TDE-C03 — Campionamento dei lombrichi

Bioindicatori territoriali per la determinazione esclusiva dei PFAS

Versione 1.0 | 10 novembre 2026 | Fasi operative: preparazione della biomassa e analisi chimica a cura di strutture idonee.

1. Scopo e campo di applicazione

Definire una procedura semplice e ripetibile per raccogliere lombrichi presenti nelle aree candidate a Terre dell'Eccellenza (TDE), prepararne la biomassa presso la struttura di preparazione dei campioni e consegnare al laboratorio incaricato campioni idonei alla sola determinazione dei PFAS. La valutazione è territoriale e integra le altre matrici TDE; non è un censimento faunistico.

Non sono previste su lombrichi analisi di metalli, pesticidi, PCB o altri contaminanti. Le soglie e le fasce di valutazione PFAS sono esclusivamente quelle già approvate nel protocollo analitico TDE: nessuna modifica è introdotta con questa procedura.

2. Strategia e rappresentatività

- Individuare unità territoriali omogenee per suolo, uso del suolo e pressione antropica; evitare di sovrapporre indiscriminatamente situazioni differenti.
- Per una prima campagna, prevedere indicativamente 3–5 punti distribuiti nell'unità omogenea: numero operativo preliminare da verificare in campo, non prescrizione ISO.
- Registrare posizione, tipo di coltura/copertura, stato di umidità, eventuali apporti di ammendanti o ristagni. Preferire primavera o autunno con suolo umido e non gelato.
- L'assenza di lombrichi non equivale a "PFAS assenti": riportare "campione biologico non disponibile" e integrare il giudizio con altre matrici TDE.

3. Materiali essenziali

Vanga o pala pulita; metro e quadrato guida da 50 × 50 cm; telo nuovo in PE/PP non fluorurato e pulito; guanti puliti verificati idonei per PFAS; contenitori PP/HDPE puliti e identificati; etichette; scheda di campo; box termico e accumulatori refrigeranti separati dagli organismi. Evitare PTFE/Teflon e altri componenti fluorurati a contatto con campioni.

4. Raccolta sul campo — metodo manuale

1. Delimitare un quadrato di circa 50 × 50 cm nel punto selezionato.
2. Scavare con cautela lo strato superficiale fino a circa 20–30 cm, secondo struttura e profondità lavorata.
3. Disgregare le zolle sul telo pulito ed estrarre delicatamente i lombrichi integri; non utilizzare corrente elettrica, sostanze irritanti o soluzioni estraenti.
4. Collocare gli animali vivi nei recipienti identificati, con una piccola quantità di terreno umido dello stesso punto; non saturare d'acqua.
5. Annotare numero approssimativo, eventuali differenze morfologiche e difficoltà di raccolta; ripristinare lo scavo.



Figura 1 — Ricerca manuale nel terreno estratto, su telo pulito. Immagine illustrativa generata digitalmente.

5. Trasporto alla struttura di preparazione dei campioni

Trasportare gli animali vivi nel più breve tempo possibile, in contenitori ventilati e riparati dalla luce; mantenere condizioni fresche senza congelare né porre i contenitori a diretto contatto con ghiaccio. Registrare data e orario di prelievo e ricezione. Non imporre 4 °C come temperatura rigida di trasporto degli organismi vivi.

6. Preparazione biologica presso la struttura di preparazione dei campioni

6. Mantenere separati i lotti di origine fino alla decisione documentata di composizione. Escludere animali visibilmente danneggiati o moribondi; registrare gli scarti.
7. Rimuovere delicatamente il terreno aderente con acqua ultrapura controllata per il bianco PFAS, secondo una procedura uniforme.
8. Disporre gli animali su supporto pulito, umido e verificato privo di contaminazione PFAS significativa, senza alimento. Depurazione intestinale preliminarmente fissata in 24–48 ore; registrare la durata effettiva e sostituire il supporto quando contaminato da deiezioni.
9. Al termine, risciacquare se necessario, eliminare l'acqua superficiale in modo standardizzato e determinare massa fresca depurata.
10. Preparare un campione composito solo con lombrichi della medesima unità omogenea e tracciarne i punti di origine. Congelare e omogeneizzare con strumenti idonei; concordare preventivamente con il laboratorio incaricato se consegnare biomassa congelata o liofilizzata.
11. Se liofilizzata, registrare massa prima e dopo il trattamento e il rapporto fresco/secco, per rendere i risultati confrontabili con la base massica prevista dalle soglie TDE.

Nota analitica: l'eventuale liofilizzazione non deve essere decisa senza riscontro del laboratorio sul metodo e sulla base di espressione dei risultati. Nessun conservante chimico (formolina/etanolo) è ammesso per i campioni destinati a PFAS.



Figura 2 — Separazione dei lombrichi dalle zolle durante il prelievo. Immagine illustrativa generata digitalmente.

7. Consegna al laboratorio incaricato e controlli essenziali

Elemento	Regola operativa
Analisi richiesta	Esclusivamente PFAS previsti dal protocollo analitico TDE già approvato
Contenitore biomassa	PP o HDPE idoneo e verificato per il metodo; tappo privo di rivestimenti fluorurati
Conservazione	Campioni preparati congelati; temperatura e tempi di conservazione concordati con il laboratorio incaricato
Bianco di preparazione	Controllo della preparazione (acqua, supporti, attrezzature), da concordare con il laboratorio
Risultati	Specificare massa fresca/secca e condizioni di preparazione; non applicare soglie su base massica diversa

8. Scheda sintetica di campionamento e preparazione

Campo	Dato da registrare
Codice TDE / unità omogenea	_____

Data, ora e operatore	_____
Punti di raccolta / coordinate	_____
Uso del suolo, umidità, note	_____
Numero / massa organismi per punto	_____
Ricezione presso la struttura di preparazione dei campioni	_____
Lavaggio / supporto / bianco	_____
Inizio e fine depurazione	_____
Massa fresca depurata / eventuale massa secca	_____
Codice campione / consegna al laboratorio	_____

9. Precisazioni per l'avvio del protocollo

Prima del primo campionamento, il responsabile della preparazione e il laboratorio incaricato devono concordare: (a) biomassa minima necessaria per il pannello PFAS; (b) idoneità di materiali e supporti; (c) eventuale liofilizzazione; (d) conservazione e tempi di consegna. L'indicazione di 30–50 g di biomassa fresca è solo un possibile obiettivo logistico preliminare, non un quantitativo validato.

La metodologia manuale è un adattamento operativo alla determinazione chimica di PFAS; non costituisce applicazione integrale della ISO 23611-1, che per obiettivi ecologici comprende anche altri metodi di estrazione.

10. Riferimenti tecnici

• ISO 23611-1:2026, Soil quality — Sampling of soil invertebrates — Hand-sorting and extraction of earthworms. https://www.iso.org/standard/88092.html

• Occurrence and Fate of Fluoroalkyl Sulfonamide-Based Copolymers in Earthworms — Bioavailability, Transformation, and Potential Impact of Sludge Application (2024). Studio con lavaggio ultrapuro, depurazione >24 h, congelamento e liofilizzazione. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11483768/

• TDE — Protocollo analitico PFAS nei lombrichi, versione già approvata (documento tecnico TDE per analiti e soglie).