

La depurazione delle acque inquinate da carbonio organico tramite microrganismi effettivi (EM)

Lavoro di maturità in Biologia

Lavoro svolto da:
Anna Svaluto-Ferro

settembre 2008 – giugno 2009

Presso:
Liceo Cantonale, Bellinzona

Prof. Ottorino Pedrazzini

Sommario

1. INTRODUZIONE

- 1.1. L'idea che ha dato origine al mio lavoro di maturità
- 1.2. Cosa sono i Microrganismi Effettivi (EM)?

2. GLI OBIETTIVI DELLA RICERCA

3. ESPERIMENTI

- 3.1. Il laboratorio cantonale
- 3.2. Esperienza 1
 - 3.2.1. I materiali
 - 3.2.2. Procedimenti e metodi
 - 3.2.3. Campionamenti
 - 3.2.4. Risultati dell'esperienza 1
- 3.3. Esperienza 2
 - 3.3.1. Procedimenti e metodi
 - 3.3.2. Risultati dell'esperienza 2
- 3.4. Esperienza 3
 - 3.4.1. Procedimenti e metodi
 - 3.4.2. Risultati dell'esperienza 3
- 3.5. Modifica esperienza 3
 - 3.5.1. Procedimento
 - 3.5.2. Risultati completi dell'esperienza 3

4. DISCUSSIONE

5. CONCLUSIONE

6. ALLEGATI

7. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

8. RINGRAZIAMENTI

1. INTRODUZIONE

1.1. L'idea che ha dato origine al mio lavoro di maturità

All'inizio di ogni lavoro sta sempre qualcosa che lo fa iniziare. Questo qualcosa può essere un fatto accaduto, una richiesta oppure un'idea, nel mio caso si tratta proprio di questa terza opzione.

Da qualche tempo, io e la mia famiglia, facciamo uso di microrganismi effettivi (EM), in svariati ambiti della vita quotidiana.

Li usiamo nel compostaggio, siccome velocizzano il processo di decomposizione, negli scarichi dei lavandini e delle docce, siccome contribuiscono a tenere puliti i tubi, oppure li beviamo. Sì, perché fanno bene anche a noi, attaccano gli agenti patogeni e rinforzano le difese naturali del corpo, o ancora, usiamo un dentifricio agli EM che favorisce in particolar modo l'igiene orale.

Ma di certo queste cose non ce le siamo inventate.

Infatti, una nostra amica, Regula Pedretti, utilizza e sperimenta da anni questi microrganismi. Per esempio li utilizza per disinfettare la casa, oppure mescolati allo shampoo o al sapone che utilizza per lavarsi o ancora li usa per facilitare il degrado degli ortaggi nel compostaggio.

In ogni caso è lei ad averci fatto scoprire questo nuovo ed interessante "mondo biologico".

Così, chiacchierando con i miei genitori e con lei, è sorta una domanda: ma gli EM, sono in grado di debellare un inquinamento dell'acqua dovuto a sostanze organiche? Siccome l'inquinamento delle acque è una problematica d'attualità, ho deciso, nel limite delle mie possibilità, di cercare una risposta a questa domanda, interessandomi principalmente agli inquinamenti da sostanze organiche (dovuti cioè dalla concentrazione troppo alta di carbonio organico (C)).

1.2. Cosa sono gli EM?

Il seguente testo è tratto dal sito internet: www.em-italy.com.

EM è l'abbreviazione per "Microrganismi Effettivi", termine coniato dal Dottor Teruo Higa, professore presso l'Università Ryukyus a Okinawa (in Giappone) per definire una coltura mista di famiglie di batteri quali quelli dell'acido lattico, batteri foto sintetici, ecc...

Essi convivono in una coltura fluida e si integrano nella loro attività, vivendo in simbiosi tra loro: infatti si nutrono del reciproco prodotto del metabolismo.

La maggior parte di questi microrganismi viene usata singolarmente da sempre nella produzione alimentare (come per esempio nella produzione di pane, crauti, vino o birra).

Spiegazioni più dettagliate si possono leggere negli allegati (allegato 1).

2. GLI OBIETTIVI DELLA RICERCA

L'obiettivo principale del mio lavoro di maturità è, come citato in precedenza, scoprire se e in che modo gli EM, correttamente usati, possano contribuire alla depurazione di acque inquinate.

Questo però è l'obiettivo che mi sono prefissata io, vi sono invece alcuni scopi che, credo, caratterizzino anche tutti gli altri lavori di maturità svolti in biologia, come per esempio imparare a redigere un rapporto o organizzare un lavoro di ricerca in laboratorio.

Inoltre, un obiettivo di metodo è svolgere un lavoro che mi permetta di eseguire un'attività pratica di laboratorio.

In ogni caso penso che l'obiettivo, il più importante, sia redigere questo lavoro da soli, imparando a cavarcela in varie situazioni, per esempio in momenti di delusione dove viene voglia di buttare via tutto perché qualcosa non funziona come si aveva sperato. Inoltre sappiamo di non poter mollare, perché bello o brutto che sia è un lavoro che ci fa crescere e che ci permette di fare un passo avanti nella nostra vita.

3. L'ESPERIMENTO

3.1. Il Laboratorio Cantonale (LSPAAS)

Inizialmente ho creduto di poter svolgere la ricerca pratica da sola a casa per poi far analizzare i risultati in un laboratorio.

Così, un giorno mi sono recata al laboratorio cantonale di microbiologia per incontrare il signor Germano Righetti, responsabile del laboratorio e spiegargli quali fossero le mie intenzioni per questa ricerca e per chiedergli alcuni consigli.

Ho così intuito che quello che volevo sperimentare non era realizzabile senza appositi materiali. Ma allora come fare? Il signor Righetti mi ha subito aiutata, offrendomi la possibilità di svolgere l'intero esperimento all'interno della struttura per la quale lavora. Questa possibilità mi ha permesso di rendere la mia ricerca, un vero e proprio esperimento scientifico, realizzato con strumenti di analisi adatti.

Il mio esperimento è poi stato seguito dal biologo Mirko Sargenti che ha effettuato le analisi ogni giorno spiegandomi nei dettagli tutte le procedure messe in atto.

3.2. Esperienza 1

3.2.1. I materiali

Il materiale necessario all'esperimento, eseguito con un campione di acqua inquinata proveniente dallo scarico di una ditta alimentare del Sottoceneri è il seguente:

- miscela di microrganismi effettivi attivati
- soluzione proveniente dallo scarico di una fabbrica di alimentari del Sottoceneri (con DOC = concentrazione di carbonio organico disciolto = 8567 ppm = 8567 mg/l)
- acqua potabile
- becher da 2000 ml
- cilindri graduati da 1000 ml e 250 ml
- agitatore magnetico
- guanti in lattice
- pipetta automatica

Come campione per l'esperimento è stata presa l'acqua di scarico di una fabbrica di alimentari siccome contiene un' alta percentuale di carbonio organico disciolto, ciò permette durante le analisi di notare anche una minima variazione di tale concentrazione.

Per le analisi dei campioni è stato usato un apparecchio in grado di rilevare la quantità di carbonio organico (DOC) presente nel campione.

Questo apparecchio si chiama: Phoenix 8000, The UV- Persulfate TOC Analyzer.



Fig. 1: Phoenix 8000, l'apparecchio utilizzato per rilevare la concentrazione di carbonio organico disciolto presente nella soluzione

Per il funzionamento dettagliato dell'apparecchiatura si veda l'allegato 7.

3.2.2. Procedimenti e metodi

L'esperienza si svolge in base ai seguenti sette punti:

1. Siccome la concentrazione di carbonio organico disciolto (DOC) nella soluzione (8567 ppm) è troppo elevata, è necessario diluirla di 10 volte, ottenendo una concentrazione di DOC pari a 856,7 ppm.
2. La quantità finale di soluzione sarà di 2000 ml, perciò secondo il seguente calcolo è necessario prelevare 200 ml della soluzione di acqua inquinata : $1/10 = X/2000 \rightarrow X = 200$ ml
3. Utilizzando il cilindro graduato da 1000ml versare nel becher da 2000 ml 1798 ml di acqua del rubinetto.
4. Indossare i guanti ed in seguito grazie al cilindro da 250 ml versare nel becher 200 ml di soluzione di acqua inquinata.
5. Con l'ausilio della pipetta automatica prelevare 2ml dalla bottiglia contenente i microrganismi e versarli nel becher da 2000 ml.
6. Mettere il magnete nel becher con la soluzione, e posizionarlo sull'agitatore acceso, in modo che la soluzione possa ossigenarsi.
7. Campionare tutti i giorni per X volte.

3.2.3. I campionamenti

Ogni giorno veniva eseguito un prelievo dalla soluzione.

Data e ora inizio esperimento:	1.09.'08 / 15:30
Temperatura ambiente:	23-24°C
Temperatura soluzione:	19°C

Prelievo 1 – 01.09.'08.

Prelievo di 10 ml, 5 ml e 2,5 ml per fare le diluizioni 1:5, 1:10 e 1:20 allo scopo di misurare il contributo organico che i microrganismi danno alla soluzione. In seguito i campioni sono stati acidificati con H_3PO_4 concentrato. Tutti i campioni sono stati filtrati su filtri da 45 μ m.

Eseguiti 5 bianchi con gli stessi filtri da 45 μ m per verificare che i filtri non rilascino carbonio in quantità tale da compromettere i risultati dell'esperienza.

Prelievo 2 – 02.09.'08. / 8:30 (17 ore dopo l'inizio)

Prelevati 5 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 10 volte \rightarrow fattore di diluizione 1:10
Prelevati 10 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 5 volte \rightarrow fattore di diluizione 1:5
In seguito filtrati i campioni su filtri da 45 μ m e acidificati con 0,5 ml ognuno di H_3PO_4 concentrato.

Prelievo 3 – 03.09.'08. / 10:30 (41 ore dopo l'inizio)

Prelevati 5 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 10 volte \rightarrow fattore di diluizione 1:10
Prelevati 10 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 5 volte \rightarrow fattore di diluizione 1:5
Campioni filtrati su filtri da 45 μ m e acidificati con 0,5 ml ognuno di H_3PO_4 concentrato.
Alle 18:15 l'agitatore è stato fermato.

Prelievo 4 – 04.09.'08. / 10:30 (65 ore dopo l'inizio)

Acceso l'agitatore alle 10:00, spento alle 11:00.

Prelevati 50 ml e lasciati tali e quali → fattore di diluizione 1:1

Prelevati 5 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 10 volte → fattore di diluizione 1:10

Prelevati 10 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 5 volte → fattore di diluizione 1:5

Campioni filtrati su filtri da 45 µm e acidificati con 0,5 ml ognuno di H₃PO₄ concentrato.

Acceso l'agitatore alle 19:20 e lasciato in funzione tutta la notte.

Prelievo 5 – 05.09.'08. / 10:30 (89 ore dopo l'inizio)

Spento l'agitatore alle 10:30.

Prelevati 50 ml e lasciati tali e quali → fattore di diluizione 1:1

Prelevati 10 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 5 volte → fattore di diluizione 1:5

Campioni filtrati su filtri da 45 µm e acidificati con 0,5 ml ognuno di H₃PO₄ concentrato.

Acceso l'agitatore per il week-end e diminuita l'intensità della rotazione.

Prelievo 6 – 08.09.'08. / 10:30 (161 ore dopo l'inizio)

Spento l'agitatore.

Prelevati 50 ml e lasciati tali e quali → fattore di diluizione 1:1

Prelevati 10 ml e diluiti in 50 ml di acqua, cioè diluiti 5 volte → fattore di diluizione 1:5

Campioni filtrati su filtri da 45 µm e acidificati con 0,5 ml ognuno di H₃PO₄ concentrato.

Eseguiti 6 bianchi (acqua) per verificare che i filtri non rilascino carbonio.

3.2.4. Risultati dell'esperienza 1

I risultati sperimentali con i quali si è potuto creare il grafico seguente si trovano negli allegati (allegato 2).

Tab.1:

Valori della concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione ad ogni campionamento e durata del processo in ore

Concentrazione di C	Durata in h
742	0
808	0
941.2	0
752.5	24
785	24
718.5	48
858	48
801	72
797	72
823	96
756.5	144

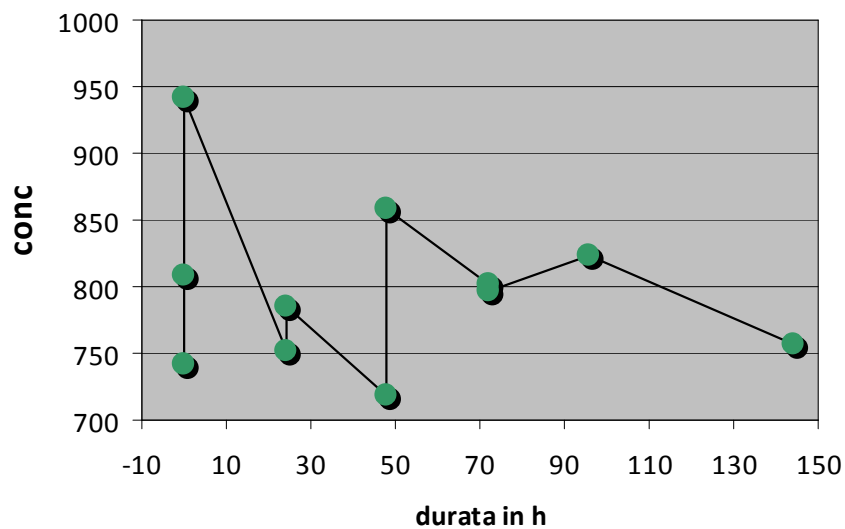


Fig. 2: Grafico dell'andamento della prima esperienza; concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione in funzione della durata dell'esperienza in ore

3.3. Esperienza 2

3.3.1. Procedimenti e metodi

Siccome nell'esperienza 1, non sono stati ottenuti i risultati sperati, si è deciso di modificarla.

L'08 settembre 2008, alla soluzione rimasta dell'esperienza 1 sono stati aggiunti 20 ml di miscela di microrganismi effettivi.

In seguito sono stati eseguiti dei campionamenti regolari diluiti 1:10 e 1:5, filtrati su filtri di vetro da 0.7 μ m (che non rilasciano particelle organiche) e acidificati con 0,5 ml di H₃PO₄ (concentrazione: 85%).

3.3.2. Risultati dell'esperienza 2

Tab. 2:

Valore della concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione ad ogni campionamento e durata del processo in ore.

Concentrazione di C	Durata in h
529,5	0
523	0
486,5	24
509	144
532,5	168

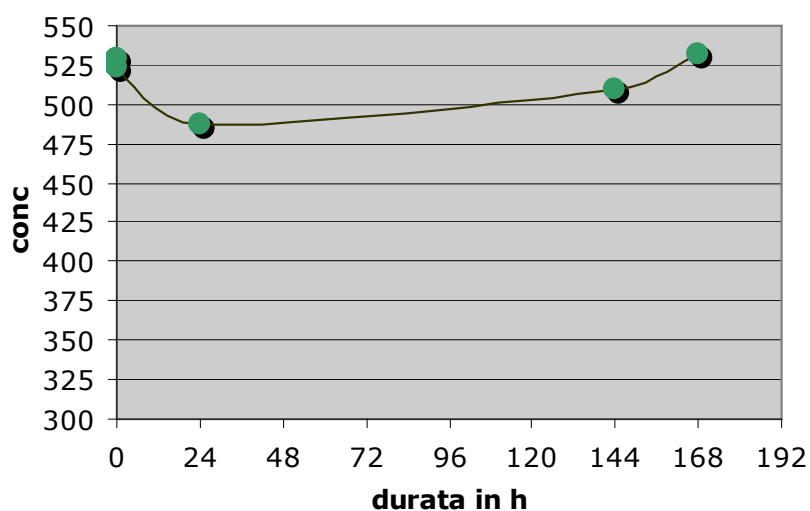


Fig. 3: Grafico dell' andamento della seconda esperienza; concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione in funzione della durata dell'esperienza.

3.4. Esperienza 3

Questo esperimento non viene effettuato con l'acqua di scarico proveniente dalla ditta alimentare (siccome contiene solfiti che inibiscono la crescita dei microrganismi), bensì con del saccarosio: $C_{12}H_{22}O_{11}$ e dell'acqua di diluizione.

3.4.1. Procedimenti e metodi

Il volume totale della soluzione è 2000 ml.

Occorre sapere quanto carbonio è contenuto in una zolletta di zucchero del peso di 3,7 g e quale sarà la concentrazione del carbonio diluito nell'acqua, allo scopo di avere un valore iniziale di riferimento.

Per questo sono necessari i seguenti calcoli:

Mm $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 342,30 g/mol

Mm C = 12,017 g/mol → Mm C₁₂ = 144,1284 g/mol

$144,1284/342,30 = X/100 \rightarrow X = 42,206 \%$ (percentuale di carbonio nel saccarosio).

$42,206/100 = X/3,7 \rightarrow X = 1,558$ g (in 3,7 g di saccarosio vi sono 1,558 g di carbonio).

$1558 \text{ mg} / 1000 \text{ ml} = 1,558 \text{ mg/ml}$ quindi avremo una concentrazione di carbonio pari a 779 mg/l.

Oltre al carbonio fornito dal saccarosio alla soluzione viene aggiunta dell'acqua di diluizione, preparata nel modo qui spiegato:

La preparazione viene effettuata aggiungendo 1 ml di ciascuna delle seguenti soluzioni a un litro d'acqua:

- soluzione di $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ a 0,25 g/l
- soluzione di $CaCl_2$ anidro a 27,5 g/l
- soluzione di $MgSO_4 / H_2O$ a 22,5 g/l
- soluzione tampone a pH 7,2

La soluzione tampone viene preparata sciogliendo 21,75g di K_2HPO_4 ; 8,5g di KH_2PO_4 ; 33,4g di $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ e 1,7 g di NH_4Cl in un litro d'acqua.

Aerare la soluzione a saturazione per 15 minuti e lasciare a riposo per almeno altri 15 minuti.

Al posto di utilizzare 33,4 g di $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ per questo esperimento sono stati usati 22,18g di $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ secondo il seguente calcolo:

Mm $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ = 267,95 g/mol

Mm $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ = 177,95 g/mol

→ $33,4/267,95 = X/177,95 \rightarrow X = 22,18$ g

L'acqua di diluizione ha come ruolo il fornire ulteriore nutrimento sotto forma di carboidrati ai microrganismi.

La soluzione contenente il saccarosio, l'acqua di diluizione e la miscela di microrganismi viene poi campionata regolarmente per circa una settimana. I campioni vengono filtrati e in seguito acidificati come indicato negli esperimenti precedenti.

3.4.2. Risultati dell'esperienza 3

I risultati sperimentali con i quali si è potuto creare questo grafico si trovano negli allegati (allegato 5).

Tab. 3:

Valore della concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione ad ogni campionamento e durata del processo in ore

Concentrazione di C	Durata in h
790,5	0
767,5	24
788,5	48
799	72

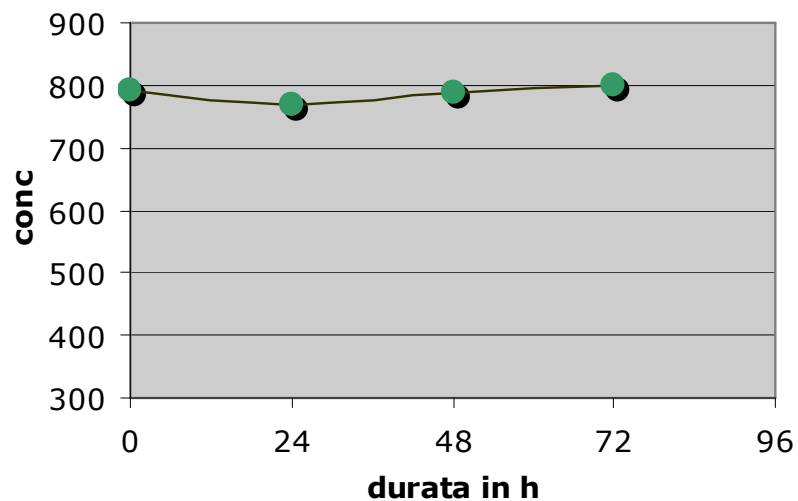


Fig. 4: Andamento della terza esperienza prima dell'aggiunta dell'acqua peptonata; concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione in funzione della durata dell'esperienza.

3.5. Modifica dell'esperienza 3

Siccome l'esperienza 3 (che considerava come unico nutrimento dei microrganismi il carbonio e i carboidrati) non ha portato i risultati sperati, si è ricorso ad una modifica.

3.5.1. Procedimento

Ai 1600 ml di soluzione rimanenti sono stati aggiunti 400 ml di acqua peptonata (acqua contenente proteine).

3.5.2. Risultati completi dell'esperienza 3

Questo grafico inizialmente riprende i dati dell'esperienza 3.

Tab. 4:

Valore della concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione ad ogni campionamento e durata del processo in ore

Concentrazione di C	Durata in h
790.5	0
767.5	24
788.5	48
799	72
727.35	168
622.35	192
559.2	216
520	240
422.9	312
402.35	336
383	360

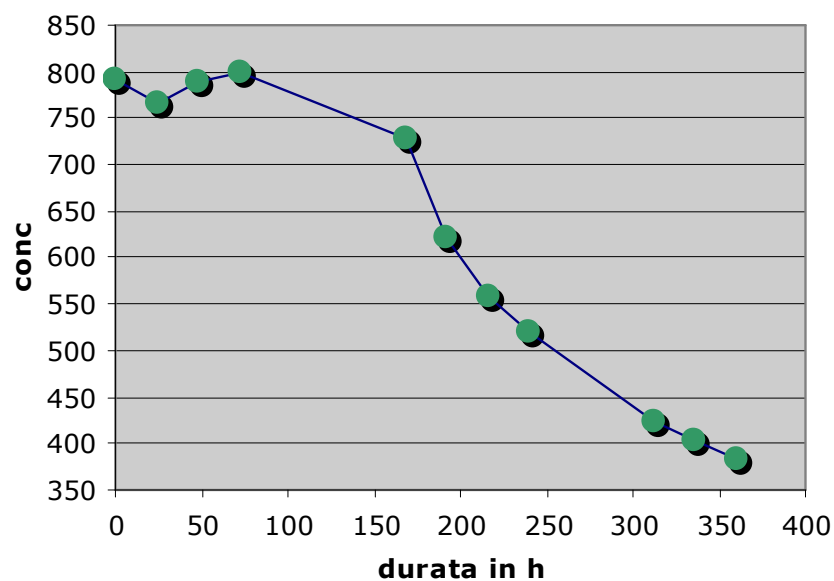
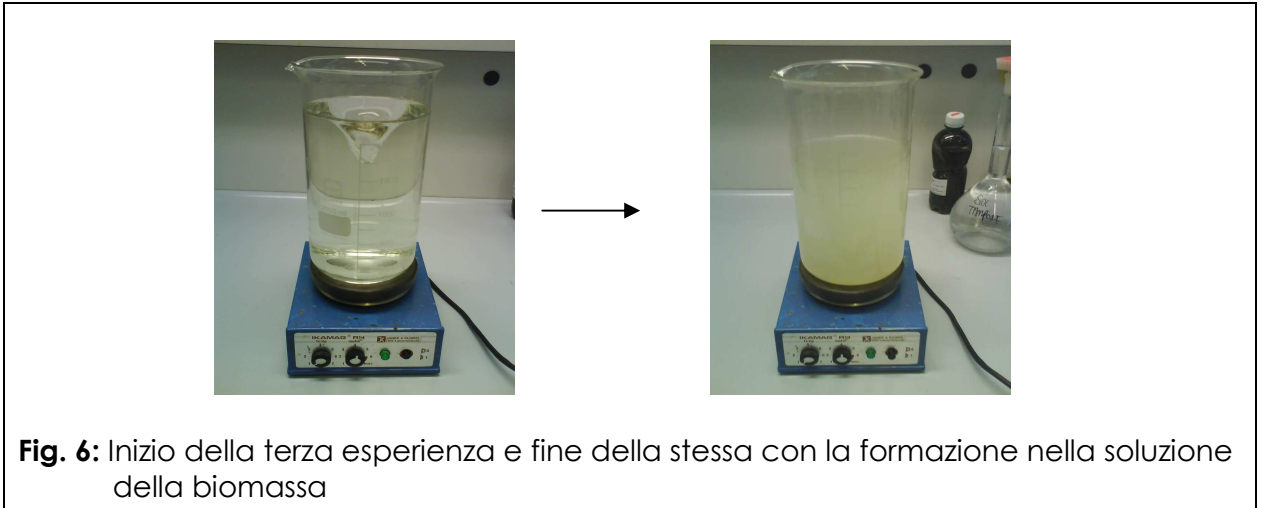


Fig. 5: Grafico della terza esperienza completa; concentrazione di carbonio organico presente nella soluzione in funzione della durata dell'esperienza



4. DISCUSSIONE

Le discussioni delle 3 esperienze sono inglobate nella discussione seguente.

Dai risultati della prima esperienza (Fig. 2, pag. 9), il livello di carbonio presente nella soluzione non è diminuito. Si è quindi supposto che i microrganismi non siano stati in grado di ridurre il tasso di carbonio a causa della loro bassa concentrazione nella soluzione (1:1000).

Si è quindi deciso di immettere nella soluzione rimanente 20 ml di miscela di microrganismi, allo scopo di scoprire se la causa del mancato funzionamento della prima esperienza fosse effettivamente la poca concentrazione dei microrganismi effettivi.

Come si può leggere dai risultati della seconda esperienza (Fig. 3, pag.10), anche in questo caso il tasso di carbonio organico presente nella soluzione non è diminuito. Quindi, la causa del non funzionamento della prima esperienza non è la bassa concentrazione di microrganismi nella soluzione. Dopo aver eseguito un'analisi più dettagliata di un campione di acqua proveniente dalla ditta alimentare (si veda il grafico all'allegato 3), ci si è accorti che in essa sono presenti dei solfiti. Solfiti e solfati sono usati nell'industria alimentare (si veda l'allegato 4) come conservanti, siccome controllano la crescita microbica. Conseguentemente si deduce che questi solfiti abbiano inibito la crescita dei microrganismi, impedendo loro di riprodursi e quindi di far diminuire il livello di carbonio organico disciolto presente nella soluzione.

A seguito della scoperta dei solfiti e dei solfati presenti nel campione di acqua proveniente dalla ditta alimentare si è deciso di svolgere un'esperienza che implicasse un'altra fonte di carbonio. La terza esperienza è stata quindi eseguita con dell'acqua nella quale si è aggiunto del saccarosio.

Come si può notare dai risultati della terza esperienza (Fig. 4, pag.12), la concentrazione di carbonio non è diminuita. Avendo escluso come cause del non funzionamento dell'esperienza la bassa concentrazione dei microrganismi e siccome in questa soluzione non sono presenti solfiti, si è deciso di lasciar agire i microrganismi per un'altra settimana, supponendo che i microrganismi necessitino ulteriore tempo per svolgere la loro "funzione depuratrice".

Dopo una settimana i risultati dell'esperienza sono drasticamente cambiati. Come si può leggere dai risultati (Fig. 5, pag.13) il livello di carbonio nella soluzione è sceso, fino a meno di 400 ppm, diminuendo quindi di più della metà del valore iniziale.

Dopo la prima settimana, come si può notare nella figura 6 a pagina 14 nella soluzione si è formata della biomassa (si veda l'allegato 6).

Essa comprende sostanze di origine animale o vegetale che possono essere usate come combustibili nella produzione di energia. Semplificando, grazie al loro metabolismo (come detto al punto 1.2. i microrganismi effettivi vivono in simbiosi siccome si nutrono del reciproco prodotto del metabolismo) i microrganismi si sono creati l'ambiente di vita ideale e stabile nel quale vivere e dal quale prendere le energie necessarie alla loro sopravvivenza. Nella miscela di microrganismi sono presenti batteri di varia natura (ubiquitari) che, a determinate condizioni, si moltiplicano formando colonie che si aggregano al materiale particellare dando così origine a fiocchi che, con il loro peso, formano un fango (biomassa, chiamata anche fango attivo negli impianti di depurazione delle acque).

Si tratta di batteri aerobi ossia batteri che utilizzano l'ossigeno (disciolto in acqua e fornito grazie ad un agitatore magnetico) per ossidare il substrato organico dal quale traggono l'energia vitale.

Solo in seguito alla formazione della biomassa il tasso di carbonio organico disciolto ha iniziato a diminuire, questo spiega l'utilità del lasciare agire i microrganismi per un'ulteriore settimana.

5. CONCLUSIONE

A seguito di questo esperimento posso trarre la seguente conclusione: i microrganismi effettivi sono in grado di far diminuire il tasso di carbonio presente nell'acqua. Per fare ciò necessitano però di un certo lasso di tempo, circa di tre settimane, per creare, grazie al loro metabolismo, la biomassa e quindi di conseguenza il loro ambiente di vita ideale.

A questo punto si può porre la seguente domanda: immettendo dell'acqua inquinata proveniente dalla ditta alimentare nella soluzione dove si è formata la biomassa, i microrganismi sarebbero in grado di sopravvivere nonostante la presenza di solfiti? Purtroppo non ho avuto il tempo per verificarlo, ma io presumo di sì, siccome avendo creato la biomassa i microrganismi vivono in un ecosistema più stabile e sono quindi più forti e resistenti.

Da questo lavoro posso concludere anche che i microrganismi effettivi nonostante siano esseri viventi che si trovano ovunque, esigono condizioni ambientali precise ed abbiano un delicato equilibrio vitale, siccome basta che nella soluzione nella quale sono immersi sia presente una sostanza da loro non tollerata ed i microrganismi soccombono.

Inoltre vorrei aggiungere che nello svolgere la mia ricerca mi sono trovata a mio agio nell'atmosfera del laboratorio. Ogni volta che entro resto affascinata da tutto quello che vedo. Mi sono trovata benissimo e sono veramente felice di aver avuto l'opportunità di conoscere meglio il laboratorio.

6. ALLEGATI

- Allegato 1: Cosa sono gli EM? (testo integrale)
- Allegato 2: risultati sperimentali dell'esperienza 1
- Allegato 3: grafico dei solfiti
- Allegato 4: solfiti e solfati
- Allegato 5: risultati sperimentali dell'esperienza 3
- Allegato 6: biomassa
- Allegato 7: funzionamento Phoenix 8000

7. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

7.1. Siti internet

- www.eufic.org/article/it/page/BARCHIVE/expid/basics-additivi-alimentari/
- <http://it.wikipedia.org/wiki/Biomassa>
- <http://www.rinnovabili.it/biomassa>
- www.em-italy.com

7.2. Libri

- Teruo Higa, *Microrganismi effettivi, benessere e rigenerazione nel rispetto della natura*, Tecniche nuove
- Phoenix 8000, User Manual

8. RINGRAZIAMENTI

Ringrazio tutte le persone che hanno in un modo o nell'altro contribuito alla realizzazione di questa ricerca.

In particolare ringrazio Regula Pedretti per le informazioni che ha saputo darmi e per avermi fornito la "materia prima" necessaria allo svolgimento dell'esperienza, cioè i microrganismi effettivi.

Ringrazio anche il signor Germano Righetti per avermi permesso di svolgere l'esperimento al laboratorio cantonale e Mirko Sargenti per aver pazientemente seguito tutto il mio lavoro.

Vorrei ringraziare inoltre Luca Berini per avermi aiutata nell'impaginazione del lavoro.

Infine vorrei ringraziare il Professor Ottorino Pedrazzini per avermi seguita nella realizzazione del lavoro.