221.
- Simoneit, B. R. T.; Mazurek, M. A. Organic matter of the troposphere - II. Natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States. Atmos. Environ. 1982, 16, 2139-2159.
- Simoneit, B. R. T.; Fetzer, J. C. High molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in hydrothermal petroleum from the Gulf of California and Northeast Pacific Ocean. Org. Geochem. 1996, 24, 1065-1077.
- Singh, B.P.; Hatton, B.J.; Singh, B.; Cowie, A.L.; Kathuria, A. Influence of biochars on nitrous oxide emission and nitrogen leaching from two contrasting soils. J. Environ. Qual. 2010, 39, 1224-1235.

- Smernik, R., 2009. Biochar and sorption of organic compounds. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. Earthscan, London, pp. 289-300.
- Smith, J.L.; Collins, H.P.; Bailey, V.L. The effect of young biochar on soil respiration. *Soil Biol. Biochem.* 2010, 42, 2345-2347.
- Somtrakoon K., Chouychai W., Phytotoxicity of single and combined polycyclic aromatic hydrocarbons toward economic crops. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2013, Vol.60, No1, pp.138-149.
- Song, W., Guo, M. (2012). Quality variations of poultry litter biochar generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of analytical and Applied Pyrolysis*, Vol. 94, 138-145.
- Spokas, K.A.; Koskinen, W.C.; Baker, J.M.; Reicosky, D.C. Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a minnesota soil. *Chemosphere* 2009, 77, 574-581.
- Spokas, K.A.; Reicosky, D.C. Impacts of sixteen different biochars on soil greenhouse gas production. *Ann. Environ. Sci.* 2009, 3, 179-193.
- Stein, S. E. High-temperature chemical equilibria of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Phys. Chem.* 1978, 82 (5), 566-571.
- Steiner, C., Das, K.C., Garcia, M., Förster, B., Zech, W., 2008. Charcoal and smoke extract stimulate the soil microbial community in a highly weathered xanthic ferralsol. *Pedobiologia-International Journal of Soil Biology* 51, 359-366.
- Strezov V., Evans, T. J., & Hayman, C. (2008). Thermal conversion of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum) to bio-gas, bio-oil and charcoal. *Bioresource Technology*, 99(17), 8394-8399.
- Sullivan, R. F.; Boduszynski, M. M.; Fetzer, J. C. Molecular transformations in hydrotreating and hydrocracking. *Energy Fuels* 1989, 3 (5), 603-612.
- Thies E. J. and Matthias C. Rilling (2009), Characteristics of biochar: biological properties, in *Biochar for environmental management*, di Johannes Lehmann e Stephen Joseph (Eds), Science and Technology. Earthscan, London.
- Thygesen, R., and S. Trapp. 2002. Phytotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to Willow trees. *J. Soils Sediments* 2:77-82. doi:10.1007/BF02987875.
- Tian YH, Feng YL, Liu C (2007) Addition of activated charcoal to soil after clearing *Ageratina adenophora* stimulates growth of forbs and grasses in China. *Tropical Grasslands* 41:285-291.
- Tryon, E.H. Effect of charcoal on certain physical, chemical, and biological properties of forest soils. *Ecol. Monogr.* 1948, 18, 81-115.
- Uzoma, K.C.; Inoue, M.; Andry, H.; Zahoor, A.; Nishihara, E. Influence of biochar application on sandy soil hydraulic properties and nutrient retention. *J. Food Agric. Environ.* 2011, 9, 1137-1143.
- Van Zwieten L, Kimber S, Morris S, Chan KY, Downie A, Rust J, Joseph S, Cowie A (2010) Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant Soil* 27:235-246.
- Van Zwieten, L.; Singh, B.; Joseph, S.; Kimber, S.; Cowie, A.; Yin Chan, K. Biochar and Emissions of Non-CO2 Greenhouse Gases from Soil. In *Biochar for Environmental Management*; Lehmann, J., Joseph, S., Eds.; Earthscan: London Sterling, VA, USA, 2009.
- Verheijen, F.G.A., Jeffery, S., Bastos, A.C., van der Velde, M., Diafas, I., (2010). Biochar application to soils - A critical scientific review of effects on soil properties, processes and functions. EUR 24099 EN.
- Wardle, D.A.; Nilsson, M.C.; Zackrisson, O. Fire-derived charcoal causes loss of forest humus. *Science* 2008, 320, 629-629.
- Warnok D.D., Lehmann J., Kuyper W.T., Rilling C.M., (2007), Mycorrhizal responses to biochar in soil - concepts and mechanisms, *Marschner Review, Plant Soil* 300:9-20 DOI 10.1007/s11104-007-9391-5.
- Woolf D., (2008). Biochar as a soil amendment e a review of the environmental implications. 31 pp.
- Xiang-Yang Yu, Guang-Guo Ying, & Kookana, R. S. (2009). Reduced plant uptake of pesticides with biochar additions to the soil. *Chemosphere*, 76(5), 665-671.

- Yam, T.Y., Ernst, R., Arditti, J., Nair, H., Weatherhead, M.A., 1990. Charcoal in orchid seed germination and tissue culture media: a review. *Lindleyana* 5, 256-265.
- Yamato M, Okimori Y, Wibowo IF, Ashori S, Ogawa M (2006) Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia. *Soil Sci Plant Nutr* 52:489-495.
- Yanai, Y.; Toyota, K.; Okazaki, M. Effects of charcoal addition on N₂O emissions from soil resulting from rewetting air-dried soil in short-term laboratory experiments. *Soil Sci. Plant Nutr.* 2007, 53, 181-188.
- Zakaria M. Saloiman, Daniel V. Murphy & Lynette K. Abbott (2012), Biochars influence seed germination and early growth of seedlings, *Plant Soil* 353:273- 287 DOI 10.1007/s11104-011-1031-4.
- Zhan, X.H., H.L. Ma, L.X. Zhou, J.R. Liang, T.H. Jiang, and G.H. Xu. 2010. Accumulation of phenanthrene by roots of intact wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings: Passive or active uptake? *BMC Plant Biol.* 10:52-60. doi:10.1186/1471-2229-10-52.
- Zhang, A.F.; Bian, R.J.; Pan, G.X.; Cui, L.Q.; Hussain, Q.; Li, L.Q.; Zheng, J.W.; Zheng, J.F.; Zhang, X.H.; Han, X.J.; et al. Effects of biochar amendment on soil quality, crop yield and greenhouse gas emission in a chinese rice paddy: A field study of 2 consecutive rice growing cycles. *Field Crops Res.* 2012, 127, 153-160.
- Zimmerman, A.R.; Gao, B.; Ahn, M.Y. Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biol. Biochem.* 2011, 43, 1169-1179.
- Zimmerman, A., 2010. Abiotic and microbial oxidation of laboratory-produced black carbon (biochar). *Environmental Science and Technology* 44, 1295-1301.

Ringraziamenti

Voglio ringraziare innanzitutto il mio relatore Prof. Daniele Fabbri per avermi accolto in questi mesi di tesi tra i suoi pyro-guys.

Ringrazio profondamente il Dott. Alessandro Girolamo Rombolà, presenza costante durante le sperimentazioni e l'analisi dei dati.

Ringrazio i Dottori Cristian Torri, Roberto Conti, Chiara Samori, Danilo Malferrari, Nicola Armenise e ancora Alessandro Girolamo Rombolà per il supporto tecnico, morale, i preziosi consigli e per le divagazioni a carattere sportivo.

Ringrazio molto il Dott. Andrea Pasteris, per l'analisi e l'interpretazione statistica dei dati dei due test di germinazione, il mio controrelatore Dott. Alessandro Buscaroli, il Prof. Alberto Modelli e il Dott. Denis Zannoni.

Ringrazio Stefano Modelli, persona veramente squisita e le Segretarie di Scienze Ambientali per l'estrema cortesia e chiarezza nel fornire spiegazioni.

Voglio ringraziare i miei amici, nonchè compagni di corso (sostanzialmente, qualunque e rigorosamente in ordine alfabetico) Marco Antonelli, Chiara Bertellini, Helena Cordiani, Roberta Maltoni, Ilaria Mantovani, Chiara Monari, Juan Pablo Pozo Hernandez, Giada Rocchi.

Voglio ringraziare particolarmente Pablo: amico vero, persona speciale e maestro di vita (nonchè cuoco sopraffino; a proposito quand'è che ti decidi ad aprire un ristorantino intimo?) ed Helena per la sua presenza, compagnia, simpatia, bellezza, e non meno importante per le sue continue lamentele (Ahahahah!!!!, non fare la permalosa).

Infine voglio ringraziare la mia grande famiglia perchè sono orgoglioso di farne parte.

*Spero di non essermi scordato nessuno, e per chi non lo sapesse (ma sarebbe bene sapere):
P.P.P.T.*