



Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria
Laboratorio Microbiologia Medica e Malattie Infettive

62024 Matelica
Via Circonvallazione, 93/95
Tel. 0737.404007
Fax 0737.404002
vincenzo.cuteri@unicam.it

Matelica, 19 dicembre 2021

Spett.le
Realspa S.r.l.
XV Strada, 28
95100 Catania (CT)

VALUTAZIONE DELLA
CARICA BATTERICA TOTALE, DELLA TOSSICITÀ SU TOPO E
DELL'INDICE RESPIROMETRICO DINAMICO POTENZIALE
DI UN PRODOTTO OTTENUTO DALLA FRAZIONE ORGANICA DI RIFIUTO
INDIFFERENZIATO

Laboratorio di Microbiologia Medica e Malattie Infettive
Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria
Università di Camerino
PROF. VINCENZO CUTERI



INDICE

| | |
|--|---------------|
| 1. INTRODUZIONE | pag. 3 |
| 2. DESCRIZIONE DEL PRODOTTO | pag. 5 |
| 3. PROPRIETA' E CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO | pag. 5 |
| 4. VALUTAZIONE DELLA CARICA BATTERICA TOTALE | pag. 5 |
| 5. VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA' SU TOPO | pag. 6 |
| 6. VALUTAZIONE DELL'INDICE DI RESPIRAZIONE DINAMICO | pag. 6 |
| 7. RISULTATI | pag. 7 |
| 8. CONCLUSIONI | pag. 8 |



1. INTRODUZIONE

Il panorama nazionale dello smaltimento di rifiuti solidi urbani è caratterizzato da un ritardo di natura infrastrutturale, organizzativa e gestionale rispetto al quale in diversi modi si è cercato di intervenire con soluzioni improntate all'emergenza, in grado di rinviare nel tempo un problema che, per gli enti locali e per gli stessi soggetti preposti alla raccolta ed allo smaltimento, è divenuto ogni giorno più pressante.

Nel nostro Paese si producono annualmente circa 30 milioni di tonnellate di rifiuti solidi urbani corrispondenti a circa 500 kg pro-capite, di cui 7,8 milioni, dopo il trattamento meccanico-biologico (TMB), vengono conferiti in discarica. Le discariche accolgono anche 400k ton/anno dei circa 3 Mln/ton di fanghi prodotti dal trattamento delle acque reflue urbane, per un totale di 8,2 Mton/anno.

Il trattamento standard dei rifiuti risulta ancora eccessivamente costoso e poco efficiente in termini di riduzione dei volumi di rifiuti, di abbattimento della carica batterica e di raffinazione del rifiuto.

La tendenza di crescita che ha caratterizzato gli anni 80 ed i primi anni 90 si è sostanzialmente stabilizzata a partire dal 1993; si può tuttavia ritenere che ciò sia dovuto più ad una depressione dei consumi finali delle famiglie piuttosto che al risultato di significative politiche volte alla riduzione *ab origine* dei rifiuti prodotti o al contenimento della domanda di smaltimento.

Attualmente circa l'85% dei rifiuti solidi urbani viene smaltito in discariche, che in molti casi sono operative solo sulla base di autorizzazioni che derogano alla normativa vigente. Si tratta di un sistema che è profondamente contrario alle stesse priorità dell'Agenda 21: "limitare fin dalla fase di conferimento la quantità di rifiuti da avviare al ciclo di smaltimento, agendo successivamente per la valorizzazione delle frazioni recuperabili previo idoneo trattamento".

Ad una situazione complessiva che di per sé si presenta quanto mai deficitaria (basti pensare che nel resto d'Europa si raggiungono percentuali di incenerimento del 50-60% in impianti che, nel 90% dei casi garantiscono un recupero energetico), occorre aggiungere l'estrema disomogeneità dei diversi contesti regionali. Per ciò che concerne la combustione, se in regioni come l'Emilia-Romagna ed il Friuli le percentuali smaltite con questa modalità possono essere considerate "interessanti" (rispettivamente 32,0% e 26,3%), nel Meridione non si va oltre l'1-2%. Nel caso degli impianti di separazione l'episodicità delle scelte si può ritenere anche maggiore: trascurando il caso dell'Umbria, dove viene separato il 43,9% dei rifiuti regionali e del Trentino-Alto Adige (10,6%), le percentuali scendono drasticamente al 2,0% nel Meridione e al 2,6% nelle regioni del Nord complessivamente intese.

Il deficit impiantistico non potrà essere colmato in tempi brevi. Se si osservano i dati relativi agli impianti di termotrattamento e di selezione esistenti e si sommano a quelli di impianti analoghi in avviamento o in costruzione si arriva a stimare una copertura della domanda di smaltimento di non più del 25,6%. Il problema è evidentemente di natura complessa e l'incremento della dotazione infrastrutturale è solo uno, sia pur fondamentale, degli aspetti su cui intervenire. Risulta quindi essenziale realizzare un equilibrio tra azioni di carattere



Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria

Laboratorio Microbiologia Medica e Malattie Infettive

preventivo (riduzione della massa di rifiuti prodotti), interventi di recupero con conferimento selezionato (raccolta differenziata), iniziative volte alla valorizzazione dei residui, attività di recupero ed impiego come combustibile della frazione ad alto contenuto energetico, ricorso alla discarica per i soli sovvalli. Infine, da non dimenticare la particolarità delle forme con cui si è manifestata in Italia la "sindrome nimby", ovvero il rifiuto da parte delle popolazioni insediate ad accogliere qualsivoglia progetto di impianto che abbia a che fare con lo smaltimento dei rifiuti. Tutti producono rifiuti ma nessuno vuole smaltirli a casa propria.

La produzione di un Combustibile Solido Secondario (CSS-Combustibile) prodotto con tecnologie innovative di tipo Meccano-Chimiche, senza emissioni nocive nell'ambiente e con caratteristiche energetiche importanti potrebbe certamente contribuire alla soluzione del problema.

Inoltre, l'integrazione di un sistema versatile ed innovativo basato su un processo di micronizzazione ed essiccamento a valle degli impianti esistenti nei TMB, potrebbe ottimizzare il processo produttivo, incrementando la rotazione dei materiali e riducendo i costi di smaltimento.

A tal fine la Realspa S.r.l. con sede in Catania, desiderosa di una collaborazione scientifica finalizzata all'effettuazione di ricerche nel settore del recupero energetico e della valorizzazione dei rifiuti ha richiesto a me, Professor Vincenzo Cuteri, Titolare della Cattedra di Microbiologia ed Epidemiologia, della Cattedra di Industrial and General Microbiology (Jilin Agricultural University, China) e Responsabile del Laboratorio di Microbiologia Medica e Malattie Infettive, della Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinarie, Università di Camerino, e Responsabile Sanitario dello Stabulario di Ateneo e Presidente del Comitato Scientifico del Centro Studi Internazionale "Arkegos" di Roma di verificare la Carica Batterica Totale, la tossicità su topino e l'indice respirometrico dinamico potenziale (IRD) di un prodotto ottenuto con una metodica brevettata a funzionamento meccano-chimico dalla frazione organica di rifiuti indifferenziati. In particolare, si tratta di una tecnologia nata per il trattamento innovativo di diverse tipologie di rifiuti, tra cui l'indifferenziato, la frazione secca, la frazione organica e i fanghi. Il macchinario, denominato "Attritor Mill" è modulare e risulta composto da una o più "giare" di trattamento che possono essere installate in parallelo per raggiungere il fabbisogno quantitativo più adatto.

2. DESCRIZIONE QUALI – QUANTITATIVA

- Il prodotto si presenta come un fluff ed è identificato come da foto.



3. PROPRIETÀ' E CARATTERISTICHE

Il prodotto è stato ottenuto mediante trattamento di micronizzazione ed essiccamento che è alla base del sistema. Esso avviene tramite attrito e impatto, mediante sfere di acciaio, azionate dai martelli presenti all'interno della giara di trattamento, che esercitano una pressione (da 8.000 a 15.000 atmosfere) che frantuma i materiali e contribuisce alla sua disidratazione mediante parziale eliminazione dell'acqua per evaporizzazione.

Il materiale è stato ottenuto a partire da frazione organica.

Il prodotto non ha alcun odore caratteristico, appare di consistenza soffice e sostanzialmente privo di umidità.

Il prodotto è stato prelevato direttamente dal sottoscritto immediatamente al termine della procedura di trattamento.

4. VALUTAZIONE DELLA CARICA BATTERICA TOTALE

Per la valutazione della Carica Batterica Totale si è proceduto alla sospensione di 1 gr. di prodotto in 25 ml di Soluzione Fisiologica Sterile. Dopo 1 h in agitazione continua, 100 µl di sospensione sono stati seminati per spatolamento su Columbia Sheep Blood Agar con e senza supplemento selettivo per *Streptococcus*, Mac Conkey Agar, Violet Red Bile Glucose Agar, Cetrimide Agar, GSB Agar, Cin *Yersinia* Agar, *Burkholderia* Selective Agar, e Cristal Violet Agar. Ogni semina è stata eseguita tre volte e le piastre sono state incubate a 37 °C o 42 °C in aerobiosi ed anaerobiosi per 48 h.

5. VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA' SU TOPO

Per la valutazione della tossicità su topo il prodotto in esame, tal quale, è stato utilizzato come lettiera in sostituzione totale o parziale della lettiera classica in segatura.

In particolare: 3 gabbie contenenti 3 topi sono state allestite con lettiera e prodotto ana parti, 3 ulteriori gabbie, contenenti sempre 3 topi, sono state allestite con solo prodotto ed infine una gabbia, contenente 3 topi e posta nel medesimo ambiente ed adiacente alle altre, allestita con lettiera classica in segatura.

I topi, alimentati con mangime standard, sono stati mantenuti in tali condizioni per 30 giorni.



Particolare di gabbia con lettiera costituita solo da prodotto testato.

6. VALUTAZIONE DELL'INDICE DI RESPIRAZIONE DINAMICO

Al fine di valutare l'indice di respirazione dinamico si è utilizzato il metodo di prova UNI TS 11184:2006.

La prova è stata eseguita dal Laboratorio Smart Materials for Research and Technology in Safety and Environmental Applications, Università degli Studi di Napoli Parthenope, Napoli.

I campioni sono stati prelevati secondo lo schema riportato nella tabella 3.

Il rapporto di prova è conservato presso la ns. sede ed è disponibile per il committente a seguito di richiesta.

7. RISULTATI

Per quanto riguarda gli esami batteriologici e la valutazione della carica batterica totale, i risultati sono riportati in tabella 1 e tabella 2, per quanto attiene all'indice di respirazione dinamico, i risultati sono riportati in tabella 3.

Tabella 1: Risultati esame batteriologico e Carica Batterica Totale espressa in CFU per gr. di CSS eseguito in aerobiosi.

| Terreno di coltura | Risultato | CFU/gr. |
|--|----------------------|---------|
| Columbia Blood Agar | <i>Bacillus</i> spp. | 12 |
| Columbia Blood Agar <i>Streptococcus</i> | Negativo | 0 |
| MacConkey Agar | Negativo | 0 |
| Violet Red Bile Glucose Agar | Negativo | 0 |
| Cetrimide Agar | Negativo | 0 |
| GSB Agar | Negativo | 0 |
| Cin <i>Yersinia</i> Agar | Negativo | 0 |
| <i>Burkholderia</i> Selective Agar | Negativo | 0 |
| Cristal Violet Agar | Negativo | 0 |

Tabella 2: Risultati esame batteriologico e Carica Batterica Totale espressa in CFU per gr. di CSS eseguito in anaerobiosi.

| Terreno di coltura | Risultato | CFU/gr. |
|--|-------------------------|---------|
| Columbia Blood Agar | <i>Clostridium</i> spp. | 36 |
| Columbia Blood Agar <i>Streptococcus</i> | Negativo | 0 |
| MacConkey Agar | Negativo | 0 |
| Violet Red Bile Glucose Agar | Negativo | 0 |
| Cetrimide Agar | Negativo | 0 |
| GSB Agar | Negativo | 0 |
| Cin <i>Yersinia</i> Agar | Negativo | 0 |
| <i>Burkholderia</i> Selective Agar | Negativo | 0 |
| Cristal Violet Agar | Negativo | 0 |

Tabella 3: Risultati indice respirometrico dinamico potenziale

| Parametri | U.M. | T0 | T1 | T0 | T1 | T0 | T1 | T0 | T1 |
|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 02/08/2021 | 03/08/2021 | 05/08/2021 | 06/08/2021 | 23/08/2021 | 24/08/2021 | 25/08/2021 | 26/08/2021 |
| IRD Potenziale | mgO ₂ /KgSVh | 426 | 243 | 909 | 513 | 1.562 | 550 | 1.808 | 625 |
| IRD Reale | mgO ₂ /KgSVh | - | - | - | - | 797 | 241,0 | 911 | 304,0 |
| pH | - | 5,8 | 6,8 | 6,3 | 7,2 | 6,9 | 5,3 | 6 | 5,7 |
| T interna cumulo | °C | 28,6 | 34 | 30,5 | 39,2 | 30,0 | 39,2 | 51 | 35,7 |
| Umidità | % | 44,7 | 30,4 | 41,1 | 29,1 | 42 | 24,9 | 52,4 | 28,4 |
| Residuo 105°C | % | 55,3 | 69,6 | 58,9 | 70,9 | 58 | 75,1 | 47,6 | 71,6 |
| T trattamento Attritor | °C | 46-50 | | 60-80 | | 55,00 | | 55,00 | |
| Pezzatura trattamento | mm | 4,1 | | 3,8 | | 3,6 | | 3,6 | |

8. CONCLUSIONI

I risultati degli esami batteriologici, eseguiti sia in aerobiosi che anaerobiosi, dimostrano la pressoché totale assenza di batteri patogeni dal materiale conferito. Unico batterio isolato in aerobiosi, peraltro ad una concentrazione molto modesta (12 CFU/gr.), è stato *Bacillus* spp. (successivamente indentificato mediante MALDI-TOF, come *Bacillus megaterium*).

Il rilevamento di questo microrganismo non può certo essere considerato un aspetto negativo visto che *B. megaterium* è normalmente utilizzato nella composizione dei concimi in agricoltura e orticoltura.

Per quanto riguarda invece le indagini batteriologiche eseguite per batteri anaerobi, anche in questo caso è stata evidenziata una modesta concentrazione, 36 CFU/gr., di *Clostridium* spp. (successivamente identificato con metodo MALDI-TOF, come *Clostridium tetani*).

Riguardo la tossicità su topo, durante i 30 giorni di sperimentazione nessuno degli animali è deceduto o ha presentato alcun sintomo clinico.

La presenza di modeste concentrazioni di *Bacillus* e *Clostridium* da un lato e la totale assenza di altri microrganismi patogeni dall'altro, dimostrano comunque che il trattamento subito dai rifiuti è in grado di ridurre sensibilmente la presenza di microrganismi, arrivando quasi ad una completa sterilizzazione, mentre rimane attiva qualche spora che invece non viene distrutta dal trattamento. Ciò nonostante, nessuno dei topi è venuto a morte o si è ammalato di una forma infettiva, tanto da poter affermare che il prodotto non risulta tossico per il topo.

Riguardo l'indice respirometrico dinamico potenziale, si è osservata una notevole riduzione, ottenendo un risultato nettamente inferiore al limite previsto di 1000 mg O₂ kg⁻¹ VS h⁻¹, in tempi notevolmente ridotti rispetto alla normale procedura eseguita, potendo tra l'altro affermare che il prodotto oggetto della sperimentazione sia "biologicamente stabile".

Inoltre, avendo avuto la possibilità di partecipare direttamente a tutte le procedure di trattamento per l'intera durata della sperimentazione avvenuta presso il sito di Tufino (NA), è possibile ritenere che il macchinario (Attritor Mill) utilizzato per il trattamento della frazione organica abbia tutte le caratteristiche di infungibilità.

Infatti, durante la sperimentazione è stato possibile evidenziare:



Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria

Laboratorio Microbiologia Medica e Malattie Infettive

- a) La riduzione del volume pari almeno al 50% con contestuale riduzione pari almeno al 30% del sotto vaglio da RSU;
- b) La riduzione del volume pari almeno al 50% con contestuale riduzione pari almeno al 15% del sopra vaglio da RSU;
- c) L'accelerazione contestuale del processo di biostabilizzazione con una diminuzione dei tempi e quindi dei costi di gestione ai fini del raggiungimento del IRDP previsto dalla normativa sino al 50%.
- d) L'abbassamento dei costi energetici e logistici, considerata la bassa potenza energetica necessaria in esercizio non superiore a 250 KWh, e il ridotto ingombro di spazio necessario per l'installazione.

La contestualità dell'azione di riduzione in peso, volume e accelerazione della fase di biostabilizzazione rendono il macchinario "Attritor Mill" unico sul mercato delle macchine adibite al trattamento dei rifiuti. Tutto ciò oltre ad incidere positivamente sull'ambiente e sulla popolazione riducendo drasticamente gli odori emessi dalla frazione organica di rifiuti indifferenziati, avrebbe anche un enorme risvolto economico consentendo un abbassamento generale dei costi di gestione indiretti, dell'energia e della superficie utilizzata per ogni tonnellata trattata, ma soprattutto una riduzione del costo e della tempistica del tradizionale processo di biostabilizzazione ottenendo minore ingombro della frazione del rifiuto e dimezzando i tempi necessari al completamento del processo.

**Laboratorio di Microbiologia Medica e Malattie Infettive
Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria
Università di Camerino
PROF. VINCENZO CUTERI**