

## Cos'è l'azoto

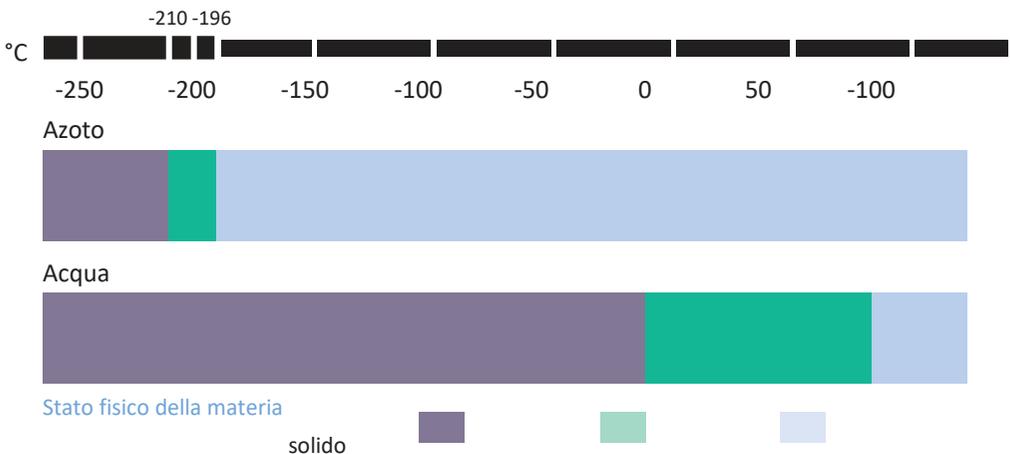
L'azoto  $N_2$  è uno degli elementi più presenti in natura ed è in forma gassosa nell'aria che respiriamo per il 78,09% del volume totale. Allo stato puro non ha

odore, sapore, colore ed è inerte. Inoltre l'azoto non reagisce facilmente con altri elementi, non brucia e non alimenta la combustione. La sua sigla chimica è N ( $N_2$  allo stato molecolare stabile di due atomi accoppiati).

L'azoto liquido si presenta come un liquido incolore, inodore ed ha una temperatura di  $-196\text{ }^\circ\text{C}$ . Tale temperatura è molto vicina allo zero assoluto ed il contatto con una sostanza a queste temperature ha gli stessi effetti biologici del contatto con le altissime temperature dei liquidi bollenti o dei metalli fusi. L'azoto liquido evapora senza lasciare nessuna traccia e non altera chimicamente le sostanze con cui viene a contatto.

L'azoto liquido viene prodotto attraverso un sistema detto a freddo, il più usato tra quelli possibili, attraverso la compressione e il trattamento dell'aria atmosferica che dopo essere stata depurata totalmente dell'acqua, della  $CO_2$  e degli idrocarburi viene raffreddata in uno scambiatore in controcorrente con l'azoto prodotto in uscita, entrando nella colonna di distillazione (SKID FREDDO) dove avviene la separazione criogenica tra l'ossigeno e l'azoto.

Gli impianti per la produzione di azoto sono di notevole dimensioni e in Italia ne sono operanti pochissimi e sono collocati solo nel centro nord.



Sarebbe possibile produrre azoto anche con piccoli impianti, ma i costi sarebbero notevolmente superiori.

Il volume dell'azoto liquido, come risultato della enorme compressione a cui viene sottoposto, è estremamente più piccolo dell'azoto gassoso (680 volte). Questo vuol dire che un litro di azoto liquido durante l'evaporazione si espande circa 700 volte, cioè quasi fino 700 litri!

1 litro di azoto liquido pesa 800 grammi	1 kg di azoto liquido occupa il volume di 1,20 litri
<p><i>Quindi il valore di 1 kg di azoto dovrebbe essere il 20% in più rispetto ad 1 litro di azoto. L'indicazione viene data poiché alcuni rivenditori di azoto hanno a listino il prezzo riferito al chilo, altri riferito al litro, ed è quindi possibile che si creino confusioni. La pesatura dell'azoto fornito da maggiore affidabilità.</i></p>	

Quando si travasa l'azoto in un contenitore criobiologico caldo la forte evaporazione dell'azoto comporta una perdita dello stesso pari al 20% del liquido travasato. E' quindi possibile che il venditore possa chiedervi una maggiorazione di prezzo per la quantità d'azoto evaporato quando ricaricate un contenitore vuoto.

## Come si conserva l'azoto liquido

Una volta prodotto per compressione, l'azoto liquido deve essere mantenuto allo stato liquido alla temperatura di  $-196^{\circ}\text{C}$  in appositi contenitori pressurizzati che sono trasportabili su autocarri speciali e in cisterne (solitamente verticali) che in genere vengono sistemate nei pressi delle attività che ne richiedono l'impiego in quantità rilevanti. I principali utilizzi dell'azoto liquido sono nell'industria meccanica - per effettuare saldature, accoppiamenti di parti meccaniche a freddo - e nella conservazione dei materiali biologici: la cosiddetta CRIOBIOLOGIA.

In crio-biologia l'azoto liquido è utilizzato durante la preparazione dei campioni

biologici, per il loro congelamento e conservazione e per il loro eventuale trasporto in contenitori appositi, i cosiddetti “dewar”. Il vaso Dewar è il progenitore dei contenitori criobiologici. L’invenzione di tale strumento, indicato anche con il termine “termos”, è di Sir James Dewar (1842-1923) e consiste di due recipienti di vetro posti l’uno dentro l’altro e saldati solo per il bordo superiore al fine di ridurre al minimo la trasmissione del calore per conduzione tra i due recipienti. Le superfici interne sono argentate per riflettere il calore irraggiato dalle pareti esterne. Al fine di limitare la trasmissione per convezione causata dalle particelle dell’aria, il vaso Dewar vede una intercapedine tra i due recipienti concentrici nel quale viene fatto il vuoto.

## Stoccaggio dell’azoto liquido

L’azoto viene trasportato dai centri di produzione, che sono pochissimi in Italia, presso i centri di distribuzione dotati di contenitori pressurizzati di elevatissime capacità che sono dislocati nella gran parte delle province italiane. Gli impianti di produzione di materiale seminale, in particolare quelli per la specie bovina,



Stoccaggio grandi quantità in pressione



Stoccaggio piccole quantità in pressione

contenitori per grandi stoccaggi di materiale seminale in un centro di produzione

sono dotati a loro volta di contenitori di dimensioni da 800-2.000 litri. per lo stoccaggio di azoto, per il rifornimento dei loro contenitori di conservazione delle dosi di materiale seminale, ed eventualmente per il rifornimento di azoto ai loro clienti. I recapiti di F.A. che normalmente distribuiscono direttamente il materiale seminale e forniscono anche l'azoto liquido agli operatori di F.A. e allevatori, hanno contenitori di stoccaggio più piccoli, da 1.600-2400 litri.



## I contenitori criobiologici per la conservazione delle dosi di materiale seminale

Il contenitore criobiologico è destinato esclusivamente a conservare l'azoto liquido ed è costruito in modo da limitare lo scambio di calore tra l'esterno e l'interno che si mantiene così refrigerato, permettendo la conservazione del materiale spermatico congelato in azoto liquido.

Per approfondire i meccanismi che consentono ad un contenitore criobiologico di conservare al suo interno un liquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  con elevatissimi indici di coibentazione (K), occorre conoscere alcuni principi della fisica. Il calore si diffonde per conduzione, convezione e irraggiamento.

Il fenomeno della conduzione termica è enunciato nei principi della termodinamica per cui il calore si trasmette da punti a più alta temperatura verso quelli con temperatura minore per contatto molecolare diretto.

La convezione termica è invece il principale meccanismo di trasmissione del calore nei fluidi per cui il fenomeno di conduzione termica è associata alle correnti dei fluidi che a loro volta trasportano il calore. Nel caso dei contenitori



criobiologici non vi è presenza di liquidi, ma le particelle di aria presenti nell'intercapedine tra i due involucri di cui è costituito il contenitore sono in grado di trasmettere il calore per convezione.

Diversamente dai due fenomeni appena descritti, la conduzione per irraggiamento avviene senza che ci sia un materiale tra i due corpi ma avviene per emissione di energia in forma di onde elettromagnetiche.

Al fine di ovviare a questi meccanismi di dispersione termica sono stati adottati alcuni accorgimenti tecnici per la costruzione dei contenitori criobiologici da noi presi in esame. Innanzitutto nella intercapedine tra i due recipienti viene fatto il vuoto.

Il vuoto viene creato da una particolare e sofisticata apparecchiatura attraverso una valvola normalmente posta lateralmente nella parte alta del contenitore. La valvola si presenta come un sporgenza simile ad un piccolo tappo che non ha alcuna funzione ma non va manomessa né svitata per evitare che, rompendosi il contenitore, perda il vuoto e quindi la sua funzionalità.

Il ridotto contatto tra i due recipienti e il vuoto tra loro sono accorgimenti che riducono sia lo scambio termico per conduzione, mancando il contatto, sia lo scambio per convezione, non essendoci aria tra i due vasi. Per limitare invece lo scambio termico per irraggiamento, nella intercapedine sono posti fogli di alluminio che hanno un'azione riflettente e anche isolante.

Un ulteriore elemento che aiuta a mantenere il vuoto fra i due vasi è la presenza nell'intercapedine, in prossimità del collo, di una sostanza assorbente che è in grado di catturare eventuali particelle d'aria.

I due vasi sono congiunti solo attraverso il collo che è costruito di fibra di vetro, perfettamente isolante. Il collo è l'unica apertura del contenitore verso l'esterno, ma è anche l'unica struttura che sorregge il vaso interno e quindi anche il peso del contenuto, e per questo motivo è facilmente soggetto alla rottura in seguito a manipolazioni scorrette o ad urti.

Un tappo chiude il contenitore per limitare la dispersione dei vapori di azo-



Valvola attraverso la quale viene fatto il vuoto nel contenitore

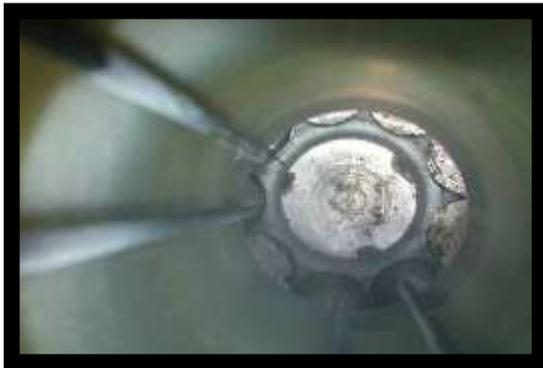
plastica, che serve per posizionare ed estrarre il tappo. Il dischetto e il cilindro sono solo incollati fra di loro ed è molto frequente che si distacchino in seguito a scorretta manutenzione. Ciò comporta a volte la difficoltà nel recuperare il tappo rimasto dentro al collo. Esternamente il contenitore può essere dotato di un cappuccio sovrastante il tappo con funzioni protettive, e in alcuni casi, a questo cappuccio si può apporre un lucchetto di sicurezza.

Per lo stoccaggio delle dosi all'interno del contenitore sono previsti cestelli di acciaio, i canisters, provvisti di un'asta di materiale isolante con un gancio per fissarsi al collo del contenitore. Questi possono essere di diametro diverso, in relazione al diametro del collo del contenitore, e di due differenti altezze (basso cm 20, alto cm 40). I canisters presentano sul fondo una griglia o dei fori laterali per consentire lo scarico dell'azoto quando sono estratti dal

to. E' costituito da un cilindro di particolare materiale plastico normalmente poroso e isolante che ha altezza variabile in base all'altezza del collo del contenitore. Questo cilindro presenta delle scanalature longitudinali in numero pari al numero dei cestelli ed è fissato nella sua parte superiore a un dischetto, sempre di



Il tappo presenta delle scanalature nella sua lunghezza per poter alloggiare le aste dei canister



Flangia sul fondo del contenitore per mantenere in sede i cestelli

contenitore. Ciascun cestello può essere equipaggiato di un bicchiere di plastica, chiamato gobelet, per trattenere parte di azoto liquido durante la manipolazione o lo spostamento del seme. Ogni cestello è identificabile grazie a un cartellino, a un numero o a un colore, e anche i gobelets possono avere differenti colori per poter individuare più facilmente il materiale sper-

matico di un toro rispetto ad un altro.

Per inserire i canisters nel contenitore, dopo aver superato il collo, bisogna compiere un movimento sull'asta per spingere il cestello radialmente ed alloggiarlo nella flangia posta sul fondo, assicurandosi poi che sia fermo nella sua sede. Ogni cestello ha infatti il suo alloggiamento. I cestelli devono essere manipolati uno alla volta poiché un solo cestello ingombra completamente il canale d'imbocco del collo. Il diametro dei cestelli varia rispetto al diametro del collo del contenitore. La loro altezza può essere di due misure in base all'altezza del contenitore e in relazione al numero di dosi da stoccare. I contenitori a cestello alto possono essere dotati di due livelli di gobelets con una apposita asta che permette di estrarli e agganciarli alle pareti del canister stesso.

## Accessori dei contenitori criobiologici

Il contenitore può essere fornito di accessori quali:

- Basi di appoggio muniti di rotelle per facilitare gli spostamenti del contenitore.
- Apparecchiature da applicare in pressione all'imboccatura del contenitore per spillare, in sicurezza, modiche quantità di azoto.
- Appositi cavalletti portanti un contenitore per facilitare il travaso di azoto.
- Dispositivo di allarme da applicare sul tappo di chiusura del contenitore che segnala in modo acustico o con una spia luminosa il livello minimo di azoto presente che richiede il rifornimento dell'azoto stesso. In commercio vi sono



L'altezza dei castelli, o canister, viene scelta in base al quantitativo di dosi da stoccare e al tipo di contenitore (da Crio Farm)



Apposita asta graduata per rilevare il livello di azoto

altri dispositivi con funzionamento a pesata che emettono un segnale acustico quando è necessario effettuare una ricarica.

-Asta graduata di materiale isolante, normalmente plastica, che consente di conoscere il livello dell'azoto.

## Scelta del contenitore

### Parametri per scegliere un contenitore criobiologico

**capacità di azoto liquido:** I contenitori in commercio sono di tre categorie. Contenitori aziendali con capacità di 20 litri; contenitori per lo stoccaggio che hanno capa-

capacità di 35 litri; contenitori da trasporto per veterinari con capacità di 10 litri.

**diametro del collo:** esistono contenitori a “collo stretto” con diametro massimo di 25 cm e contenitori a “collo largo” con diametro minimo di 35 cm. In contenitori a parità di capacità, un collo più stretto riduce l’evaporazione dell’azoto e permette così una più lunga autonomia. Un collo di diametro maggiore, nonostante aumenti l’evaporazione, agevola la manipolazione delle paillettes ad un punto più basso del collo perché ne permette una maggiore visibilità, e riduce così i rischi dovuti all’esposizione del materiale seminale alla temperatura esterna.



Contenitore a bocca larga

**tasso di evaporazione:** è dato dai litri di azoto che evaporano nelle 24 ore in fase statica cioè senza che il contenitore venga aperto. Questo valore subisce variazioni in base alle condizioni ambientali. I contenitori di ultima generazione a bocca stretta hanno tassi di evaporazione inferiori a 0,09 litro/giorno. È importante tenere presente che i contenitori usati possono avere tassi di evaporazione molto più elevati.

**autonomia in fase statica:** indica il tempo in giorni in cui avviene l’evaporazione di tutto l’azoto che si trova nel contenitore vuoto senza che questo venga mai aperto.

**autonomia in fase operativa:** indica il tempo in giorni in cui avviene l’evaporazione di tutto l’azoto che si trova nel contenitore completo di cestelli e dosi, nelle condizioni di utilizzo effettivo. Questo parametro condiziona il tempo che deve intercorrere tra due successivi rifornimenti di azoto liquido.

Il numero di giorni di autonomia, oltre alle condizioni ambientali è condizionato dalla frequenza con cui viene utilizzato il contenitore per il prelievo delle dosi di materiale seminale stoccate.

**capacità stoccaggio dosi:** il numero di dosi stoccabili varia in relazione al loro tipo di confezionamento (mini o medie), numero, alle dimensioni e all'altezza dei cestelli.

**contenitori per travaso:** esistono degli appositi contenitori a forma di pera, a bocca stretta, muniti di comode maniglie e con una base facilmente afferrabile che servono per il travaso dell'azoto. Tali contenitori non essendo destinati allo stoccaggio del materiale seminale non sono predisposti all'alloggiamento dei cestelli, ma in alcuni casi inserendo un solo cestello vengono contingentemente usati per il trasporto di limitati quantitativi di materiale seminale.



Contenitore per il travaso di azoto

## Conservazione delle dosi di materiale seminale riproduttivo in azoto liquido

Il livello dell'azoto liquido nel contenitore varia da un livello massimo dove le paillettes sono immerse completamente o parzialmente nell'azoto liquido, a un livello minimo sufficiente per mantenere le pailletes immerse nei soli vapori freddi provenienti dall'azoto liquido che si trova sul fondo del contenitore. Per garantire la conservazione del materiale spermatico è indispensabile provvedere alla ricarica di azoto prima che il livello di azoto scenda indicativamente, come valore di sicurezza, al disotto dei 7 cm di altezza dal fondo del contenitore.

Proprio perché la presenza di azoto all'interno del contenitore criobiologico garantisce la conservazione del materiale spermatico, è indispensabile effettuare misurazioni regolari del livello di azoto e all'occorrenza prevederne la ricarica. Il controllo del livello di azoto nel contenitore deve essere fatto frequentemente in base all'autonomia del contenitore stesso. Per decidere i tempi di ricarica del contenitore non è sufficiente basarsi sui parametri tecnici indicati dalla dit-



Livello di brinatura nel contenitore

ta produttrice perché, come abbiamo visto, sono molti gli elementi che concorrono a variare l'autonomia del contenitore. Per esempio, più volte viene aperto il contenitore, maggiore sarà la frequenza della ricarica.

Il controllo del livello di azoto può essere effettuato mediante pesatura o utilizzando un'asta graduata di materiale isolante che viene immessa nell'azoto per 8-10 secondi e, una volta estratta dal conte-

nitore e agitata leggermente all'aria, permette di riconoscere il livello evidenziato dal tratto coperto dalla brinatura.

Attenzione: vanno assolutamente evitati sistemi di misurazione alternativi che siano cavi all'interno poiché potrebbero, per la forte differenza di temperatura, determinare una violenta risalita dell'azoto liquido e la fuoruscita di notevoli e pericolosi spruzzi dell'azoto stesso.

Qualora ci si dovesse accorgere che nel contenitore in cui sono stoccate delle dosi non vi è più azoto liquido, ma sono rimasti almeno i vapori, si dovrà immediatamente riempirlo e, nel frattempo, far analizzare alcune pailletes da un laboratorio specializzato prima di utilizzarle. Nel caso invece il contenitore risulti vuoto e privo di vapori, il materiale seminale andrà assolutamente eliminato. Per assicurare un'ispezione puntuale del livello di azoto, si consiglia pertanto di approntare una tabella sulla quale indicare la data stabilita per la ricarica e registrare eventualmente i dati rilevati durante i controlli. Un possibile metodo per impostare questa tabella consiste nel prendere il dato temporale riferito all'autonomia del contenitore indicato dal fornitore, dividerlo per quattro e individuare così le date intermedie di controllo, così da valutare il regolare consumo di azoto.

## Precauzioni nell'uso del contenitore

### Spostamenti del contenitore criobiologico



Contenitore con bordo di metallo sul fondo per agevolare la presa

Considerando la fragilità del contenitore, questo va sollevato sempre con entrambe le mani e va deposto con estrema cautela su superficie piana. Non bisogna appoggiarlo bruscamente al suolo. I contenitori più moderni hanno sul fondo un bordo di metallo che agevola la presa, soprattutto durante le fasi di travaso. In ogni spostamento è importante evitare urti di ogni sorta, soprattutto a carico del collo.

### I punti più fragili del contenitore

Come abbiamo visto precedentemente, il collo è esposto alla rottura perché già sollecitato dal peso del contenuto del vaso interno del contenitore. Anche solo lievi incrinature del debole materiale con cui è fatto il collo, possono far perdere il vuoto esistente nell'intercapedine del contenitore stesso con conseguente perdita della sua funzionalità. Altro elemento fragile del bidone criobiologico è il tappo. Questo è costituito da materiale plastico espanso che va facilmente incontro a erosione. Per questo motivo va sfilato verticalmente con deli-



Tappo usurato nella punta. La base rotta è stata incollata

catezza senza esercitare pressioni laterali. Non va ruotato mentre lo si estrae e non va piegato. Un tappo consumato aumenta il tasso di evaporazione del 20/30% perché diminuisce la coibentazione tra interno ed esterno

## Dove tenere il contenitore

- **in un luogo asciutto:** il contenitore va mantenuto sollevato dal suolo utilizzando dei listelli di legno di lunghezza maggiore al diametro del bidone per evitare instabilità e rovesciamenti. Allo stesso scopo si può utilizzare un bancale in legno. Questo accorgimento è altrettanto utile ad evitare che l'acqua, l'umidità e le sostanze chimiche che si usano comunemente in azienda possano corrodere il fondo del contenitore e danneggiarlo irreparabilmente. I bidoni provvisti del bordo applicato sul fondo sono preservati da tali inconvenienti.

- **in luogo ben illuminato e frequentato:** riporre il contenitore in un ambiente frequentato permette di avere sempre sotto controllo lo stato del contenitore e individuare tempestivamente eventuali anomalie come per esempio il formarsi della brina all'esterno. La luminosità del locale, inoltre, agevola la lettura e il riconoscimento di numeri, di scritte e di colori riportati sui cestelli e sulle paillettes.



Contenitore aziendale tenuto correttamente

- **in ambiente non angusto, ben areato e pulito:** per scongiurare il rischio che l'azoto liquido evaporato saturi l'aria, il contenitore va tenuto in un ambiente spazioso e ben areato. Si sconsiglia di riporre il contenitore nell'area di stabulazione degli animali o in sala mungitura per evitare di contaminare l'interno del bidone o nel locale della cisterna del latte perché qui inevitabilmente vengono utilizzati prodotti igienizzanti che danneggiano il contenitore.

Sempre per una salvaguardia dal punto di vista igienico-sanitario, occorre prestare attenzione a non appoggiare il tappo, una volta tolto, su una superficie sporca per non veicolare successivamente una contaminazione all'interno del contenitore.

## Possibili problemi e anomalie del contenitore



Brinatura dovuta alla rottura del collo del contenitore e perdita della coibentazione



Formazione di ghiaccio nel collo

- **brina all'esterno:** è segno di rottura del contenitore. Depositi di brina attorno al collo sono indicativi di un danneggiamento del collo stesso e di perdita del vuoto nell'intercapedine. Il contenitore in queste condizioni non è più utilizzabile e le dosi vanno spostate in un altro contenitore. La formazione di brina avviene rapidamente e non dura molto tempo perché in breve tempo si esaurisce l'azoto. Ecco perché, per salvare le proprie dosi, il contenitore va sempre tenuto sotto il controllo. Se il problema è il tappo, rotto o manomesso con riparazioni inadeguate, va sostituito.

- **formazione di ghiaccio nel collo:** in genere il ghiaccio nel collo si forma per una forte umidità presente nell'aria e perché il tappo bagnato da una precedente ghiacciatura non è stato asciugato attentamente prima di essere riposto sul contenitore. Di conseguenza il cilindro del tappo rischia di rimanere bloccato, e, nel tentativo di estrarlo con forza, si staccerebbe l'impugnatura di plastica, lasciando nel collo il cilindro stesso. Non cercare in nessun modo e con nessun attrezzo di rimuovere il ghiaccio dalle pareti del collo perché inevitabilmente lo si danneggerebbe. Il contenitore va svuotato riversando l'azoto in un

altro contenitore. Va poi lasciato a temperatura ambiente affinché si scioglia il ghiaccio ed evapori l'umidità interna.

## **Pulizia del contenitore**

E' importante sapere che l'azoto liquido non è sterilizzante ma ha solamente un effetto inibitorio sull'attività batterica. Una volta decongelati i microrganismi tornano ad essere vitali e potenzialmente dannosi. Perciò è basilare evitare di esporre il contenitore aprendolo in ambienti sporchi e contaminati.

La pulizia del contenitore va fatta possibilmente una volta all'anno per rimuovere sporcizia e paillettes depositatesi sul fondo.

Per la pulizia del contenitore:

- trasferire il materiale seminale in un altro contenitore;
- svuotare il contenitore dall'azoto liquido;
- lasciare salire la temperatura interna;
- utilizzare soluzione di ipoclorito di sodio commerciale o una soluzione al 10% di varechina commerciale normalmente diluita in acqua al 5,25% con la quale riempire il contenitore;
- lasciare la soluzione nel contenitore per 30 minuti;
- successivamente sciacquare con abbondante acqua;
- per la pulizia dei cestelli usare una soluzione con detergente a una temperatura di 90-110°C;
- prima di riutilizzare il contenitore asciugare perfettamente tutti gli accessori.

## **Manipolazione delle dosi di seme congelato**

Per preservare l'integrità delle dosi di seme, le paillettes non dovrebbero essere esposte a temperature superiori a  $-100^{\circ}$  se non per essere scongelate. Ogni esposizione al di sopra di questa temperatura danneggia il materiale spermatico. Per questo motivo è importante conoscere come controllare l'esposizione del seme congelato.

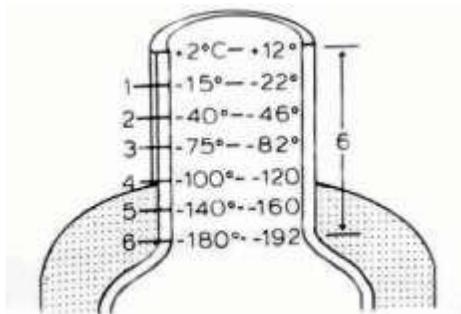
Osserviamo come all'interno di un contenitore vi siano differenti temperature che si mantengono identiche indipendentemente dal livello dell'azoto liqui-

do. Le dosi immerse nell'azoto liquido hanno temperatura di  $-196^{\circ}\text{C}$ , mentre la temperatura nei vapori sopra il gas liquido è di  $-180^{\circ}\text{C}$ . Nel collo i livelli di temperatura variano da  $-180^{\circ}\text{C}$ , verso il fondo, a  $+10^{\circ}\text{C}$  in cima all'apertura. E' evidente che, in base alla altezza in cui viene estratto il canister, si espone il seme congelato a temperature diverse. Le dosi, quindi, sono ben conservate sia immerse nell'azoto liquido che immerse solamente nei vapori freddi che si sprigionano da esso. Ma il seme congelato sollevato nel collo si scalda rapidamente. Per preservare l'integrità delle dosi è importante non sollevare il cestello al di sopra del punto più basso del collo.

Quando è necessario sollevare i cestelli per prelevare le dosi da scongelare o da spostare, bisogna evitare la prolungata permanenza delle paillettes a livello del collo del contenitore. Per estrarre le dosi occorre utilizzare le pinze così da non dover alzare eccessivamente il canister nel collo. Il cestello con le pailletes non deve essere tenuto per più di 10 secondi nel collo del contenitore per non compromettere la qualità del seme. Dopo 10 secondi, se non si è completata operazione, va immerso nuovamente e ritirato su in un secondo momento per completare la manovra.

Anche durante gli spostamenti da un contenitore all'altro le pailletes non dovranno essere esposte alla temperatura ambiente per più di 10 secondi.

Meglio operare in due mantenendo entrambi i cestelli nel collo ed avvicinare il più possibile i contenitori. E' più semplice trasferire interi canestri, anche perché si è aiutati dall'azoto liquido trattenuto da



Valori delle temperature nei diversi punti del collo influenzati comunque dall'ambiente e dal diametro del collo stesso.



Prelievo del gobelets

questi, ma è fondamentale fare attenzione al comportamento dell'azoto liquido che, esposto a temperatura ambiente, potrebbe bollire, evaporare e creare pericolosi spruzzi. Tutte le operazioni sopra elencate non vanno fatte al sole o esposti al vento.

La scelta e gli spostamenti delle dosi sono agevolati se si ha l'accortezza di aggiornare l'inventario del contenuto dei cestelli. Per fare ciò si può compilare una mappa delle dosi di ogni canister, indicando il colore dei gobelets ed il colore delle paillettes riferito ad un determinato toro. Allo stesso modo si possono applicare dei cartellini ad ogni asta di sostegno ai cestelli, con le indicazioni dei tori contenuti e del colore delle paillettes a cui fare riferimento.

Un regolare inventario aiuta a non estrarre continuamente le pailletes per leggere i dati stampati su di esse. Sempre per facilitare queste manualità, si può fare uso di false paillettes di identificazione, chiamate joncs, che hanno lo stesso colore e la stessa dicitura delle dosi vere. Hanno il vantaggio di poter essere estratte per individuare il toro cercato senza esporre le dosi reali allo sbalzo di temperatura. Può capitare che alcune paillettes consciamente cadano sul fondo del contenitore quando si sposta il seme da un contenitore all'altro o si fanno spostamenti da un cestello all'altro. Vi è anche il caso in cui le paillettes cadono inconsciamente sul fondo del contenitore durante la fase di ricarica di azoto del contenitore usando la lancia a pressione, e nel caso di contenitori a cestelli bassi. Infatti il gorgogliamento dell'azoto all'interno del contenitore crea dei vortici che, sollevando i gobelets, fanno cadere fuori dal cestello le dosi di materiale seminale in essi contenute. In altri casi gobelets contenenti poche paillettes, e quindi leggeri e non pieni di azoto perché il livello è basso in fondo al contenitore, nella fase di riempimento dell'azoto liquido tendono a galleggiare uscendo dal cestello e facendo cadere le dosi sul fondo. Per ovviare a questo inconveniente, in un cestello, all'interno di un grosso gobelet del diametro del cestello stesso si pongono affiancati i gobelets più piccoli in modo che si blocchino gli uni con gli altri.

Per fare l'inventario delle dosi si può versare in una vaschetta di polistirolo dell'azoto liquido in cui immergere di volta in volta i cestelli o i gobelets il cui contenuto deve essere registrato e sistemato.

Gobelets bloccati in un cestello



## Sicurezza e prevenzione nell'uso di azoto liquido

Nonostante l'azoto liquido sia un elemento sicuro, ci sono potenziali rischi dovuti alle sue caratteristiche principali: a causa della sua temperatura estremamente bassa può causare ustioni da freddo; tende a evaporare saturando l'aria e, se stoccato in ambiente chiuso e angusto è un potenziale pericolo di asfissia per l'operatore. Quindi i rischi derivati dall'esposizione e dal contatto con l'azoto liquido sono di tre tipi: ustioni (da freddo), traumi determinati dai contenitori criogenici, asfissia.

### Ustioni

Il contatto con la cute del liquido criogenico equivale ad una ustione da alte temperature, quindi con lesioni che sono classificate in base alla superficie colpita ed alla profondità delle lesioni. Nei primi istanti del contatto, la bassa temperatura "inganna" i sensori cutanei - come una anestesia - e ritarda la reazione di fuga, rendendo più gravi e profonde le lesioni. Anche l'esposizioni di parti del corpo (mani, braccia) ad azoto gassoso a temperature molto basse ( $-140\text{ C}^{\circ}$ ,  $-120\text{ C}^{\circ}$ ) determina lesioni da congelamento. Gli occhi sono molto esposti ai pericoli da ustione perché molto sensibili ai vapori sprigionati dal vapore liquido.

Prevenzione (DPI) – utilizzare guanti ed occhiali della dotazione di sicurezza.

In tutti i casi di contatto accidentale con azoto liquido le lesioni vanno trattate ini-



Visiera di protezione



Guanti di sicurezza

zialmente come le ustioni. E' necessario allontanare eventuali residui di liquido e successivamente, nel caso di lesioni da congelamento, si deve cercare di mantenere la temperatura corporea fino all'arrivo dell'assistenza medica. Se per un contatto accidentale con l'azoto liquido si dovessero sviluppare lesioni gravi con vesciche, la parte colpita deve essere immersa in acqua a temperatura ambiente. Se le lesioni fossero superficiali con arrossamenti e piccole vesciche, la parte colpita deve essere lavata con acqua fredda. Le vesciche non vanno rotte.

### Traumi

Le lesioni traumatiche derivanti dall'impiego di azoto liquido sono in realtà la conseguenza di incidenti quali la caduta ed il rovesciamento di contenitori sulle persone, in particolar modo durante il trasporto su veicoli (vedere sezione successiva), oppure eventi legati al sollevamento di contenitori da parte degli operatori.

Una ulteriore causa di eventi traumatici deriva dal fatto che i materiali a contatto con azoto liquido (metalli, plastiche, vetro) sono molto più fragili (perdono elasticità) e facilmente si rompono in modo imprevisto.

### Asfissia

Di tutti gli eventi pericolosi legati alla presenza di azoto liquido, sicuramente l'asfissia è quello più sottovalutato ma anche quello con le conseguenze più drammatiche. È infatti su questo rischio che dobbiamo dedicare maggiore attenzione.



## RIEPILOGANDO

proteggere gli occhi con una visiera.

tenersi a distanza di sicurezza quando l'azoto liquido viene versato in un contenitore perché ribollendo produce spruzzi,

proteggere mani con guanti isolanti

fare sempre uso di pinze per prendere le astine dei cestelli, i gobelets e paillettes all'interno del contenitore

indossare camici o indumenti privi di tasche larghe ad apertura superiore per evitare che accidentalmente l'azoto possa essere trattenuto in esse

indossare soprascarpe o sovrapporre i gambali dei pantaloni alle scarpe per evitare che l'azoto possa entrare ed essere trattenuto nelle scarpe stesse

## L'aria atmosferica e la respirazione

Abbiamo detto che l'aria atmosferica che normalmente respiriamo è composta di azoto (78%), ossigeno (21%) ed altro gas in minime percentuali.

La respirazione nei mammiferi terrestri (uomo incluso) avviene attraverso un meccanismo di scambio chimico a livello degli alveoli polmonari, dove il sangue venoso ricco di  $\text{CO}_2$  (anidride carbonica) e povero di ossigeno (16%) viene a contatto con aria atmosferica dove l'ossigeno è presente al 21%. In questo modo avviene un riequilibrio del livello di ossigeno che passa nel sangue per riportarsi ai livelli normali. Allo stesso modo la  $\text{CO}_2$  "esce" dagli alveoli e viene eliminata con la successiva espirazione.

Da questa descrizione molto semplice del meccanismo della respirazione possiamo pertanto comprendere che è fondamentale per la respirazione che l'aria in entrata nei polmoni abbia un livello di ossigeno normale (21%) in modo da permettere lo scambio con il sangue alveolare con ossigeno al 16%. Ogni alterazione di questi livelli rallenta questo scambio "vitale".

Se operiamo in ambienti dove l'ossigeno è presente in concentrazioni inferiori, gli scambi respiratori sono meno efficienti. L'esempio che tutti conoscono è

Volume stanza m <sup>3</sup>	Volume di azoto liquido (litri) nei contenitori										
	10	25	50	75	100	150	200	250	300	400	500
15	18,6	18,6	18,5	18,5	18,5	18,4	18,3	18,2	18,1	18,0	17,8
25	19,6	19,5	19,5	19,5	19,5	19,4	19,4	19,3	19,3	19,2	19,1
50	20,3	20,3	20,3	20,2	20,2	20,2	20,2	20,2	20,1	20,1	20,0
75	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,5	20,4	20,4	20,4	20,4	20,3
100	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,5	20,5

Tabella che indica la concentrazione di ossigeno in percentuale in condizioni di %0,4 ricambi aria/ora. In giallo sono indicate le condizioni ambientali pericolose per gli operatori

rappresentato dalle difficoltà che gli alpinisti incontrano alle grandi altezze, e stiamo parlando di livelli di ossigeno attorno al 19,5-20%.

Una ulteriore complicazione viene dal fatto che sfortunatamente il nostro corpo non ha un sistema di segnalazione di allarme per il tasso di ossigeno, a differenza dei segnali che abbiamo per altre componenti del sangue (es: sentiamo la fame quando scende la glicemia). In questo modo, in caso di carenza di ossigeno, non abbiamo nessuna sensazione di “soffocamento” che invece è provocata dall’aumento della CO<sub>2</sub>. Così, quando respiriamo aria povera di ossigeno e riusciamo ad eliminare la CO<sub>2</sub>, non avremo alcuna sensazione di disagio ma non riusciremo ad ossigenare il sangue, trovandoci così in una condizione di asfissia senza soffocamento. Questo è uno degli aspetti più insidiosi in quanto l’azoto non dà nessun segnale della sua presenza nell’ambiente.

Come si può valutare il rischio di asfissia?

Nelle condizioni sopra descritte, quando ci si trova in ambienti chiusi con concentrazioni di ossigeno inferiori al livello normale compatibile con la vita, i rischi aumentano mano a mano che l’azoto satura l’atmosfera, riducendo la percentuale relativa di ossigeno in maniera progressiva.

Dalla tabella è possibile vedere come il pericolo sia già presente con concentrazioni di ossigeno appena inferiori alla norma. Al di sotto del 19% di O<sub>2</sub> gli scambi gassosi polmonari sono diminuiti, mentre con il 12-14 % di O<sub>2</sub> il sangue non si ossigena più regolarmente e gli organi interni subiscono danni gravissimi

## I SENSI UMANI NON RILEVANO LA SOTTO-OSSIGENAZIONE

Soltanto con una strumentazione adeguata è possibile misurare il tenore di ossigeno. Questi strumenti si devono sempre tarare con aria atmosferica non inquinata.

- La reazione all'esposizione di atmosfere sottoossigenate varia da persona a persona. Per sicurezza, le atmosfere con meno del 18% di ossigeno devono essere considerate pericolose. Nel caso in cui il gas inerte sia anidride carbonica, tale valore è già troppo basso; bisogna in tal caso verificare che il contenuto di anidride carbonica non superi lo 0,5%. Un individuo che respira un'atmosfera contenente percentuali inferiori di ossigeno generalmente non si accorge del pericolo. L'insorgere di sintomi come sonnolenza, fatica, perdita di coordinazione, errori di valutazione e confusione possono essere mascherati da uno stato di "euforia" che induce un falso senso di sicurezza e benessere.

- In generale, la carenza di ossigeno può portare ad una attenuazione dell'attenzione, ad una deformazione del giudizio e, in tempo relativamente breve, a lesioni del cervello. Se la concentrazione di ossigeno è approssimativamente al di sotto del 12%, la perdita di conoscenza e il decesso sopravvengono senza alcun preavviso o sensazione di allarme.

Una persona che perde conoscenza per mancanza di ossigeno può essere soccorsa solo nel caso in cui il personale addetto al soccorso sia dotato di respiratori autonomi che permettano di entrare senza rischi nello spazio con atmosfera non respirabile.

### Conclusioni

Se una persona si accascia improvvisamente mentre lavora in uno spazio confinato, in un serbatoio, in un cunicolo, in un locale di dimensioni ridotte o in uno spazio aperto dove possono essere presenti gas inerti, è opportuno pensare subito ad una mancanza di ossigeno a causa della presenza di un gas inerte che è, ricordiamolo, inodore e insapore.

Ciò che non va fatto è precipitarsi al soccorso senza riflettere, con il rischio di diventare la seconda vittima. Occorre procedere metodicamente, dotandosi dei mezzi di protezione necessari ed eventualmente chiederesoccorso.

(tratto da: [assogastecnici.federchimica.it](http://assogastecnici.federchimica.it))

in pochi minuti. In particolare il cervello si troverebbe senza ossigeno nelle condizioni simili a quelle di una ischemia cerebrale (ictus).

Come si vede nella tabella, è molto facile trovarsi in situazioni di pericolo (ossigeno inferiore al 19%) in ambienti piccoli con pochi contenitori di azoto, dopo sole 24 ore.

Nella valutazione del “rischio azoto” dobbiamo pertanto tenere in considerazione sia la probabilità che la gravità di un evento accidentale. In altre parole, anche se le probabilità possono apparire basse, la drammatica gravità delle conseguenze colloca il rischio di un incidente con azoto in cima alla scala della pericolosità.

## Rischio azoto in ambienti chiusi



Contenitore ben protetto ma posizionato in un ambiente a rischio

A questo punto si può immaginare come sia facile trovarsi in situazioni di rischio quando si opera in ambienti chiusi dove siano presenti contenitori di azoto liquido. Vediamo i fattori principali. L'azoto in forma liquida è molto instabile, evapora se non è conservato in contenitori pressurizzati. Quindi i contenitori “aperti” quali sono i dewar non contrastano l'evaporazione che perciò è continua. Il tasso di evaporazione è una caratteristica normale che viene dichiarata dai produttori nelle specifiche tecniche dei contenitori. Un tipico contenitore per seme da 30 litri ha un tasso di evaporazione giornaliero di 0,1 litri che equivalgono ad un volume di 70 litri volumetrici.

## POSSIAMO CALCOLARE IL RISCHIO "AZOTO" NEL NOSTRO AMBIENTE DI LAVORO?

In condizioni normali la concentrazione di azoto gassoso che si accumula in un locale in un periodo di tempo (assumendo un tasso costante di evaporazione del contenitore) può essere calcolata con la seguente formula:

$$C=L/VN \text{ (approx)}$$

Dove

C= concentrazione del gas

L= rilascio del gas (mc/h)

V= volume del locale (mc)

N= numero di ricambi dell'aria per ora

Nota: per locali a livello del livello stradale il tasso di ventilazione naturale è di circa 1 ricambio d'aria x ora. Tuttavia questo non è il caso di stanze senza finestre o se queste sono chiuse (in tal caso il ricambio è inferiore a 1 x ora. Per locali seminterrati con piccole finestre il valore da calcolare è 0,5 perora.

ESEMPIO:

Il locale adibito a magazzino è di 3,0 x 3,0 x 4,0 m. e contiene 6 dewars da 35 litri.

L = Il tasso di evaporazione è di 0,2 lt / 24 ore (normalmente è di circa 1-2% della capacità del contenitore. Se il contenitore non è nuovo si può stimare il doppio di evaporazione - x2 -, in quanto la capacità isolante è ridotta)

N = Il locale in questione è un seminterrato senza finestre, quindi stimiamo solo 0,5 ricambi d'aria / ora.

Il fattore di espansione dell'azoto è 683.

$$C = L / V N$$

$$L = (6 \times 0,2) \times 2 = 1,2 \text{ Lt} \times 683 = 819 \text{ Lt azoto}$$

(cioè i 6 contenitori usati rilasciano 0,2 x 2 Lt di gas evaporato ogni 24 ore)

$$\text{quindi: } (0,8 \text{ mc}/24\text{h}) = 0,8 \text{ mc.}$$

$$V = 3 \times 3 \times 4 = 36 \quad (\text{metri cubi: è il volume del locale})$$

$$N = 0,5 \quad \text{ricambi d'aria ogni ora}$$

$$C = 0,8 / (36 \times 0,5) = 0,04$$

è la concentrazione di azoto che si produce ogni giorno in condizioni statiche. Questa percentuale si somma all'azoto già presente in mancanza di ricambi d'aria!

Quindi ogni giorno **-0,04% DI OSSIGENO = -1% ossigeno ogni 25 giorni**



Rilevatore ambientale diossigeno

Dalla tabella possiamo calcolare il volume che l'azoto evaporato va ad occupare nell'ambiente chiuso di stoccaggio, riducendo la percentuale relativa di ossigeno. In tali condizioni si viene a ricreare una condizione di ipossia (ossigeno ridotto) fino ad arrivare alla "asfissia" (mancanza di ossigeno).

## Misure di prevenzione

I locali di stoccaggio di contenitori multipli (recapiti e centri di f.a.) devono necessariamente essere ventilati in modo forzato con aspiratori disposti a livello del pavimento in quanto l'azoto è più pesante dell'aria normale e si stratifica in basso. I locali devono essere dotati di rilevatori di ossigeno con sistemi di allarme che permettono di avvisare gli operatori prima del loro ingresso negli ambienti a rischio, permettendo loro di areare i locali. Gli operatori devono essere dotati di sensori personali di ossigeno da utilizzare durante il lavoro nei locali in presenza di azoto.

Anche il locale di stoccaggio del contenitore aziendale è da considerare un locale a rischio, soprattutto se angusto e mal ventilato. In questi casi è opportuno assicurarsi che vi sia la possibilità di un ricambio d'aria naturale attraverso una finestra o una porta. Nei locali rimasti chiusi per più tempo è indispensabile areare prima di entrare.

Sistemi più complessi possono prevedere:

- sistemi automatici di areazione forzata in caso di allarme.
- sospensione della erogazione di azoto liquido durante le operazioni di riempimento e rabbocco.
- allarme telematico ad operatori non presenti in loco.

Una buona pratica è quella di non operare mai da soli nei locali e dotare i locali di pareti o aperture trasparenti in modo da permettere ad altri operatori di vedere cosa succede all'interno delle zone a rischio.

## Rifornimento di azoto liquido

Le operazioni di riempimento sono le più pericolose in quanto la dispersione di azoto nell'ambiente è molto elevata. È necessario avere un sistema di aspirazione di portata adeguata e quando possibile effettuare le operazioni di riempimento all'esterno.



Sistema di travaso a pelo libero con supporto basculante



Rifornimento sotto pressione

## Adempimenti di legge per la responsabilità del “caricatore”

Per la normativa il “caricatore” è rappresentato da chiunque e a qualsiasi titolo fornisce all'utente azoto stoccandolo in contenitori dello stesso utente. Questa figura può essere il dipendente della grande industria come il tecnico del recapito di F.A., come la persona che porta direttamente in allevamento l'azoto. Poiché la normativa dà la responsabilità al caricatore sul corretto stoccaggio dell'azoto da parte dell'utilizzatore, il caricatore può esimersi da detta responsabilità nel

momento che da tutte le necessarie informazioni sul corretto impiego dell'azoto liquido. Per dimostrare l'adempimento a tale impegno, e quindi esimersi dalla responsabilità, il caricatore dovrebbe consegnare, spiegare e far firmare, tenendosene una copia, una scheda tecnica sul corretto uso dell'azoto.

Si propone, a puro esempio, la seguente dichiarazione.

*La Ditta ..... fornitrice di azoto liquido dichiara di aver fornito all'utente Sig .....  
che a sua volta dichiara di aver ricevuto la seguente informativa:*

- *informazione di base attraverso una scheda informativa fornita al momento della sottoscrizione della dichiarazione sui prodotti forniti ed interventi in caso di emergenza;*
- *informazione specifica teorica-pratica sulle procedure di carico del contenitore;*
- *informazione circa le procedure di accesso, emergenza ed operative dei luoghi ove avviene il rifornimento;*
- *informazioni dei rischi del gas durante il trasporto con mezzi non dedicati.*

*Il fornitore .....*

*il cliente.....*

## Il trasporto dell'azoto in veicoli non specifici, autovetture private

Si definisce "TRASPORTO SU VEICOLI NON DEDICATI" il trasporto dei contenitori con azoto liquido sui normali autoveicoli utilizzati da allevatori, veterinari, agenti di commercio. La definizione è importante in quanto l'azoto liquido rientra nella classificazione internazionale ADR delle sostanze pericolose-esplosive. Tale ordinamento deriva dal fatto che l'azoto liquido è un gas compresso allo stato liquido, e per essere mantenuto tale è necessario trasportarlo e conservarlo ad alte pressioni - con tutti i rischi che ne derivano.

Ben diverso è il discorso del trasporto di contenitori non pressurizzati quali i nostri contenitori



che - abbiamo visto nella sezione precedente - non devono mai essere sigillati. In tal caso il trasporto viene inquadrato dalla normativa come "TRASPORTO IN ESENZIONE" che si applica fino a quantità di azoto liquido di 1000 unità (litri). I contenitori usati nei trasporti devono essere etichettati secondo le normative vigenti. L'azoto liquido è classificato nella classe 2 delle sostanze pericolose (esplosivo, inerte-non infiammabile, non tossico) e quindi i contenitori devono obbligatoriamente esporre in modo visibile l'etichetta ADR di colore verde, nella posizione indicata (a rombo).

Per il trasporto in veicoli non specifici, autovetture private, i contenitori devono essere tenuti separati dall'abitacolo



Confezionamento del contenitore per il trasporto con apposte le varie etichette precauzionali. Al centro, in rosso, un dispositivo in grado di evidenziare, grazie allo spostamento irreversibile di una sostanza azzurra, se il contenitore è stato rovesciato.

### **Regolamenti di trasporto, alcune esenzioni.**

Se le quantità totali trasportate per unità di trasporto sono inferiori a 1000 (lt.) vi sono esenzioni da alcune parti dell'ADR per esempio:

- Pannelli arancioni
- Tremcards
- Certificato di formazione professionale del conducente (patentino ADR)

### **Ma altri obblighi restano:**

- Disporre di estintore di 2 kg a bordo veicolo
- Aerazione del veicolo/No fiamme libere
- Formazione di base con nozioni generali, pericoli e responsabilità del conducente DDT a norma ADR

tratto da:

.....



Contenitore dryshippers

degli occupanti il mezzo, preferibilmente nel bagagliaio o dietro a una barriera a tenuta stagna. Dato che il contenitore non è chiuso ermeticamente è importante mettere in sicurezza il bidone stesso tenendolo in posizione verticale e legandolo con cinghie o eventualmente inserendolo in appositi supporti metallici. Nel caso in cui si debbano trasportare piccoli contenitori e per percorsi limitati con frequenti soste, non disponendo di una vettura adeguata, è bene assicurare la ventilazione nell'abitacolo tenendo parzialmente aperto almeno un finestrino e inserire la ventilazione dell'auto con presa d'aria dall'esterno.

## Assicurazione per il trasporto

In base a quanto stabilisce il Ministero dei Trasporti le merci trasportate su vetture ad uso proprio viaggiano con l'unica responsabilità del conducente. Se il bene trasportato, per incuria, provoca danni all'autista stesso o a terzi il danno è imputabile al soggetto trasportatore cioè l'autista stesso.

### Raccomandazioni previste dalla normativa ADR

n.pericolo

ADR/RID:22 Tremcard

Nr:112 Groupcard Nr:

20g22

Etichettatura ADR: Etichetta 2: ga non infiammabile, non tossico. Altre informazioni per il trasporto:

Evitare il trasporto su veicoli dove la zona di carico non è separata dall'abitacolo. Assicurarsi che il conducente sia informato del rischio potenziale del carico e sappia cosa fare in caso di incidente o di emergenza. Prima di iniziare il trasporto accertarsi che il carico sia ben assicurato; assicurarsi che vi sia adeguata ventilazione; assicurare l'osservanza delle vigenti disposizioni.

Le compagnie di assicurazione declinano ogni responsabilità relativamente al trasporto. Per un trasporto, anche in aereo, con garanzia di sicurezza CE e conforme al regolamento IATA spedizione 202, di ridotte quantità di dosi è in commercio il contenitore a tipologia dry shippers. All'interno di questo contenitore vi è del materiale crio-assorbente che si imbeve di azoto liquido e lo trattiene evitando che questo fuoriesca neppure se il contenitore viene rovesciato poiché viene trattenuto dal materiale adsorbente all'interno. Il contenitore è dotato di coperchi bloccabili. Aspetto limitante è il basso numero di dosi contenibili e i tempi lunghi per effettuare un corretto riempimento del contenitore. Versando velocemente l'azoto in tale tipo di contenitore non si lascia il tempo per un suo completo assorbimento limitando l'autonomia del contenitore stesso.



Autovettura di un operatore pratico di F.A dedicata al trasporto di contenitori criobiologici

## I rischi collegati al trasporto di azoto liquido

I rischi connessi al trasporto sono sovrapponibili a quanto descritto per i locali di stoccaggio ma su una scala di pericolo molto più elevata! Vanno adottate tutte le misure di prevenzione allo scopo di dimostrare, in caso di incidente, di aver fatto tutto quanto possibile per ridurre il rischio per noi e per gli altri. Nella

figura possiamo vedere quali sono le raccomandazioni previste dalla normativa in merito al trasporto. Si può notare che viene utilizzata l'espressione <evitare il trasporto> il che, in alcune situazioni ha determinato problemi nell'interpretazione a seguito di procedimenti legali per incidenti sul trasporto. Possiamo dire che il trasporto non è vietato ma vanno adottate in modo scrupoloso tutte le misure atte a prevenire o ridurre il grado di pericolosità degli incidenti stessi.

Pericolo traumatico	In caso di tamponamento o ribaltamento i dewan possono facilmente colpire i passeggeri in modo molto violento.	il contenitori vanno assicurati con scrupolosità mediante cinghie omologate	È evidente che sia preferibile utilizzare veicoli commerciali dotati di pareti divisorie chiuse (cassonati) o con bagagliaio separato (auto a tre volumi ed i pick-up).
Pericolo asfissia	Considerando il tasso di evaporazione normale di un classico contenitore è evidente che l'abitacolo ha un volume d'aria minimo che molto facilmente entra in saturazione di azoto. Soprattutto durante la guida e in estate l'evaporazione dell'azoto aumenta.	Non salire mai in auto prima di aver riequilibrato l'abitacolo. Evitare di viaggiare con i finestrini chiusi o regolare la ventilazione su livelli alti. Non viaggiare con il ricircolo attivato.	Se un contenitore si ribalta durante la guida la quantità di azoto che si rovescia è elevatissima. 1-2 litri sono sufficienti per azzerare il tasso di Ossigeno, in tal caso entro pochi secondi si può avere perdita di conoscenza.
Tipo di dewan	I cosiddetti dry-shipper sono preferibili in quanto in caso di ribaltamento non causano fuoriuscita di azoto liquido.	Evitare di utilizzare contenitori vecchi o deteriorati che possono avere un rischio di rottura accidentale molto più elevato.	