



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche
Dipartimento di Fisica e Chimica
S.S.D. CHIM/01

*Sviluppo e ottimizzazione di procedure per la purificazione di estratti ai
fini analitici e per il trattamento di matrici contaminate*

IL DOTTORE
Dr. Salvatore Barreca

IL COORDINATORE
Prof. Paolo Lo Meo

I TUTORS
Prof. Santino Orecchio
Prof. Andrea Pace

CICLO XXV
2015

Indice

	Premessa	<i>pag.....</i>	<i>1</i>
1	Introduzione	<i>pag.....</i>	<i>2</i>
1.1	<i>La Green Chemistry, la Green Analytical Chemistry e le pratiche di decontaminazione</i>	<i>pag.....</i>	<i>2</i>
1.2	<i>Inquinanti organici persistenti (POPs)</i>	<i>pag.....</i>	<i>5</i>
1.2.1	<i>I Policlorobifenili</i>	<i>pag.....</i>	<i>7</i>
1.2.2	<i>I Clorobenzeni</i>	<i>pag.....</i>	<i>11</i>
1.2.3	<i>Il Nitrofenolo</i>	<i>pag.....</i>	<i>13</i>
1.2.4	<i>Gli esteri ftalici</i>	<i>pag.....</i>	<i>15</i>
1.2.5	<i>Gli Escherichia coli</i>	<i>pag.....</i>	<i>19</i>
2	Stato dell'arte	<i>pag.....</i>	<i>20</i>
2.1	<i>Metodiche di rimozione di inquinanti organici</i>	<i>pag.....</i>	<i>20</i>
2.1.1	<i>Processi biologici</i>	<i>pag.....</i>	<i>20</i>
2.1.2	<i>Air stripping</i>	<i>pag.....</i>	<i>21</i>
2.1.3	<i>Adsorbimento</i>	<i>pag.....</i>	<i>21</i>
2.1.4	<i>Processi elettrochimici</i>	<i>pag.....</i>	<i>22</i>
2.1.5	<i>Processi riduttivi</i>	<i>pag.....</i>	<i>23</i>
2.1.6	<i>Processi ossidativi</i>	<i>pag.....</i>	<i>24</i>
2.2	<i>Processi di decontaminazione: vantaggi e svantaggi</i>	<i>pag.....</i>	<i>25</i>
2.3	<i>Metodiche di inattivazione batterica nella drinking water</i>	<i>pag.....</i>	<i>26</i>
2.4	<i>Metodiche analitiche classiche nella determinazione degli inquinanti organici persistenti</i>	<i>pag.....</i>	<i>27</i>
2.4.1	<i>Tecniche per la purificazione di estratti ai fini analitici</i>	<i>pag.....</i>	<i>28</i>
2.4.2	<i>Ripartizione con acetonitrile</i>	<i>pag.....</i>	<i>28</i>
2.4.3	<i>Rimozione dello zolfo elementare</i>	<i>pag.....</i>	<i>28</i>
2.4.4	<i>Tecniche di purificazione cromatografica</i>	<i>pag.....</i>	<i>28</i>
3	Scopo del lavoro	<i>pag.....</i>	<i>30</i>
3.1	<i>Piano di lavoro</i>	<i>pag.....</i>	<i>30</i>
3.1.1	<i>Tematica 1: purificazione di estratti ai fini analitici</i>	<i>pag.....</i>	<i>30</i>
3.1.2	<i>Tematica 2: trattamento di matrici contaminate</i>	<i>pag.....</i>	<i>30</i>
4	Parte sperimentale	<i>pag.....</i>	<i>33</i>
4.1	<i>Materiali e metodi</i>	<i>pag.....</i>	<i>33</i>

4.2	<i>Strumenti e tecniche analitiche</i>	<i>pag.....34</i>
5	<i>Risultati e discussione Tematica 1: purificazione di estratti ai fini analitici</i>	<i>pag.....37</i>
5.1	<i>Purificazione fotochimica di estratti di sedimento per la determinazione di PCBs: sviluppo del metodo analitico</i>	<i>pag.....37</i>
5.1.1	<i>Sviluppo del metodo di fotopurificazione</i>	<i>pag.....39</i>
5.1.2	<i>Validazione della procedura analitica</i>	<i>pag.....42</i>
5.2	<i>Purificazione fotochimica di estratti di sedimento per la determinazione di CBs: sviluppo del metodo analitico</i>	<i>pag.....46</i>
5.2.1	<i>Sviluppo del metodo di fotopurificazione</i>	<i>pag.....47</i>
5.2.2	<i>Validazione della procedura analitica</i>	<i>pag.....50</i>
6	<i>Risultati e discussione Tematica 2: trattamento di matrici contaminate</i>	<i>pag.....52</i>
6.1	<i>Adsorbimento di PCBs su sfere di alginato e sfere ibride di alginato</i>	<i>pag.....52</i>
6.1.1	<i>Sintesi e caratterizzazione delle sfere di alginato e alginato montmorillonite</i>	<i>pag.....53</i>
6.1.2	<i>Studi di adsorbimento; effetto del pH</i>	<i>pag.....55</i>
6.1.3	<i>Studi di adsorbimento; effetto dose adsorbente</i>	<i>pag.....55</i>
6.1.4	<i>Studi di adsorbimento; isoterme di adsorbimento</i>	<i>pag.....56</i>
6.1.5	<i>Studi di adsorbimento; cinetiche di adsorbimento</i>	<i>pag.....59</i>
6.2	<i>Degradazione di inquinanti organici: processi fotochimici e fotocatalitici</i>	<i>pag.....62</i>
6.2.1	<i>Processi fotochimici: sviluppo del metodo analitico</i>	<i>pag.....62</i>
6.2.2	<i>Sviluppo del metodo di degradazione e applicazione</i>	<i>pag.....64</i>
6.2.3	<i>Processi fotocatalitici: sintesi e caratterizzazione delle sfere di alginato montmorillonite (MABs) e sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs)</i>	<i>pag.....67</i>
6.2.4	<i>Studio di adsorbimento del 4-nitrofenolo (4-NP)</i>	<i>pag.....70</i>
6.2.5	<i>Valutazioni delle proprietà fotocatalitiche delle MABs e delle Fe-MABs e valutazione delle migliori condizioni di fotodegradazione</i>	<i>pag.....71</i>
6.3	<i>Inattivazione di Escherichia coli nella drink water mediante reazione di foto Fenton su sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs)</i>	<i>pag.....81</i>

6.3.1	<i>Preparazione delle soluzioni madri</i>	<i>pag.....81</i>
6.3.2	<i>Valutazioni delle proprietà fotocatalitiche delle Fe-MABs</i>	<i>pag.....82</i>
6.3.3	<i>Ottimizzazione delle procedure di inattivazione</i>	<i>pag.....86</i>
6.3.4	<i>Studi di riciclaggio</i>	<i>pag.....87</i>
7	Conclusioni	<i>pag.....89</i>
8	Bibliografia	<i>pag.....94</i>

Premessa

L'inquinamento e la corsa alle tecniche di prevenzione e decontaminazione

Da sempre, l'uomo, ha cercato di migliorare le proprie condizioni di vita. Per questo motivo, un'attività continua è stata finalizzata alla realizzazione e al miglioramento d'invenzioni e tecnologie capaci di soddisfare, totalmente o parzialmente, le esigenze dell'essere umano. Tuttavia, la tecnologia non ha portato solo e sempre benefici; basti pensare alle problematiche ambientali rilevanti già dal 1780, cioè dalla prima rivoluzione industriale.

Con il maggiore impiego dei prodotti chimici di sintesi, l'uomo ha migliorato le proprie condizioni di vita spesso a discapito di animali, ambiente e, a volte, anche di se stesso.

Per questi motivi, si è avvertita l'esigenza di definire strategie capaci di far fronte alle problematiche concernenti l'inquinamento ambientale. Lo sviluppo di tali strategie, se paragonate alla nascita delle problematiche a esse connesse, sono particolarmente recenti.

Negli ultimi anni, l'attenzione di una buona parte della comunità industriale e scientifica è stata rivolta alla minimizzazione dei rischi ambientali, procedendo in maniera sempre più marcata all'individuazione di tecniche ecosostenibili. In particolare, dopo l'inizio della *Green Chemistry* in ambito organico, si sta assistendo allo sviluppo di tecniche a basso impatto ambientale anche nell'ambito della chimica analitica applicata. Ciò ha portato alla nascita della cosiddetta *Green Analytical Chemistry* (GAC) che ai 12 principi della Green Chemistry integra la regola delle tre *R* ovvero **R**educe, **R**eplace e **R**ecycle.

Considerando quindi l'avvento di nuove tecniche nell'ambito della chimica analitica e ambientale, e tenendo conto del mio percorso formativo intrapreso presso l'Università degli Studi di Palermo, ho deciso di dedicare il mio progetto di dottorato di ricerca verso pratiche analitiche e di decontaminazione a basso impatto ambientale, focalizzando la mia attenzione sullo "Sviluppo e ottimizzazione di procedure a basso impatto ambientale per la purificazione di estratti ai fini analitici e per il trattamento di matrici contaminate".

1. Introduzione

1.1 La Green Chemistry, la Green Analytical Chemistry e le pratiche di decontaminazione

Da decenni l'interesse mondiale è focalizzato verso lo sviluppo di nuove pratiche ecosostenibili [1]. Tale interesse si è sviluppato in tutti i campi scientifici e in maniera ancora più marcata nel campo della chimica [2]. Così, nel 1991, Paul Anastas aprì la strada a pratiche ecocompatibili coniando il termine Green Chemistry [3]. L'idea della Green Chemistry (Chimica Verde) è quella di una chimica non inquinante, non nociva e quindi sostenibile [3]. Nel 2005 Tange ed alcuni colleghi formularono i 12 principi della Green Chemistry [4] coniando l'acronimo **PRODUCTIVELY** ovvero:

Prevent waste
Renewable materials
Omit derivatization steps
Degradable chemical products
Use safe synthetic methods
Catalytic reagents
Temperature, Pressure ambient
In Process Monitoring
Very few auxiliary substances
E-factor maximize feed in production
Low toxicity of chemical products
Yes it is safe

Come riportato da Anastas [5], le prime attività svolte dai chimici nell'ambito della Chimica Verde erano relative ai nei processi industriali. La Green Chemistry risultava e risulta dominante nell'ambito della chimica organica e specialmente nei processi di sintesi industriali.

Nel settore della chimica analitica, dal 2000 si va sempre più affermando una nuova branca scientifica basata sull'attuazione di processi ecosostenibili [6]. Tale branca va sotto il nome di **Green Analytical Chemistry (GAC)**, i cui concetti vennero per la prima volta esposti da De La Guardia e Ruzicka [7].

Nell'ambito della Green Analytical Chemistry i principi della Green Chemistry sono stati rielaborati da Gałuszka, Migaszewski e Namiesnik e nuove ideologie sono state inserite nell'acronimo **SIGNIFICANCE**[8].

Select direct analytical technique
Integrate analytical processes and operations
Generate as little waste as possible and treat it properly
Never waste energy
Implement automation and miniaturization of methods
Favor reagents obtained from renewable source
Increase safety for operator
Carry out in-situ measurements
Avoid derivatization
Note that the sample number and size should be minimal
Choose multi-analyte or multi-parameter method
Eliminate or replace toxic reagents

I 12 principi della *Green Analytical Chemistry* possono essere attuati considerando:

- l'eliminazione o la riduzione di sostanze chimiche nei processi analitici;
- la minimizzazione del consumo di energia;
- la minimizzazione della produzione di scarti;
- l'aumento della tutela dell'operatore.

In quest'ottica, il mio progetto di ricerca si è basato sullo *sviluppo e l'ottimizzazione di procedure per la purificazione di estratti ai fini analitici e per il trattamento di matrici contaminate*.

Nell'ambito dello sviluppo di procedure per il trattamento di matrici contaminate, ampio risalto è stato dato ai processi di rimozione degli inquinanti organici mediante tecniche di adsorbimento, di foto-ossidazione e foto-catalisi.

Nella prima fase ho approfondito i processi di assorbimento d'inquinanti organici su un materiale biopolimerico, l'alginato, e l'effetto dell'aggiunta di un'argilla sui processi di adsorbimento. Nella seconda fase, mi sono occupato della foto-ossidazione di un inquinante modello quale il nitrofenolo mediante reazione di foto Fenton utilizzando un'argilla ferro arricchita e supportandola su un materiale biopolimerico. Inoltre, gli studi effettuati hanno

consentito di applicare la reazione di foto-Fenton eterogenea per la disinfezione di acque da *Escherichia coli*.

Nell'ambito delle procedure per la purificazione di estratti a fini analitici, ho focalizzato la mia attenzione sullo sviluppo, l'ottimizzazione e la validazione di procedure analitiche per la determinazione d'inquinanti organo-clorurati in matrici ambientali. Nonostante i principi di sostenibilità siano fondamentali per il raggiungimento dei criteri della GAC [8], essi non sempre consentono di soddisfare i parametri di precisione, ripetibilità e accuratezza indispensabili per la validazione di una corretta metodica analitica in quanto, a volte, l'analita subisce processi di rimozione a seguito delle pratiche applicate. A tale proposito, sfruttando la foto-resistenza di alcuni analiti organici persistenti, ho deciso di applicare delle reazioni di foto-ossidazione per la purificazione totale o parziale da interferenti organici presenti in soluzioni ottenute da matrici ambientali. In particolare, ho focalizzato la mia attenzione sui contaminanti organo clorurati quali i cloro benzeni e i policlorobifenili a causa della loro ubiquitarietà, resistenza alla bio-degradazione ed elevata tossicità [9].

1.2 Inquinanti organici Persistenti

Con il termine inquinanti organici persistenti (*POPs, Persistent Organic Pollutants*), si intendono un gruppo di sostanze tossiche, persistenti e bioaccumulabili di origine naturale o antropica [10]. Non esistendo processi di degradazione naturale (fotolitica, chimica o biologica) che possano sostenere la velocità con cui sono immesse nell'ambiente, le loro concentrazioni nelle diverse matrici ambientali tendono ad aumentare [11].

Per le loro proprietà di persistenza e ubiquitarietà, i POPs costituiscono un serio problema ambientale [12]. In particolare, i POPs sono resistenti alla degradazione chimica e biologica, e a causa delle loro proprietà chimico fisiche, (tensione di vapore, punti di ebollizione, ecc) possono essere trasportati in ambienti naturali incontaminati [13]. L'ubiquitarietà di tali composti è legata a fenomeni di evaporazione, *stripping*, dissoluzione, precipitazione e adsorbimento, che, in dipendenza della natura del singolo composto [13], ne consentono la ripartizione nelle diverse fasi ambientali.

Le proprietà chimico-fisiche di queste sostanze, le rendono potenziali inquinanti delle acque ma anche dell'atmosfera e del suolo, indipendentemente dalle modalità secondo le quali sono emesse nell'ambiente esterno [14]. Il rischio relativo alla loro presenza nelle acque è legato alla possibilità di un'esposizione accidentale acuta ma soprattutto a un'esposizione cronica. La maggior parte dei POPs hanno una bassa solubilità in acqua per cui, generalmente, non vengono raggiunte concentrazioni tali da determinare un'azione immediata sulla salute dell'uomo, ma soltanto effetti differiti nel tempo e legati all'esposizione a basse concentrazioni per lunghi periodi [14]. Inoltre, essendo sostanze difficilmente metabolizzabili, esse possono determinare fenomeni di bioaccumulo negli esseri viventi, riuscendo quindi anche a concentrarsi da un anello all'altro della catena alimentare (biomagnificazione) [15]. Questa proprietà rende i microinquinanti organici particolarmente insidiosi, in quanto risulta difficile definire per ognuno di essi una soglia di concentrazione al di sotto della quale si possano escludere rischi per la salvaguardia dell'ambiente e il benessere delle specie viventi. L'attenzione verso questi composti è cresciuta negli ultimi anni in seguito alle scoperte in campo medico, in particolare alle proprietà cancerogene che molti di essi hanno mostrato [16]. Ciò ha contribuito in maniera caratteristica ad aumentare la consapevolezza dell'entità del problema, promuovendo sia l'intensificazione dei monitoraggi di tali inquinanti sia le strategie di decontaminazione.

Una sottoclasse di POPs è rappresentata dai composti organici clorurati, ovvero da tutti quei composti che alle classiche molecole organiche accoppiano la presenza di atomi di cloro [10].

Nell'ambito dei composti organici clorurati, particolare attenzione in questi ultimi anni è stata data ai policlorobifenili (PCBs) e ai clorobenzeni (CBs), in quanto, sebbene il loro utilizzo sia stato regolato dalla Comunità Europea, a causa della loro persistenza ambientale sono ancora oggetto di monitoraggio nelle principali matrici ambientali [17,19]. Nello specifico, la caratterizzazione chimica delle matrici oggetto di studio in ambito ambientale prevede, di norma, le analisi degli inquinanti appartenente alla categoria dei POPs [20, 21]. Tuttavia, sebbene le pratiche di caratterizzazione chimica delle matrici siano di fondamentale importanza ai fini dell'attribuzione della loro destinazione d'uso, l'utilizzo di solventi organici aggiuntivi e fasi stazionarie, derivanti da procedure analitiche, rappresenta un'ulteriore fonte d'inquinamento, specialmente per matrici con basse concentrazioni o assenza di contaminanti.

Al fine di ovviare a questo grande paradosso, è indispensabile sviluppare e ottimizzare metodiche analitiche che consentano di condurre le necessarie caratterizzazioni chimiche, evitando l'immissione nell'ambiente di sostanze d'indubbio rischio tossicologico.

1.2.1 Policlorobifenili (PCB)

Vengono definiti Policlorobifenili (PCBs) una classe d'idrocarburi non presenti in natura, ma prodotti industrialmente dalla clorazione diretta del bifenile, aventi formula chimica $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, con n compreso tra 1 e 10. Generalmente, i PCBs, sono stati commercializzati in miscele a diverso grado di clorazione e sono stati utilizzati nelle più svariate applicazioni industriali come isolanti termici, isolanti elettrici e fluidi dielettrici.

La struttura generale dei PCB, la suddivisione per classi isomeriche (congeneri con eguale numero di atomi di cloro in molecola) e le proprietà delle più comuni miscele di PCB adoperate, sono riportate in Figura 1 e nelle Tabelle 1,2 e 3.

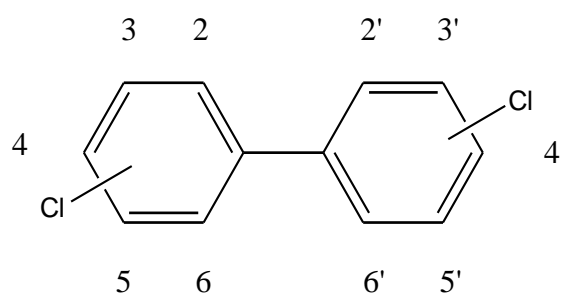


Figura 1. Formula di struttura generale dei PCBs

Tabella1. Classi isomeriche dei PCB e percentuale di clorazione

Classe isomerica	Formula	Peso molecolare	% Cloro
mono-CB	$C_{12}H_9Cl$	188	18
di-CB	$C_{12}H_8Cl_2$	222	31
tri-CB	$C_{12}H_7Cl_3$	256	41
tetra-CB-	$C_{12}H_6Cl_4$	290	48
penta-CB	$C_{12}H_5Cl_5$	324	54
esa-CB	$C_{12}H_4Cl_6$	358	58
epta-CB	$C_{12}H_3Cl_7$	392	62
otta-CB	$C_{12}H_2Cl_8$	426	65
nona-CB	$C_{12}HCl_9$	460	68
deca-CB	$C_{12}Cl_{10}$	490	79

Tabella 2. Elenco dei congeneri dei PCB

Omologhi	Congeneri	IUPAC
Monoclorobifenile	3	1-3
Diclorobifenile	12	4-15
Triclorobifenile	24	16-39
Tetraclorobifenile	42	40-81
Pentaclorobifenile	46	82-127
Esaclorobifenile	42	129-169
Eptaclorobifenile	24	170-193
Octaclorobifenile	12	194-205
Nonaclorobifenile	3	206-208
Decaclorobifenile	1	209

All'interno di ciascuna classe i singoli PCBs, definiti congeneri, differiscono tra loro esclusivamente per la diversa posizione nella molecola degli atomi di cloro. Il termine PCB quindi si riferisce a una miscela di più congeneri, anche se spesso viene considerato come una singola entità chimica [22]. Inoltre, molti autori utilizzano il termine PCB riferendosi specificatamente alle miscele commerciali (es. Aroclors Tabella 3) piuttosto che all'intera classe [23].

I PCBs, con diverse denominazioni, sono stati prodotti da vari paesi industrializzati: Aroclor (USA), Fenclor (Italia), Clophen (Germania), Phenoclor (Francia), ecc. Le sigle generiche fanno riferimento soprattutto alla percentuale in cloro dei prodotti commerciali e consentono di differenziare tra loro i vari prodotti di una stessa serie (esempio Aroclor 1260, contenuto percentuale di cloro 60%; il 12 si riferisce al numero di atomi di carbonio nella molecola del bifenile).

Tabella 3. Caratteristiche chimico fisiche di alcune miscele Aroclor

Caratteristiche	Aroclor 1242	Aroclor 1254	Aroclor 1260
Stato fisico	Olio	Liquido viscoso	Resina molle
Densità _{20°C} (g/mL)	1,38-1,39	----	---
T infiammabilità (°C)	176-180	nessuna	nessuna

Esposizioni croniche a PCB possono determinare effetti teratogeni e mutageni in alcune specie animali, mentre composti altamente clorati, inducono tumori in ratti e gatti anche se, in quest'ultimo caso, la relazione con i PCB non è sempre chiara [22].

Allo stato attuale non vi è evidenza epidemiologica di effetti oncogeni sull'uomo. Gli effetti tossici dipendono non solo dal grado di clorazione, ma anche dal tipo d'isomeri; i PCB meta e para-sostituiti sono maggiormente attivi rispetto agli orto-sostituiti, in quanto la loro struttura è simile a quella della diossina ovvero la molecola più tossica fino ad oggi conosciuta. Tali isomeri sono difatti identificati come "dioxin-like".

La natura complessa delle miscele di PCB complica la valutazione del rischio sull'uomo. A tale scopo è stato introdotto da Safe [24] il concetto di TEF (Fattore di Tossicità Equivalente) che esprime il grado di tossicità di ciascun congenere assumendo, come valore di riferimento, la tossicità della 2,3,7,8-Tetraclorodibenzodiossina (TCDD). I valori dei TEF, applicabili all'esposizione di PCB su mammiferi, sono stati calcolati basandosi soprattutto su studi di tossicità subcronica effettuati su animali, che danno risultati più attendibili rispetto a studi biochimici e in vitro. Tali valori indicano che la tossicità dei singoli congeneri non è direttamente correlata al loro grado di clorazione, ma dipende da altri fattori, tra cui il fatto di essere simili alla 2,3,7,8-Tetraclorodibenzodiossina (TCDD). Per questo i PCB 126 e 169 sono i più tossici tra tutti i 209 PCB congeneri.

Il valore di TEF può essere utilizzato per la valutazione del rischio di tossicità da PCB sull'uomo in quanto, il meccanismo attraverso il quale PCB e TCDD determinano effetti tossici è uguale. Essendo entrambi idrocarburi aromatici alogenati hanno la capacità di legarsi a un recettore per gli idrocarburi arilici, una proteina citoplasmatica presente nei tessuti e negli organi bersaglio. Considerando che non possono essere determinati tutti gli isomeri esistenti, il valore di TEF va dunque tenuto in considerazione nella scelta dei singoli congeneri da analizzare.

I PCB possono disperdersi nell'ambiente per diverse cause, quali: spillamento, tracimazione, evaporazione e trasudazione dalle apparecchiature che li contengono; sversamento accidentale o volontario nelle varie fasi di manipolazione e trasporto. Il rischio di contaminazione ambientale è fortemente acuito dalla loro persistenza e dai fenomeni di trasporto che subiscono nelle diverse fasi ambientali (aria, acqua, suolo), che li rendono inquinanti ubiquitari.

La maggior fonte di contaminazione umana è l'assunzione attraverso gli alimenti, anche se, in alcuni casi, non sono da sottovalutare l'inalazione e l'esposizione cutanea [25]. In particolare,

a causa delle caratteristiche chimico-fisiche, quali la scarsa degradabilità e l'elevata lipofilità, i PCBs hanno una spiccata capacità di bioaccumulo, avente come conseguenza il loro ingresso nella catena alimentare. Infatti, possono essere presenti in alimenti con un'elevata componente lipidica, soprattutto se di origine animale: carni di mammiferi, pesci, uccelli, latte, uova e loro derivati.

Le caratteristiche chimiche sopraesposte rendono di solito i PCB inerti a trattamenti ossidativi e biologici; infatti, per quanto concerne i trattamenti termici, solo il trattamento termico ad elevate temperature è in grado di distruggere questi composti [26].

A causa delle proprietà sopra citate i PCBs, in ottemperanza ai decreti europei, devono essere determinati preventivamente nelle varie matrici interessate alle comuni opere di utilità pubblica.

1.2.2 I Clorobenzeni

I clorobenzeni (CBs) sono composti organici aromatici derivanti dal benzene, nei quali uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti da atomi di cloro. In Figura 2 è riportata la molecola del clorobenzene, una dei clorobenzeni più studiati.

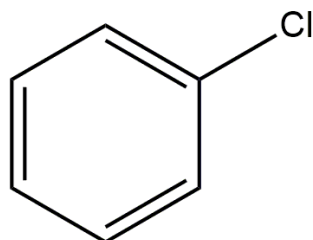


Figura 2. Formula di struttura del clorobenzene

Dalla sostituzione degli atomi di idrogeno nell'anello del benzene con atomi di cloro, è possibile ottenere 12 differenti composti raggruppati in 6 classi isomeriche (Tabella 4).

Tabella 4. congeneri dei diversi clorobenzeni

Omologhi	Congeneri
Clorobenzene	1
Diclorobenzene	3
Triclorobenzene	3
Tetraclorobenzene	3
Pentaclorobenzene	1
Esaclorobenzene	1

I cloro benzeni sono utilizzati come intermedi nel ciclo di produzione di pesticidi clorurati e come solventi per antiparassitari [27].

Tali composti sono apolari e quindi caratterizzati da una scarsa solubilità in acqua [28]. Il sostituito $-Cl$ funge da blando disattivante dell'anello aromatico e ciò causa il fatto che un clorobenzene risulta meno reattivo del benzene.

Generalmente, la presenza nell'ambiente dei clorobenzeni deriva dagli scarichi domestici (prodotti per la pulizia, ecc.) da prodotti utilizzati in agricoltura (pesticidi, insetticidi, ecc.) da combustioni incomplete, emissioni industriali di solventi clorurati e dalle emissioni veicolari [29].

Questi composti mostrano proprietà chimico-fisiche variabili fra di loro, conseguentemente lo è anche il loro comportamento nelle matrici ambientali. I composti a basso grado di clorazione, (mono-clorobenzeni e di-clorobenzeni), sono caratterizzati da un'elevata volatilità (sono cioè dei VOCs) e buona solubilità in acqua [30]. Molti clorobenzeni a basso grado di clorazione presenti nel suolo superficiale tendono a passare in atmosfera; in terreni sabbiosi e privi di sostanza organica, tuttavia, data la loro mobilità e scarsa biodegradabilità, possono raggiungere le falde profonde rendendole inutilizzabili [30]. In suoli con elevato contenuto di sostanza organica possono essere trattiene in forma stabile e quindi tendono a concentrarsi [31]. I composti a elevato grado di clorazione, come il Pentaclorobenzene e l'esaclorobenzene (HCB), sono più idrofobi, tendono a rimanere legati al carbonio organico e sono caratterizzati da un'elevata persistenza nelle matrici ambientali [32]. Sebbene soggetto a una lenta fotodegradazione in atmosfera e a una degradazione batterica, l'HCB è particolarmente persistente e mobile nell'ambiente [33].

L'interesse ambientale è causato dal fatto che i clorobenzeni sono composti tossici, irritanti per l'uomo e fortemente sospettati di cancerogenicità a livello di fegato, reni, e polmoni, accertata comunque solo nel caso del clorobenzene, del 1,2-diclorobenzene, del 1,4-diclorobenzene e dell'esaclorobenzene [34].

1.2.3 Il Nitrofenolo

I composti fenolici, per la loro diffusione, sono inquinanti di rilevante interesse ambientale, e risultano provenire da diverse attività industriali. Sono stati rinvenuti negli scarichi delle industrie della plastica, dei coloranti e delle cartiere, inoltre i fenoli possono derivare dalla biodegradazione di prodotti naturali quali gli acidi umici e la lignina [35]. I cloro ed i nitrofenoli sono i maggiori prodotti di degradazione degli erbicidi appartenenti alla classe dei fenossiacidi clorurati e degli organofosforati [36].

I nitrofenoli (NP) sono composti aromatici derivanti dal benzene contenenti contemporaneamente i gruppi idrossilici (OH) e nitrici (NO₂). Dei più semplici mononitrofenoli esistono tre composti l'orto, il meta ed il para secondo le posizioni relative dei gruppi OH e NO₂ (Figura 3).

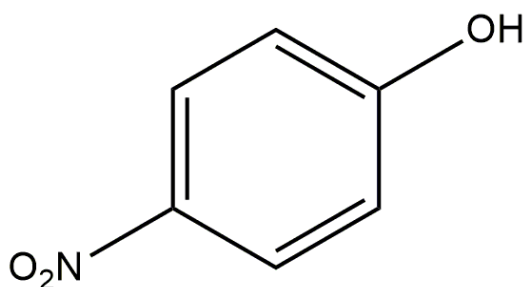


Figura 3. Formala di struttura del 4-nitrofenolo

Il 4-nitrofenolo (4-NP o PNP) a temperatura ambiente si presenta come un solido giallognolo dall'odore caratteristico (Figura 4).



Figura 4. Nitrofenolo solido

Il 4-NP è uno dei più comuni composti nitrofenolici utilizzato nell'industria farmaceutica, di esplosivi, dei coloranti e agrochimica [33].

A causa della sua elevata stabilità chimica, solubilità, persistenza e tossicità, il 4-NP è stato classificato, dall'United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA), come un'inquinante prioritario [37].

A causa del riscontro massiccio nelle acque reflue provenienti da processi agricoli e nelle acque di scarto di industrie per la produzione di pesticidi, erbicidi, farmaci e coloranti tessili, il problema riguardante la resistenza alla degradazione del nitrofenolo risulta considerevole [33].

Tale considerazione è inoltre validata dal fatto che la presenza del 4-nitrofenolo nelle matrici ambientali può causare irreparabili danni sia all'ecosistema che alla salute umana causando alterazioni al sistema nervoso, fegato, reni e sangue [38].

1.2.4 Gli esteri ftalici

Gli esteri dell'acido ftalico (PAEs) sono composti ottenuti principalmente dalla reazione tra l'acido ftalico e alcoli a catena lineare o ramificata. La struttura generale degli esteri dell'acido ftalico è riportata in Figura 5.

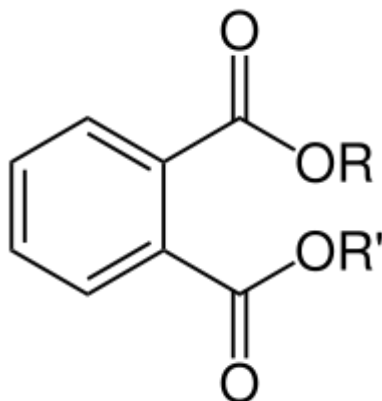


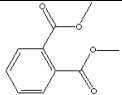
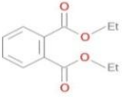
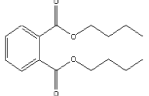
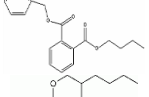
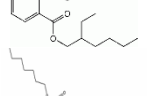
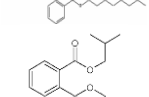
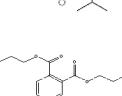
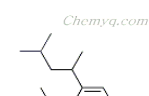
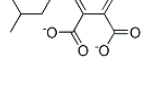
Figura 5. Formula di un generico estere dell'acido ftalico

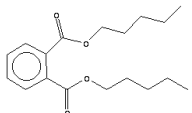
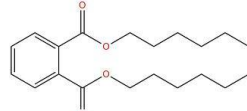
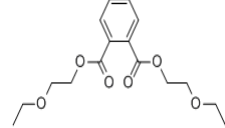
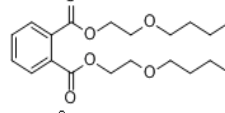
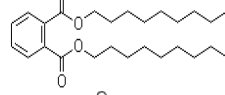
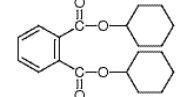
I PAEs costituiscono un gruppo di sostanze che a temperatura ambiente sono liquide, inodore ed inodore [39].

Ad eccezione del di-metil ftalato (DMP), gli altri componenti di questa classe di composti sono inclusi generalmente tra i composti organici semivolatili (SVOCs). Come tutti i composti semivolatili, nell'ambiente, gli esteri ftalici si ripartiscono tra la fase gassosa e quella particolata [39]. All'aumentare del peso molecolare diminuiscono le loro tensioni di vapore e pertanto aumenta la frazione di composto associata al materiale particolato.

Alcuni degli esteri ftalici maggiormente utilizzati, con le relative formule di struttura, pesi molecolari, punti di ebollizione, tensioni di vapore, solubilità e coefficienti di ripartizione sono riportati in Tabella 5.

Tabella 5. Pesì molecolari, punti di ebollizione, tensioni di vapore, solubilità e coefficienti di ripartizione degli esteri ftalici maggiormente utilizzati

Analita	Abbr.	Formula di struttura	CAS n°	PM	P _e (°C)	Pressione di vapore (kPa 20 °C)	Solubilità (mg/l 20°C)	Log K _{ow}	Struttura
Di-metil ftalato	DMP	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	131-11-3	194	284	8·10 ⁻⁴	4300	1,47-2,12	
	DEP	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	84-66-2	222	298	2,19·10 ⁻⁴	1000	2,47-2,51	
Di-etil ftalato									
Di-n-butil ftalato	DnBP	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	84-74-2	278	340	9,7·10 ⁻⁶	10	4,57	
Benzil-butil ftalato	BBzP	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	85-68-7	312	370	8·10 ⁻⁸	2,8	4,84	
Di-2-etilesil ftalato	DEHP	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	117-81-7	390	384	1,33·10 ⁻⁸	4,1·10 ⁻²	7,5	
Di-n-ottil ftalato	DnOP	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	117-84-0	390					
Di-iso-butil ftalato	DIBP	C ₆ H ₂₂ O ₄	84-69-5	278	320	1,·10 ⁻⁵	1	4,11	
Bis-2-metossi-etil ftalato	DMEP	C ₁₄ H ₁₈ O ₆	117-82-8	282	340	< 1,30·10 ⁻²	900	2,9	
Bis-4-metil-2-pentil ftalato	BMPP	C ₂₀ H ₃₀ O ₄		334		< 1,30·10 ⁻²			

Di-pentil ftalato	DPP	$C_{18}H_{26}O_4$		306						
Di-esil ftalato	DHXP	$C_{20}H_{30}O_4$	84-75-3	334						
Bis-2-etossi etil ftalato	DEEP	$C_{16}H_{22}O_6$		310		$7,23 \cdot 10^{-8}$				
Bis-2-butossi etil ftalato	DBEP	$C_{20}H_{30}O_6$		366						
Di-nonil ftalato	DNP	$C_{26}H_{42}O_4$	84-76-4	418	413	$1,33 \cdot 10^{-2}$	Insolubile	>2,12		
Di-cicloesil ftalato	DCHP	$C_{20}H_{26}O_4$	84-61-7	330	222-228	$13,3 \cdot 10^{-3}$	4	3-4		

Il DMP (PM = 194) è presente maggiormente nella fase gas, mentre il di-iso-nonil ftalato DiNP (PM = 418) è principalmente associato al particolato atmosferico.

Gli esteri ftalici sono aggiunti in molte matrici con scopi diversi [40].

Il loro maggiore impiego è come plastificante per diversi polimeri, in particolare, il DEHP spesso è presente anche nelle materie plastiche utilizzate per la fabbricazione di dispositivi medici, mentre nei cosmetici e in una vasta gamma di altri prodotti di largo consumo (maniglie, guanti, occhiali di sicurezza, tende doccia ecc.) prevalgono il DnBP ed il DEP[40].

I polimeri ai quali vengono comunemente aggiunti gli esteri ftalici sono:

- polivinil cloruro (PVC);
- nylon;
- polivinil acetato;
- polimeri uretanici;
- polimeri acrilici;
- polimeri cellulosici.

Tra questi polimeri il più conosciuto e utilizzato è il PVC. Puro, è un materiale rigido ma deve la sua versatilità applicativa alla possibilità di essere miscelato, anche in proporzioni elevate, agli esteri dell'acido ftalico, che lo rendono flessibile e modellabile.

Inoltre gli esteri ftalici sono utilizzati come denaturanti nelle matrici alcoliche e come softainers nelle pitture murali [41].

A causa di alcune delle loro proprietà chimico-fisiche, gli esteri ftalici sono composti parzialmente resistenti alla degradazione. La fotolisi in presenza di acqua avviene attraverso l'assorbimento della radiazione UV nella regione tra 290-400 nm [42]. Le radiazioni con minore lunghezza d'onda sono attenuate dal passaggio attraverso l'atmosfera e l'eventuale colonna di acqua. Lunghezze d'onda maggiori non hanno sufficiente energia per rompere i legami covalenti [43].

Nonostante siano disponibili pochi studi sulla fotolisi degli esteri ftalici, è stato dimostrato che essi possono subire degradazione mediante fotolisi diretta (assorbimento della radiazione UV) o indirettamente mediante reazione con specie attivate (ossigeno singoletto o radicali idrossilici) prodotte dall'interazione tra la radiazione UV e sostanze naturali presenti nell'acqua. Gli esteri ftalici presenti in un materiale, mediante volatilizzazione, sono principalmente rilasciati nell'aria, dove sono fotodegradati con tempi di semivita di circa 1 giorno, mentre la loro semivita mediante fotodegradazione in acqua è molto più lunga [44], con, in alcuni casi, tempi di semivita dell'ordine di anni [45-47].

1.2.5 Gli Escherichia coli

Gli *Escherichia coli* (*E. coli*) rappresentano un gruppo di batteri Gram-negativo ed è la specie più nota del genere *Escherichia* il cui nome deriva dal suo scopritore, il tedesco-austriaco Theodor Escherich. Gli *Escherichia coli* appartengono al gruppo degli enterobatteri e sono usati come organismi modello dei batteri.

L'*Escherichia coli* è una delle specie principali di batteri che vivono nella parte inferiore dell'intestino di animali a sangue caldo. Per tale motivo, la loro presenza nei corpi idrici segnala la presenza di condizioni di fecalizzazione (è il principale indicatore di contaminazione fecale, insieme agli enterococchi). Il genere *Escherichia*, insieme ad altri generi (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, ecc.) vengono raggruppati sotto il nome di coliformi. Tecnicamente il "gruppo dei coliformi" comprende batteri aerobi e anaerobi non sporigeni.

La specie *Escherichia coli* è un microrganismo a forma di bastoncello, gram-negativo, che cresce alla temperatura di 44,5 °C, lattosio-fermentante, indolo-positivo in terreni contenenti triptofano.

2 Stato dell'arte

2.1 Metodiche di rimozione di inquinanti organici

L'utilizzo di una particolare tipologia di trattamento va valutato in base alle condizioni logistiche, ovvero alla scelta di operare il trattamento di decontaminazione in-situ oppure ex-situ e in base al livello d'inquinamento.

Le metodiche di rimozioni degli inquinanti maggiormente utilizzate in ambito industriale sono di seguito elencate.

2.1.1 Processi biologici

I processi biologici, comunemente indicati anche come processi di *bioremediation*, sono fondati sulla capacità di certi microrganismi di degradare alcuni inquinanti organici, trasformandoli in composti a ridotta tossicità, fino a una completa mineralizzazione ad acqua, anidride carbonica e cloro [48].

In linea teorica, i processi di biodegradazione possono avvenire in ambiente aerobico ed anaerobico; in particolare, i processi aerobici possono essere favoriti iniettando aria o acqua ossigenata nelle acque da trattare al fine di aumentare la concentrazione di ossigeno disciolto, provocando un aumento dell'attività dei microrganismi in grado di degradare i contaminanti [49]. In ogni caso, le condizioni redox del mezzo e il potenziale di ossidazione dei composti da degradare esercitano un ruolo determinante. Nel caso di molecole ad elevato potenziale di ossidazione, la degradazione aerobica è spesso inefficace [50].

In tali condizioni, la degradazione può avvenire solo per via cometabolica. In particolare, alcune classi di batteri, come ad esempio i metanotrofi, possono cometabolizzare alcuni inquinanti degradandoli per azione di particolari enzimi [51].

Altri meccanismi di degradazione possono avvenire mediante l'idrodealogenazione (o dealogenazione riduttiva), ovvero la sostituzione nucleofila degli atomi di cloro con atomi di idrogeno; in tale processo, a differenza delle condizioni aerobiche, la molecola d'inquinante si riduce costituendo l'elettron-accettore del sistema [52]. Tuttavia, al fine di indurre questo tipo di trasformazione in situ, è consigliato introdurre nell'acquifero un substrato donatore di elettroni (ad es. lattato, butirato, idrogeno) che fornisca ai microrganismi dechloranti gli elettroni e l'idrogeno necessari alla dechlorazione (riduzione) del composto clorurato [52].

Considerato quanto prima riportato, appare ovvio che la degradazione mediante processi biologici, è lunga, onerosa e non sempre di facile applicabilità.

2.1.2 Air stripping

L'air stripping (strippaggio con aria) è un processo di separazione fisica in cui l'inquinante è allontanato dalla matrice mediante iniezione di aria con lo scopo di rimuovere i contaminanti in essa presenti mediante volatilizzazione [53]. In alcuni casi, per facilitare il processo di strippaggio, si ricorre all'iniezione di aria o vapore caldi o al riscaldamento conduttivo o resistivo dell'acqua da trattare [54]. Tale trattamento è generalmente coadiuvato da un sistema di soil venting, ovvero tramite l'insufflazione di aria all'interno dei suoli limitrofi.

Con riferimento agli inquinanti organici idrofobici, il processo di strippaggio è favorito della loro ridotta solubilità in acqua e dall'elevato valore delle costanti di Henry [55].

La continua insufflazione di aria all'interno dell'acqua determina un aumento del contenuto di ossigeno disciolto; in questo modo, insieme alla volatilizzazione dell'inquinante si instaura anche un processo di degradazione aerobica, sebbene, tale contributo sia minimo [56].

L'applicazione di questa tecnologia, però, semplicemente sposta l'inquinante in un'altra fase, per cui è sempre necessario accoppiare un trattamento per il recupero dei gas di strippaggio, per esempio utilizzando un'unità a carbone attivo per la depurazione dell'effluente gassoso.

2.1.3 Adsorbimento

L'adsorbimento è un processo in cui un materiale solido è utilizzato per rimuovere un inquinante presente in una matrice liquida o gassosa [57]. Questo processo, si basa sull'interazione chimica (chemisorption) superficie-soluto che si instaura tra il materiale adsorbente e l'inquinante in soluzione [57].

Tipici materiali adsorbenti sono i carboni attivi granulari, le argille e i bioadsorbenti [57-59].

Tra metodi di purificazione l'adsorbimento su carboni attivi spesso si preferisce rispetto agli altri processi per i costi minori e per la maggiore duttilità di funzionamento in quanto, i carboni attivi, rimuovono con successo un gran numero di composti chimici, permettendo di operare un processo di purificazione generale del refluo. Quest'ultimo aspetto può rappresentare però un elemento limitante, ad esempio, un'elevata concentrazione di carbonio organico disciolto nelle acque può notevolmente abbassare le capacità depurative (rese di rimozione) dei carboni. Per questo motivo, tale tecnologia non risulta sempre adeguata nel trattamento di reflui con elevate concentrazioni di inquinanti, in quanto costringe all'utilizzo di notevoli quantità di solido per ottenere risultati ottimali.

Grazie al basso costo, alla facile reperibilità e alle buone capacità adsorbenti, le argille sono state utilizzate in tutto il mondo come materiali. Tuttavia, a causa di alcune delle loro

proprietà fisiche, ad esempio la bassa permeabilità, che se da un lato ha reso questi materiali ottimi adsorbenti dall'altro è un fattore limitante poiché rende difficile la separazione tra liquido e solido, il loro utilizzo non è sempre possibile.

Negli ultimi anni, come conseguenza delle pratiche green, i materiali adsorbenti provenienti da matrici biologiche, (BIOADSORBENTI) hanno generato l'aumento di interesse di una buona parte della comunità scientifica grazie al basso costo, alle ottime capacità adsorbenti, soprattutto nei confronti di specie ioniche, e alla facilità di separazione dalle matrici liquide [60].

Allo stadio odierno, i materiali bioadsorbenti maggiormente utilizzati sono l'alginato, polisaccaride formato da glucuronato e mannurato ed estratto dalla parete cellulare di alcune alghe [61], il chitosano, un polisaccaride lineare composto da D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina legati tramite legami $\beta(1-4)$ ed estratto dal guscio di alcuni crostacei [62] e la pectina, un etero polisaccaride estratto dalla frutta a partire dalla pectina [63].

All'interno dei materiali bioadsorbenti, negli ultimi anni, si è sviluppata la possibilità di ottenere materiali compositi costituiti da biopolimeri e argille [64]. Tali materiali riescono a coniugare elevate capacità adsorbenti nei confronti di inquinanti inorganici e organici assicurando nello stesso tempo bassi costi e facilità di rimozione.

Tuttavia, lo svantaggio dei processi di adsorbimento, se non affiancate da altre tecniche di rimozione, è relativo al trasferimento di un inquinante da una fase all'altra.

2.1.4 Processi elettrochimici

Nella purificazione mediante processi elettrochimici si ricorre a reazioni elettrochimiche indotte dall'applicazione di un campo elettrico nel sistema da decontaminare [65].

I reagenti che si ottengono dipendono dal potenziale applicato, dalle condizioni della soluzione e dalla natura degli elettrodi. Nell'ambito dei processi elettrochimici, una delle metodiche maggiormente applicate per la purificazione di matrici contaminate sono i processi elettro-Fenton, i quali si differenziano per la forma in cui il ferro entra nel sistema [66]. Nei processi Fenton catodici il ferro è aggiunto come sale (quindi nella forma di Fe^{II} o Fe^{III}), mentre nei processi Fenton anodici la fonte di ferro è l'anodo sacrificale in ferro (o ferro misto a titanio).

Il processo avviene su due celle separate fisicamente ma connesse elettricamente con un ponte salino, e come catodo si usa un elettrodo in grafite.

2.1.5 Processi riduttivi

I processi riduttivi sono basati sull'impiego di barriere reattive permeabili (PRB) per la riduzione di sostanze inquinanti e la loro trasformazione in prodotti finali meno o non pericolosi [67].

Le barriere sono costituite da un reagente a base di ferro elementare e sono installate nella falda a valle del sito contaminato, perpendicolarmente al flusso naturale d'acqua. Ciò evita il fastidio del pompaggio attivo dell'acqua contaminata a valle della zona contaminata. Le sostanze tossiche, attraversando la PRB, reagiscono con il materiale di cui è composta dando luogo a specie non tossiche o bloccandosi in tal modo che il flusso che oltrepassa la barriera è privo di contaminanti.

L'efficacia di una barriera può durare da 5 a 10 anni dalla sua messa in opera, senza bisogno di interventi di manutenzione e spese di gestione [68].

Le barriere sono indicate per il trattamento di contaminanti solubili dell'acquifero.

L'azione della barriera si basa su differenti meccanismi che contribuiscono alla separazione dell'inquinante dalla fase liquida, di cui i principali sono [68]:

- **degradazione:** è il meccanismo più interessante perché modifica la costituzione del contaminante rendendolo meno tossico e più biodegradabile. Non sono richieste né la sostituzione né la pulizia della barriera;
- **adsorbimento:** consente di trattenere il contaminante sulla superficie dei costituenti della barriera. Ciò comporta la necessità di una successiva purificazione della barriera;
- **precipitazione:** la reazione chimica che avviene all'interno della barriera fa sì che il contaminante si separi in forma solida. L'estrazione del precipitato può rendersi necessaria per la sua eventuale pericolosità o per ripristinare i complessi reattivi della barriera.

Una fase importante nella progettazione risiede nella valutazione della zona di captazione e la determinazione delle velocità puntuali di attraversamento della barriera. Dalla conoscenza della velocità di attraversamento e dello spessore della barriera è possibile risalire al tempo di permanenza, che deve essere sufficientemente elevato da garantire la completa degradazione di tutti i contaminanti.

Trattandosi di una tecnologia in-situ, essa presenta tutti i vantaggi di un'azione depurativa sul luogo, senza quindi la necessità di movimentare artificialmente le acque. Inoltre, ulteriori vantaggi sono rappresentati dall'assenza di emissioni gassose e di contatto dell'inquinante con l'ambiente naturale, dai ridotti costi di manutenzione e dalla possibilità di un uso indisturbato della superficie del sito.

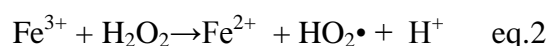
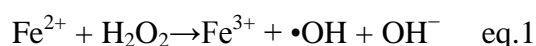
I limiti applicativi di questa tecnologia sono rappresentati in primo luogo da una bassa cinetica di dissoluzione di molte sostanze organiche idrofobe, tra cui quelle in esame; inoltre, in alcuni casi, il trattamento può richiedere una sostituzione del materiale impiegato o può dar luogo ad un residuo solido da rimuovere.

2.1.6 Processi Ossidativi

I processi ossidativi utilizzati nei processi di *remediation*, sono processi di trasformazione in cui una sostanza viene trasformata in una a minore tossicità utilizzando opportuni reagenti o trattamenti. Tali trattamenti sono spesso indicati come processi di ossidazione avanzata (AOP, *Advanced Oxidation Processes*) e vengono suggeriti come trattamenti alternativi per i composti organici non trattabili biologicamente [69]. Generalmente, per il trattamento di reflui inquinati è necessario impiegare agenti fortemente ossidanti. Tra questi è possibile utilizzare processi che utilizzano reagenti chimici, tra cui il più comunemente noto permanganato di potassio KMnO_4 , che è un'ossidante non selettivo [70]. A tale proposito, e al fine di minimizzare i rischi connessi all'eventuale perdita di reagenti ossidanti, sono stati sviluppati, e tutt'ora sono in fase di studio, processi fotocatalitici mediante utilizzo di acqua ossigenata H_2O_2 e raggi UV per la generazione di radicali ossidrilici $\cdot\text{OH}$, o processi mediante insufflazione di ozono.

Nell'ambito dell'utilizzo di H_2O_2 , il processo di Fenton, ovvero un processo che prevede l'utilizzo di ioni ferro e di acqua ossigenata con lo scopo di formare radicali ossidrilici, è una delle tecniche tra le più promettenti [71].

Le reazioni responsabili della generazione di radicali ossidrilici e ossi-ossidrilici durante il processo Fenton sono riportate nelle equazioni 1 e 2.



Se, nelle reazioni entra in gioco la luce come catalizzatore per la produzione di specie radicaliche attive dell'ossigeno (*ROS*), le reazioni di cui sopra prenderanno il nome di reazioni di foto-Fenton.

Una possibile limitazione all'uso di questa tipologia di processi è rappresentata dall'elevata presenza di solidi sospesi che può causare un'interferenza nell'assorbimento di raggi UV, dalla presenza di sostanza organica naturale che può agire da "catturatore" (scavenger) di radicali o dal valore di pH della matrice da trattare.

Tuttavia, negli ultimi anni, una buona parte della comunità scientifica, convinta dell'enorme capacità intrinseca del meccanismo di Fenton come trattamento efficace per la decontaminazione di matrici inquinate, ha focalizzato il suo interesse sullo sviluppo di fotocatalizzatori in fase eterogenea attivi anche nelle condizioni più difficili [72].

In merito alle tecniche sopra elencate, è di fondamentale importanza fare alcune considerazioni sull'efficacia e applicabilità delle procedure fino a qui discusse (Tabella 6).

2.2 Processi di decontaminazione: vantaggi e svantaggi

In Tabella 6 sono riassunti i vantaggi e gli svantaggi delle maggiori tecniche adoperate in ambito di risanamento ambientale.

Tabella 6. Vantaggi e svantaggi delle maggiori tecniche adoperate in ambito di risanamento ambientale

Tecnica	Vantaggi	Svantaggi
Air stripping	Basso costo	Trasferimento degli inquinanti da una fase ad un'altra
Adsorbimento	Basso costo Elevata velocità di decontaminazione in dipendenza di alcuni parametri chimico-fisici	Trasferimento degli inquinanti da una fase ad un'altra
Processi ossidativi	Basso costo	Possibile interferenza da parte dei solidi
Processi riduttivi	Basso costo	Lunghi tempi di decontaminazione
Elettrochimici	Mediamente costosi	Applicabili su bassa scala, problemi di sovratenzioni
Biologici	Basso costo	Elevati tempi di decontaminazione

Sebbene alcune tecniche siano economicamente vantaggiose, non sempre effettuano una vera e propria degradazione dell'inquinante. Nel dettaglio, tecniche come l'adsorbimento o l'air stripping, semplicemente trasferiscono l'inquinante da una fase all'altra (liquido/solido o liquido/gas). D'altro canto, alcune tecniche, seppur siano economiche e con buone capacità di decontaminazione, sono applicabili solamente a un ristretto numero di sostanze.

A tale proposito, l'accoppiamento di più tecniche, rappresenta un valido strumento per superare le limitazioni delle diverse metodiche considerate singolarmente.

2.3 Metodiche di inattivazione batterica nella drinking water

Considerando l'incremento della richiesta di acqua da parte dei paesi in via di sviluppo, e considerando i problemi connessi alla salute umana da parte dei microrganismi dannosi presenti nella acqua bere (*drinking water*), lo sviluppo di nuovi metodi per la disinfezione dell'acqua, rappresenta un traguardo di indubbio valore scientifico e sociale.

Nell'ultimo ventennio, tecniche di disinfezione dell'acqua come la clorazione, l'ozonizzazione e la micro filtrazione, sono state impiegate nei processi di sanificazione delle acque destinate al consumo umano [73]. Tali tecniche, sebbene rappresentino una valida alternativa per la rimozione della componente batterica in acqua, sfortunatamente sono spesso onerose, difficili da applicare e possono produrre sostanze dannose per l'uomo stesso (trialometani) [74]. Per tale motivo, nell'ultimo decennio una buona parte della comunità scientifica ha focalizzato i propri sforzi verso lo sviluppo di nuove tecniche d'inattivazione batterica facili da applicare, a basso costo e non dannose. A tale proposito, tecniche come i processi di ossidazione avanzata (AOPs) sono state impiegate, e sono tutt'oggi oggetto di studio, per l'inattivazione batterica nella drinking water [75, 76].

Tuttavia, le tecniche AOPs applicate alle matrici reali, mostrano alcune limitazioni riguardanti i valori di pH delle acque naturali (spesso maggiori di 5) e la difficoltà nel separare alcuni dei materiali impiegati, quali i nano materiali (TiO_2), nelle procedure di risanamento delle acque. Per tale motivo, è utile ed interessante studiare sistemi foto catalitici attivi anche a valori di pH vicini la neutralità e che possono essere rimossi con particolare facilità.

2.4 Metodiche analitiche classiche nella determinazione degli inquinanti organici persistenti

A causa della loro tossicità, è evidente che la determinazione e la quantificazione dei POPs nelle diverse matrici ambientali, rappresentano delle pratiche di prioritaria importanza. A tale proposito, negli anni, organizzazioni governative e non, hanno sviluppato e ottimizzato procedure analitiche al fine di standardizzare protocolli per il monitoraggio dei diversi inquinanti.

In merito all'analisi degli inquinanti organici idrofobici (HOCs), le classiche prevedono, prima delle fasi analitiche vere e proprie almeno un processo di estrazione e di purificazione che verranno in seguito discussi.

Tali procedure, anche se articolate e artificiose, sono di fondamentale importanza per una corretta analisi poiché sono fondamentali al fine di eliminare o limitare sostanze interferenti co-estratte.

La scelta della più "corretta" procedura di purificazione è svolta dall'analista che deciderà di volta in volta se sottoporre l'estratto a una o più procedure.

La purificazione su colonna, sebbene sia il miglior metodo di purificazione, prevede l'attivazione della fase stazionaria e l'eluizione degli analiti. Queste operazioni, generalmente, sono dispendiose sia in termini economici, temporali e producono rifiuti dannosi per l'ambiente e mettono a rischio la tutela dell'operatore. Inoltre, ogni trattamento aggiuntivo fatto sul campione, rappresenta un'ulteriore causa d'errore sia in termini di interferenti che in perdita di analita.

A tale proposito, l'utilizzo di nuove tecniche di purificazioni basate sulla minimizzazione dell'utilizzo di solventi e di fasi stazionarie, rappresenta una nuova frontiera di indiscusso valore in termini economici, sanitari e ambientali, limitando inoltre l'esposizione dell'operatore a sostanze potenzialmente pericolose a breve o a lungo termine.

2.4.1 Tecniche per la purificazione di estratti ai fini analitici

Considerando che la maggiore parte dei metodi analitici strumentali per la determinazione di analiti d'interesse ambientale a livello di tracce o ultratracce "lavora" su soluzioni mentre la maggior parte delle matrici sono solide, è necessario uno stadio preliminare che consiste nel portare il campione o piuttosto l'analita.

L'insieme delle procedure richieste per avere l'analita o gli analiti in forma determinabile è definito *pretrattamento*. Esso è un punto essenziale del metodo analitico, importante quanto la determinazione quali-quantitativa.

Le procedure di purificazione sono atte a ridurre o eliminare possibili sostanze interferenti, al fine di ottimizzare il rapporto segnale rumore.

Le procedure di purificazione generalmente adoperate per le classiche metodiche di determinazioni in ambito ambientale, sono di seguito elencate.

2.4.2 Ripartizione con acetonitrile

Questa procedura è utilizzata per separare grassi ed oli dall'estratto organico.

Tale tecnica, molto articolata, a volte non consente una totale purificazione del campione, pertanto è indispensabile sottoporre l'estratto a un'ulteriore purificazione. Questa procedura prevede l'estrazione in un imbuto separatore con acetonitrile saturo di esano. L'estratto viene ritrasferito in una soluzione di esano e si passa alla fase successiva di analisi.

2.4.3 Rimozione dello zolfo elementare

È consigliabile usare questa purificazione anche se si sospetta un'interferenza molto lieve.

Per questa procedura, il campione da analizzare viene sottoposto a una cromatografia su agente desolforante. Nel dettaglio, si riempie una colonnina cromatografica (d.i. 7 mm) con 7 g di agente desolforante a base di allumina basica, si trasferisce quantitativamente l'estratto concentrato nella colonnina e si eluisce con 25 mL di esano. L'estratto organico eluito viene opportunamente concentrato ed analizzato.

2.4.4 Tecnica di purificazione Cromatografica

Tra le tecniche di purificazione, le procedure cromatografiche sono quelle più utilizzate.

Tali tecniche prevedono l'utilizzo di fasi stazionarie adsorbenti (silice, allumina, florisil, ecc) e fasi mobili, da soli o in miscela (esano, etere, diclorometano, ecc.) la cui scelta è dipendente dal tipo di analita da ricercare.

Le tecniche di cui sopra, di norma, sono utilizzate durante le procedure analitiche.

Tuttavia, sebbene tali pratiche siano standardizzate, i punti critici devono essere supervisionati da un operatore e quindi non è da sottovalutare la sua esposizione cronica a sostanze pericolose dal punto di vista tossicologico.

Per tali motivi, risulta fondamentale sviluppare e ottimizzare nuove procedure di purificazione da impiegare nelle analisi chimiche routinarie.

3 Scopo del lavoro

Alla luce di quanto detto, ho quindi deciso di focalizzare il mio dottorato di ricerca sullo *sviluppo e l'ottimizzazione di procedure per la purificazione di estratti ai fini analitici e per il trattamento di matrici contaminate*.

3.1 Piano di lavoro

Al fine di ottimizzare l'esposizione delle attività da me svolte, gli argomenti trattati in questa tesi di dottorato sono stati suddivisi in due tematiche, ognuna delle quali sviluppata attraverso gli studi illustrati in schema 1.

3.1.1 Tematica 1: purificazione di estratti ai fini analitici

Gli studi inerenti lo sviluppo e l'ottimizzazione di tecniche per la purificazione di estratti ai fini analitici sono stati suddivisi nelle seguenti linee:

- Linea 1: Trattamento fotochimico di estratti organici per la determinazione di policlorobifenili in campioni di sedimento.
- Linea 2: Trattamento fotochimico di estratti organici per la determinazione di clorobenzeni in campioni di sedimento.

Nell'ambito della tematica 1 gli studi relativi alle linee 1 e 2 hanno avuto come oggetto la foto-purificazione di estratti organici di campioni di sedimento marino per la determinazione di policlorobifenili (PCBs) e clorobenzeni (CBs).

3.1.2 Tematica 2: trattamento di matrici contaminate

Gli studi inerenti lo sviluppo e l'ottimizzazione di procedure per il trattamento di matrici contaminate sono stati suddivisi nelle seguenti linee:

- Linea 1. Adsorbimento di contaminanti organici idrofobici su sfere di alginato e sfere ibride di alginato montmorillonite (1.1).
- Linea 2. Degradazione di contaminanti organici mediante processi fotochimici (2.1) e fotocatalitici (2.2).
- Linea 3. Inattivazione di *Escherichia coli* nella *drinking water* mediante reazione di foto Fenton.

Nell'ambito della linea 1 della tematica 2, gli studi di adsorbimento di contaminanti organici idrofobici hanno coinvolto una particolare classe di HOCs, ovvero i PCBs, i quali, a causa

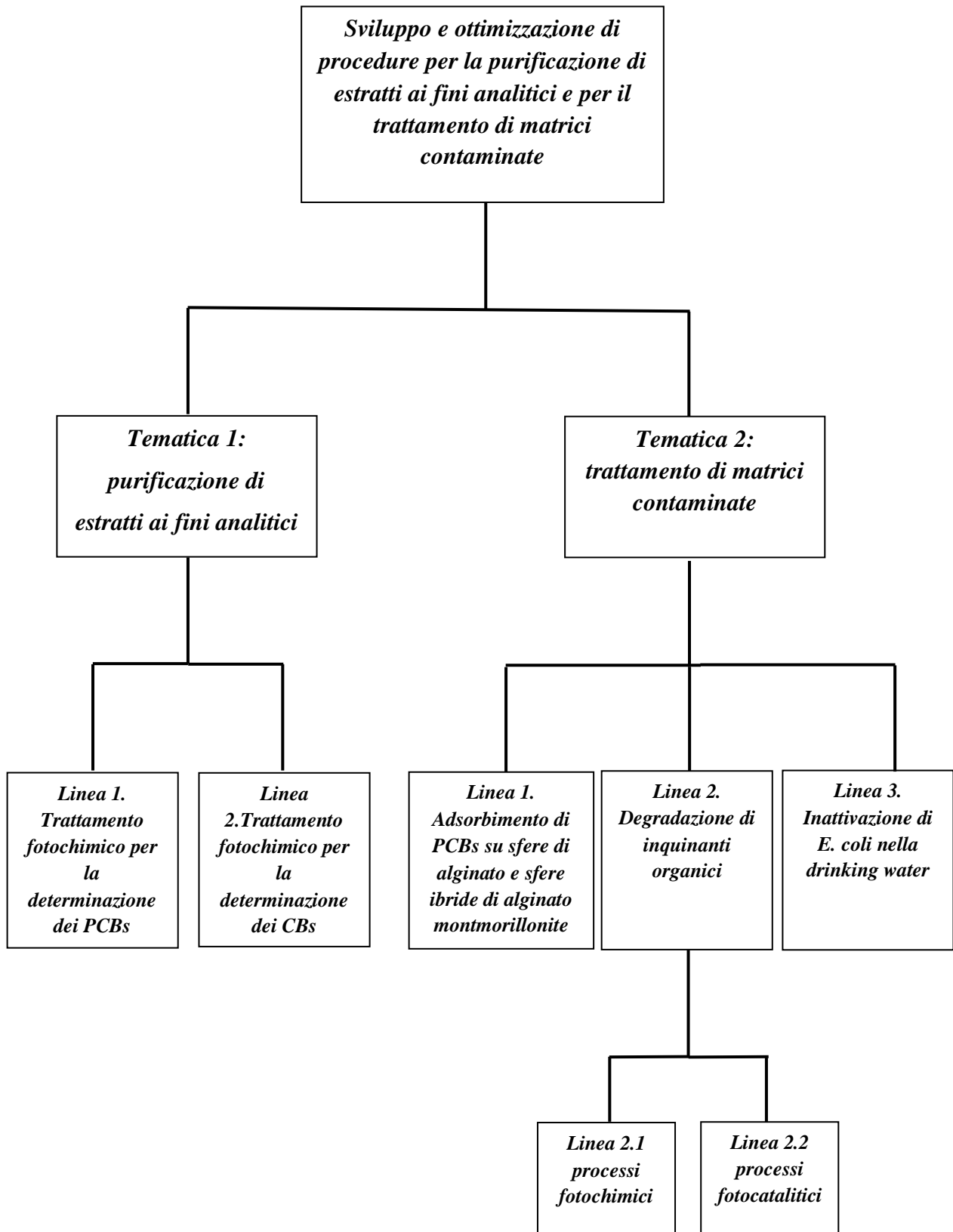
della loro elevata tossicità, ubiquitarietà e resistenza alla biodegradazione, sono tra gli inquinanti che devono essere rimossi dalle matrici contaminate.

Nell'ambito della linea 2 della tematica 2 gli studi di fotodegradazione sono stati condotti su inquinanti organici modello (Esteri Ftalici e Nitrofenolo) mediante irradiazione diretta e processi di ossidazione avanzata (AOPs).

In dettaglio, la fotodegradazione degli esteri ftalici è stata eseguita su pitture murali mediante irradiazione diretta a 254 nm, mentre la fotodegradazione del nitro-fenolo è stata eseguita in soluzione acquosa mediante processi di ossidazione avanzata utilizzando un'argilla ferro-arricchita supportata su alginato (biopolimero).

Nell'ambito della linea 3 della tematica 2 gli studi di inattivazione batterica mediante processo di foto Fenton sono stati condotti utilizzando sfere ibride di alginato montmorillonite ferro arricchite

Schema 1. Schema riassuntivo del piano di lavoro adottato



4 Parte sperimentale

4.1 Materiali e metodi

Tutti i solventi adoperati in questa tesi di dottorato sono stati acquistati presso la Supelco Sigma Aldrich ed arano di qualità (GC pure grade).

Le analisi riguardante i composti organici idrofobici sono state ottimizzate mediante l'ausilio di soluzioni di standard interni, standard surrogati e soluzioni di congeneri.

Per l'analisi dei PCBs sono state utilizzate le seguenti miscele.

Soluzioni di standard interno (marcate al ^{13}C) di PCBs (PCB 81, PCB 77, PCB 123, PCB 114, PCB 105, PCB 126, PCB 167, PCB 156, PCB157, PCB 169, PCB 189) alla concentrazione di 100 ppb preparate in esano da soluzione commerciale 1 ppm in nonano acquistata dalla Chemical Research.

Soluzioni di standard surrogato (marcate al ^{13}C) di PCBs (PCB 28, PCB 52, PCB 149, PCB 170, PCB 180) alla concentrazione di 100 ppb preparate in esano da soluzione commerciale 1 ppm in nonano acquistata dalla Chemical Research.

Soluzioni di congeneri di PCBs 100 ppb sono state preparate in esano da una soluzione commerciale 10 ppm in nonano acquistata dalla Chemical Research.

Per l'analisi degli esteri ftalici (PAEs) sono state utilizzate le seguenti miscele.

Le soluzioni di standard interno bis-2-etilestil ftalato d_4 (Bis(2-ethylehexyl)phthalate- d_4) e dietil ftalato d_4 (Diethyl phthalate d_4) 20 ppm sono state preparate in esano a partire da 10 mg di standard.

Le soluzioni di standard surrogato d-n-esil ftalato d_4 (Di-n-hexyl-phthalate- d_4) da 20 ppm sono state preparate in esano a partire da 10 mg di standard.

Le soluzioni di congeneri di PAEs 20 ppm sono state preparate in esano a partire da una soluzione commerciale 2000 ppm in esano acquistata dalla Sigma Aldrich (EPA phthalate esters mix).

Per l'analisi dei Clorobenzeni (CBs) sono state adoperate le seguenti miscele.

Soluzioni di standard interno di clorobenzene d_5 100 ppb preparate in esano da soluzione commerciale 2000 ppb in metanolo (Sigma Aldrich).

La soluzione di standard surrogato di clorobenzene- $1-^{13}\text{C}$ alla concentrazione di 100 ppb è stata preparata in esano da una soluzione commerciale 1000 ppb in metanolo.

Soluzioni di congeneri di clorobenzeni 1000 ppb sono state preparate in esano a partire da una soluzione commerciale 100 ppm in esano acquistata dalla Chemical Research.

In merito all'analisi del 4-nitrofenolo (4-NP), le soluzioni di nitrofenolo a diversa concentrazione sono state preparate partendo dal solido acquistato presso la Fluka (purezza 99%).

Il nitrato di ferro epta-idrato ($\text{Fe}_3\text{NO}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$) è stato acquistato presso la Fluka.

Sodio bisolfito, perossido di idrogeno (33%), cloruro di calcio, montmorillonite K-10 e il titanio ossisolfato sono stati acquistati alla Sigma Aldrich.

L'alginato di sodio è stato acquistato presso la Fisher Scientific ed è stato utilizzato tal quale.

Tutte le soluzioni acquose sono state preparate in acqua Milli-Q (18.2 M Ω cm a 25 °C).

Tutta la vetreria utilizzata per le analisi e le reazioni, prima di ogni esperimento, è stata lavata con una soluzione di HNO_3 al 10 %.

Gli *E. coli* strain K12 (MG1655) sono stati acquistati presso Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und 110 Zellkulturen (DSMZ, German Collection for Microorganisms and 111 Cell Cultures, Darmstadt, Germany).

Gli esperimenti fotocatalitici per il trattamento di matrici contaminate sono stati condotti utilizzando un simulatore solare Suntest CPS (Atlas GmbH) dotato di una lampada allo Xenon con range d'irradiazione compreso tra 290–600 nm e avente un'intensità d'irradiazione di 1800 W m⁻². L'intensità d'irradiazione è stata monitorata mediante un radiometro ACADUS S2004 UV equipaggiato di un controller LS-3300.

Le procedure di estrazioni da matrici solide (sedimenti) sono state eseguite utilizzando un'estrattore Soxhlet automatizzato Buchi Extraction Unit B-811 Standard.

Gli esperimenti fotochimici per la purificazione di estratti ai fini analitici sono stati condotti mediante un fotoreattore Ryonet dotato di lampade al Mercurio con range di irradiazione compreso tra 350–365 nm.

4.2 Strumentazioni e tecniche analitiche

Le analisi dei composti organici volatili (HOCs), quali i clorobenzeni, esteri ftalici e policlorobifenili sono state effettuate mediante un gas cromatografo accoppiato ad uno spettrometro di massa (GC-MS) Shimadzu qp 2010 plus.

La gas cromatografia (GC) è una tecnica cromatografica di grande importanza per la separazione e l'analisi di sostanze in tracce in quanto è in grado di analizzare e separare la quasi totalità dei campioni resi gassosi. La fase stazionaria adsorbe il campione mentre la fase gassosa lo trasporta lungo la colonna impaccata o capillare. La separazione dei componenti, di una miscela iniettata, procede attraverso una ripartizione tra la fase gassosa e la fase liquida adsorbita sul supporto solido inerte. Le differenti caratteristiche delle fasi stazionarie e le

molteplici interazioni che si instaurano fra queste ultime e gli analiti, costituenti le miscele, sono i responsabili della separazione.

La spettrometria di massa è una tecnica analitica basata sulla ionizzazione di una molecola e sulla sua successiva frammentazione in ioni aventi rapporto massa/carica (M/z).

Il principio su cui si basa è il seguente: una molecola è ionizzata per espulsione di un elettrone; il catione radicalico che si forma (ione molecolare) in parte si frammenta dando luogo alla frammentazione di molecole e/o radicali neutri (non rilevabili dallo strumento), in parte generando cationi e/o radicali cationi (ioni frammento), rilevabili dallo strumento. Lo ione molecolare e i vari ioni che si originano dalla frammentazione sono discriminati sulla base del loro rapporto massa/carica e rivelati da un detector. Lo spettro di massa che si ottiene, fornisce l'abbondanza relativa degli ioni in funzione del loro rapporto massa/carica.

Questa tecnica consente di misurare le masse molecolari e di ottenere dei profili di frammentazione che sono specifici per ciascun composto; ogni composto ha quindi una propria impronta digitale registrata in un database. In questo modo, si può individuare la formula di struttura di composti sconosciuti, e dal confronto con la banca dati, si possono ricavare informazioni qualitative inequivocabili sul composto.

La quantificazione del nitrofenolo è stata effettuata mediante un cromatografo liquido ad elevate pressioni (High pressure liquid chromatography) (HPLC) (HP Hewlett Packard 100 series) dotato di una colonna C-18 (Macherey-Nagel Nucleosil 100-5 C18) ed accoppiato a un detector UV-Vis. Una soluzione 1:1 (W:W) di acetronitrile e una soluzione acquosa di acido formico allo 0.5 % è stata utilizzata come fase mobile con un flusso totale di 0.5 mL min^{-1} . La rivelazione degli analiti è stata condotta tramite misure di assorbanza a 315 nm.

Il valore di pH delle soluzioni è stato monitorato mediante un pHmetro Toledo s 220.

Le concentrazioni di ferro presenti sulla superficie del foto-catalizzatore adoperato e in soluzione sono state monitorate mediante spettroscopia di assorbimento atomico (AAS) utilizzando uno spettrofotometro ad assorbimento atomico Perkin Elmer Lambda 20 e mediante spettrometria di massa al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) utilizzando uno spettrometro 7700 ICP-MS Agilent.

Tutti gli esperimenti sono stati ripetuti tre volte e i risultati sono stati riportati come media dei valori ottenuti.

In merito all'inattivazione batterica, le Unità Formanti Colonie (CFU) sono state monitorate su 1 mL di soluzione testate. I campioni sono stati diluiti da 10 a 10000 volte su PCA (Agar)

in capsule di Petri e incubate per 24 ore a 37 ° C. Le CFU sono state contate manualmente dopo incubazione per 24 ore.

5.0 Risultati e discussione Tematica 1: purificazione di estratti ai fini analitici

Gli studi inerenti lo sviluppo e l'ottimizzazione delle tecniche per la purificazione di estratti ai fini analitici sono suddivisi nelle seguenti linee:

- Linea 1: Trattamento fotochimico di estratti organici per la determinazione di policlorobifenili nei sedimenti.
- Linea 2: Trattamento fotochimico di estratti organici per la determinazione di clorobenzeni nei sedimenti.

5.1 Purificazione fotochimica di estratti di sedimento per la determinazione di PCBs: sviluppo del metodo analitico

Lo sviluppo di procedure per la purificazione di estratti ai fini analitici, nelle fasi iniziali ha coinvolto l'ottimizzazione delle procedure di estrazione dei PCBs in un campione di sedimento.

Dopo un'accurata analisi di letteratura [77], dalla quale è emerso che tra le procedure di estrazione mediante ultrasuoni ed apparecchio di Soxhlet quest'ultimo fosse più adatto, ho deciso di ottimizzare la procedura di estrazione mediante Soxhlet automatizzato.

La valutazione della migliore procedura è stata fatta in termini di scelta della migliore miscela estraente e del numero di cicli estrattivi mediante apparecchio di Soxhlet. A tale scopo, diverse prove di estrazione sono state condotte su una matrice reale rinforzata mediante Soxhlet automatizzato (Figura 6).



Figura 6. Soxhlet automatizzato della Buchi.

I sedimenti per effettuare le prove di estrazione sono stati prelevati nel 2011 nei pressi del porto della Cala a Palermo.

Dai grafici riportati nelle Figura 7 è possibile notare che la migliore procedura di estrazione coinvolge l'utilizzo di una miscela di diclorometano esano 1:1 per un totale di 30 cicli estrattivi in modalità Soxhlet warm.

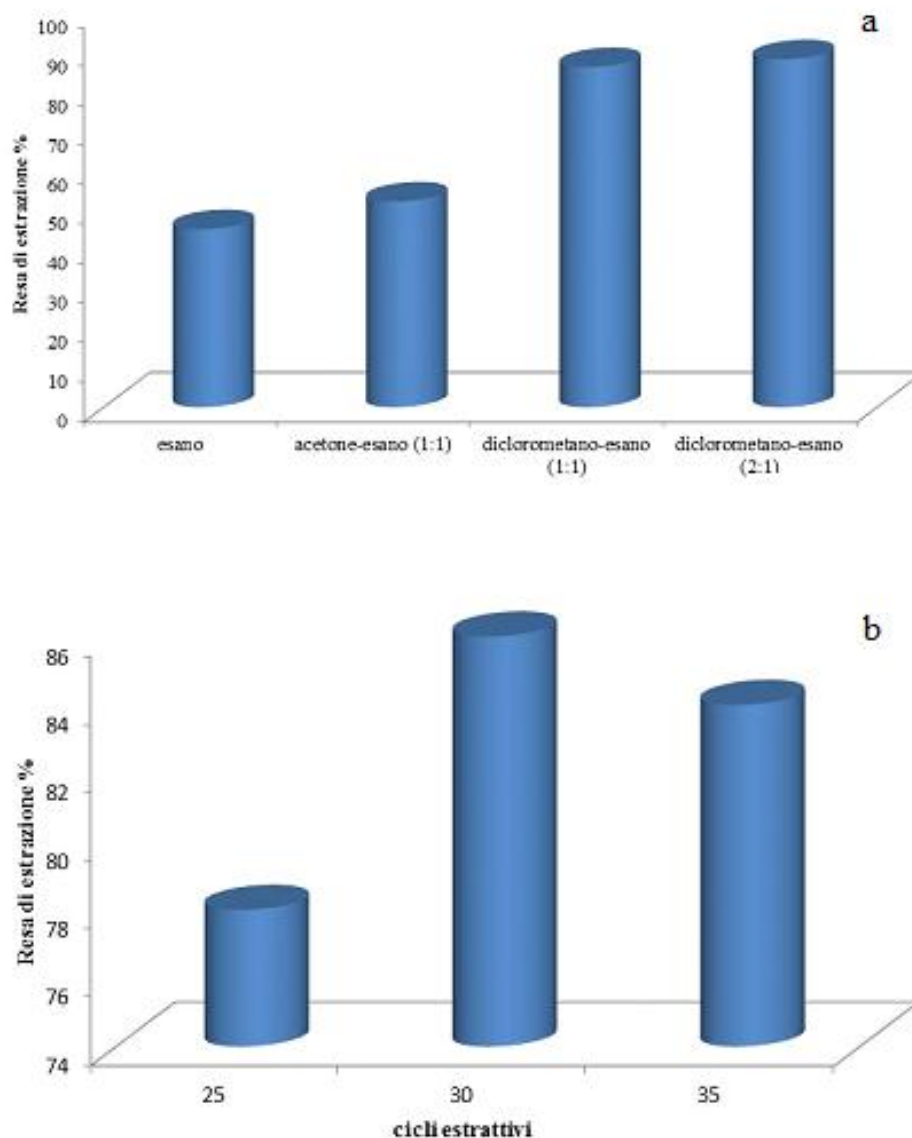


Figura 7. Recupero percentuale medi dei PCBs al variare della miscela estraente (a), e del numero di cicli estrattivi (b) utilizzando una miscela di Diclorometano Esano (1:1 W/W)

Ottimizzata la procedura di estrazione, si è proceduto con lo sviluppo della tecnica fotochimica di purificazione.

5.1.1 Sviluppo del metodo di fotopurificazione

Preventivamente ho valutato la stabilità fotochimica dei policlorobifenili se sottoposti ad irradiazione con lunghezza d'onda di 350 nm. A tal fine ho acquisito gli spettri UV-Vis prima e dopo l'irradiazione di una miscela di PCB a 200 ppb in esano (Figura 8) alla lunghezza d'onda di 350 nm mediante un foto-reattore Ryonet (Figura 9).

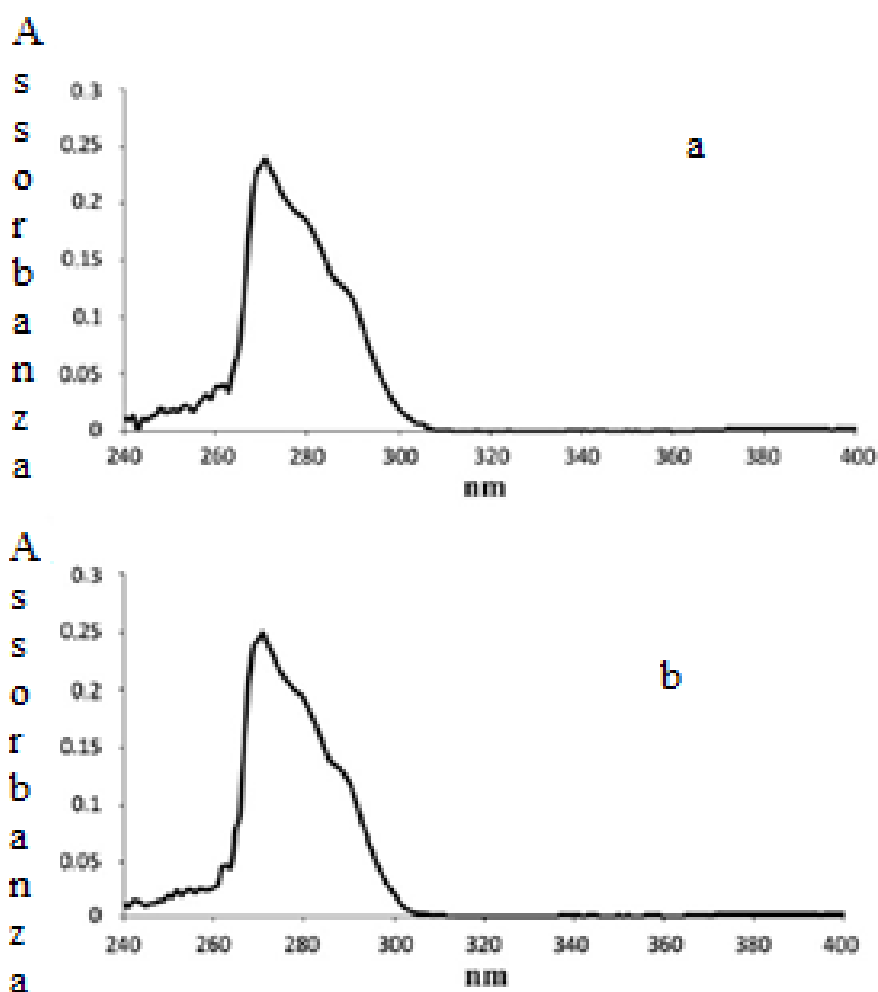


Figura 8. Spettri UV-Vis di miscele di PCBs prima dell'irradiazione a 350 nm (a) e dopo l'irradiazione (b) per 3 ore



Figura 9. Foto-reattore Ryonet

Dalla Figura 8 è possibile notare che la miscela di PCB sottoposta ad irradiazione a 350 nm per 3 ore non subisce sensibili variazioni. Tale comportamento è indice della stabilità fotochimica dei PCB, in accordo con quanto riportato in letteratura [78].

Nel passo successivo, diversi estratti organici provenienti dallo stesso campione di sedimento, sono stati fotolizzati a 350 nm per diverso tempo (da 1 a 3 ore) e in diverse condizioni sperimentali (in presenza di Argon, in presenza di Ossigeno, senza gorgogliamento di gas Tabella 7) utilizzando un foto reattore Rayonet (Figura 9).

Tabella 7. Condizioni sperimentali per la purificazione dell'estratto organico per la determinazione dei PCBs

Campione	λ di irradiazione (nm)	Tempo di irradiazione	Gas gorgogliato
A	350 ± 25	3	Nessun gas
B	350 ± 25	3	O ₂
C	350 ± 25	3	Ar ₂
D	nessuna irradiazione	nessuna irradiazione	Nessun gas

L'analisi dei campioni sottoposti alle diverse procedure di purificazione, ha evidenziato che la migliore purificazione (rimozione delle interferenze) è stata ottenuta mediante gorgogliamento di ossigeno per 15 minuti e successiva fotolisi per 3 ore. Tale considerazione è stata ottenuta mediante la valutazione dei cromatogrammi degli estratti trattati secondo le diverse condizioni sperimentali (Tabella 7). In particolare si è valutato il segnale strumentale

relativo al rapporto $m/z = 256$ che corrisponde ai PCBs tri clorurati per i quali si riscontravano maggiori problemi di interferenza (Figura 10).

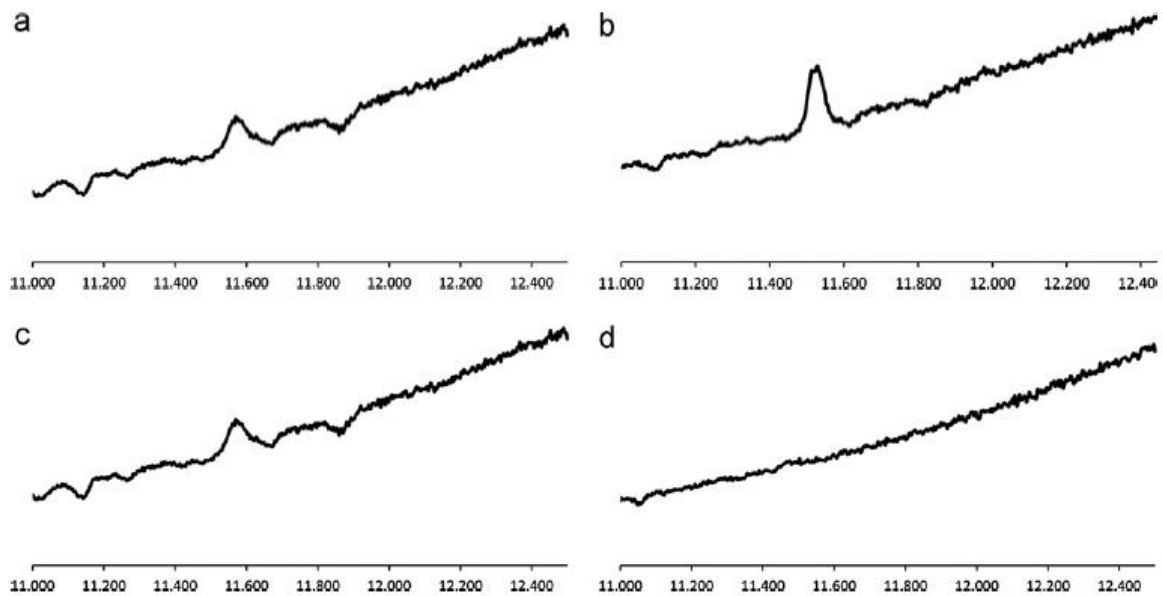


Figura 10. Cromatogrammi del rapporto massa su carica 256 e del PCB 28. a) campione fotolizzato senza gorgogliamento di gas: b) campione fotolizzato dopo gorgogliamento di Ossigeno per 10 minuti: c) campione fotolizzato dopo gorgogliamento di Argon per 10 minuti: d) campione non fotolizzato e non purificato.

I risultati in Figura 10 mostrano che l'ossigeno ha un ruolo determinante sulla purificazione dell'estratto organico fotolizzato a 350 nm. Al fine di comprendere l'effetto dell'ossigeno sulla rimozione degli interferenti organici, è utile prendere in visione lo spettro UV-Vis di un estratto organico di sedimento marino (Figura 11).

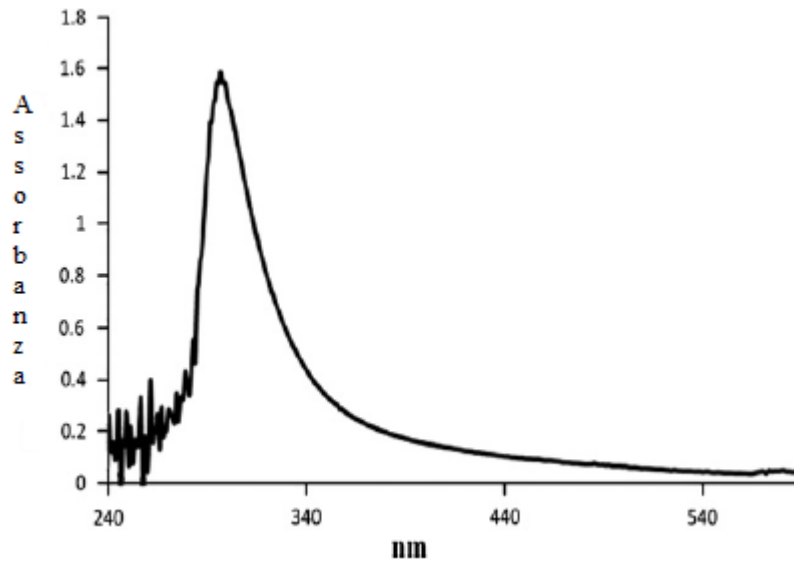


Figura 11. Spettro UV-Vis di un estratto organico di un sedimento marino

Lo spettro di assorbimento riportato in Figura 11, mostra un parziale assorbimento a 350 nm, dal quale è possibile ipotizzare i seguenti meccanismi di reazione: i) reazione fotochimica diretta tra gli interferenti organici e la luce incidente; ii) reazione di foto-ossidazione diretta tra lo stato eccitato dei composti organici interferenti e l'ossigeno disciolto; iii) reazione di foto-ossidazione tra i composti organici interferenti e l'ossigeno singoletto generato mediante meccanismo di Kautsky [79]. Nel caso in questione, il carattere elettrofilo dell'ossigeno singoletto, impedirebbe l'attacco ai PCB poiché elettrone povero, preservandoli nella procedura di purificazione.

5.1.2 Validazione della procedura analitica

Identificate le migliori condizioni di purificazione, la fase successiva è stata finalizzata alla validazione del metodo analitico utilizzando un campione di materiale di riferimento certificato (CRM).

Il primo passo è stato quello di determinare i limiti di rivelabilità (LOD) e di quantificazione (LOQ) per gli analiti presi in considerazione. I valori di LOD e LOQ sono stati determinati secondo i criteri IUPAC e i valori riportati in Tabla 8.

Tabella 8. Parametri di validazione della metodica analitica

PCB	Range di calibrazione (ppb)	Coefficiente di correlazione R ²	Limite di rivelabilità LOD (ppb)	Limite di quantificazione LOQ (ppb)
PCB 28	6-500	0.987	1.0	3.1
PCB 52	6-500	0.990	1.0	2.7
PCB 101	6-500	0.997	1.0	1.0
PCB 149	6-500	0.999	1.0	1.0
PCB 118	6-500	0.993	1.0	1.0
PCB 153	6-500	0.992	1.0	1.0
PCB 105	6-500	0.994	1.0	1.0
PCB 138	6-500	0.999	1.0	1.0
PCB 128	6-500	0.997	1.0	1.0
PCB 156	6-500	0.992	1.0	1.0
PCB 180	6-500	0.994	1.0	1.0
PCB 170	6-500	0.994	1.0	1.0

I valori di concentrazione dei PCB nei campioni di CRM ottenuti applicando il processo di purificazione a 350 nm su un estratto organico previo gorgogliamento di ossigeno, sono stati comparati con i dati ottenuti eseguendo la metodica di purificazione dell' Environmental Protection Agency (Figura 12), che si basa sul trattamento di purificazione cromatografica dell'estratto organico su colonna in florisil.

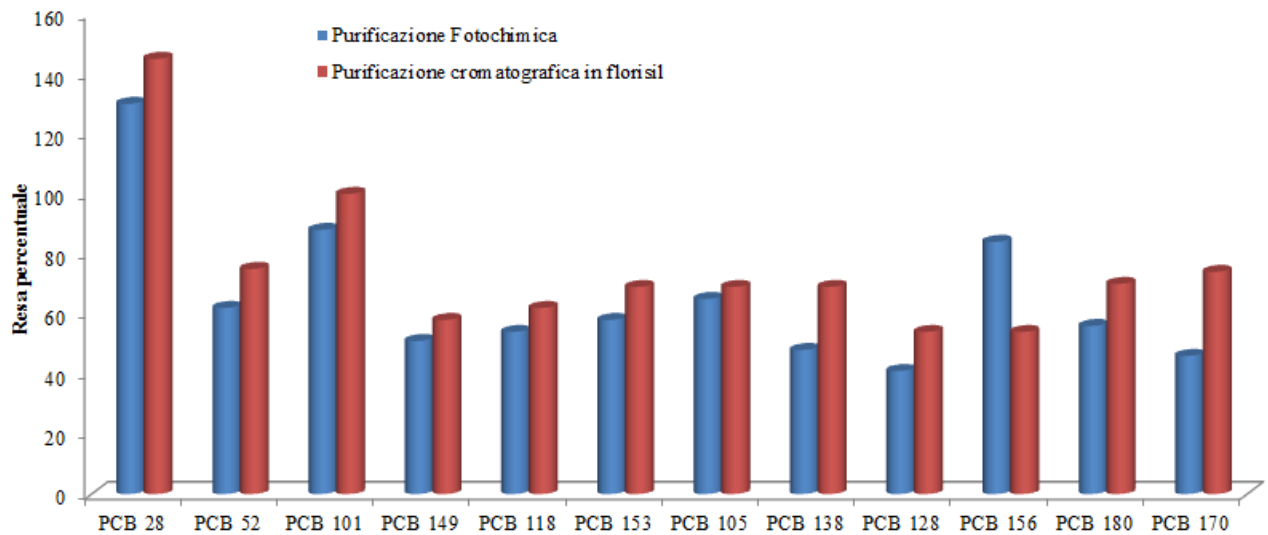


Figura 12. Recupero percentuale dei singoli PCBs utilizzando la metodica EPA e la metodica di purificazione fotochimica

Al fine di valutare se la metodica di purificazione fotochimica fosse attendibile, ho eseguito il test di student “t test” su i dati sperimentali al fine di verificare se le differenze riscontrate con le due diverse procedure siano statisticamente significative (Tabella 9).

Tabella 9. Parametri di comparazione per il confronto delle due diverse metodiche di purificazione

PCB	Concentrazione reale (ppb)	Recupero % con metodica fotochimica	Recupero % con metodica cromatografica	$t_{\text{calcolato}}$	t_{critico}
PCB 28	44	130 ± 1	145 ± 2	1.150	3.182
PCB 52	38	63 ± 1	75 ± 1	1.777	3.182
PCB 101	44	89 ± 1	100 ± 3	1.791	3.182
PCB 149	49	51 ± 1	60 ± 1	2.368	3.182
PCB 118	28	53 ± 1	61 ± 1	1.736	3.182
PCB 153	50	59 ± 1	69 ± 1	2.213	3.182
PCB 105	4	64 ± 3	69 ± 6	1.111	3.182
PCB 138	27	48 ± 6	69 ± 6	1.268	3.182
PCB 128	5	41 ± 9	54 ± 9	1.231	3.182
PCB 156	3	84 ± 15	54 ± 3	0.746	3.182
PCB 180	22	56 ± 1	70 ± 1	2.720	3.182
PCB 170	13	46 ± 2	74 ± 2	1.303	3.182

Dai parametri t riportati in Tabella 9 è possibile affermare che, per tutti gli analiti presi in considerazione, non vi sono differenze significative nella loro determinazione. Da tali considerazioni è quindi possibile affermare che, la metodica di purificazione fotochimica da me proposta e ottimizzata, risulta valida per lo scopo proposto.

5.2 Purificazione fotochimica di estratti di sedimento per la determinazione di CBs: sviluppo del metodo analitico

Dopo aver maturato esperienze nell'ambito *Green Analytical Chemistry*, ho deciso di approfondire la tecnica di purificazione di estratti organici di sedimento per la determinazione di clorobenzene utilizzando solventi organici non pericolosi dal punto di vista tossicologico. In questo contesto, la prima fase ha previsto l'ottimizzazione delle procedure di estrazione in termini di scelta della migliore miscela estraente e numero di cicli estrattivi. A tale scopo, su una matrice reale rinforzata e precedentemente analizzata, ho condotto diverse prove di estrazione, mediante l'utilizzo di solventi "green" (Figura 13 e 14). Il campione di sedimento reale è stato prelevato nel 2013 nei pressi del porto della Cala a Palermo.

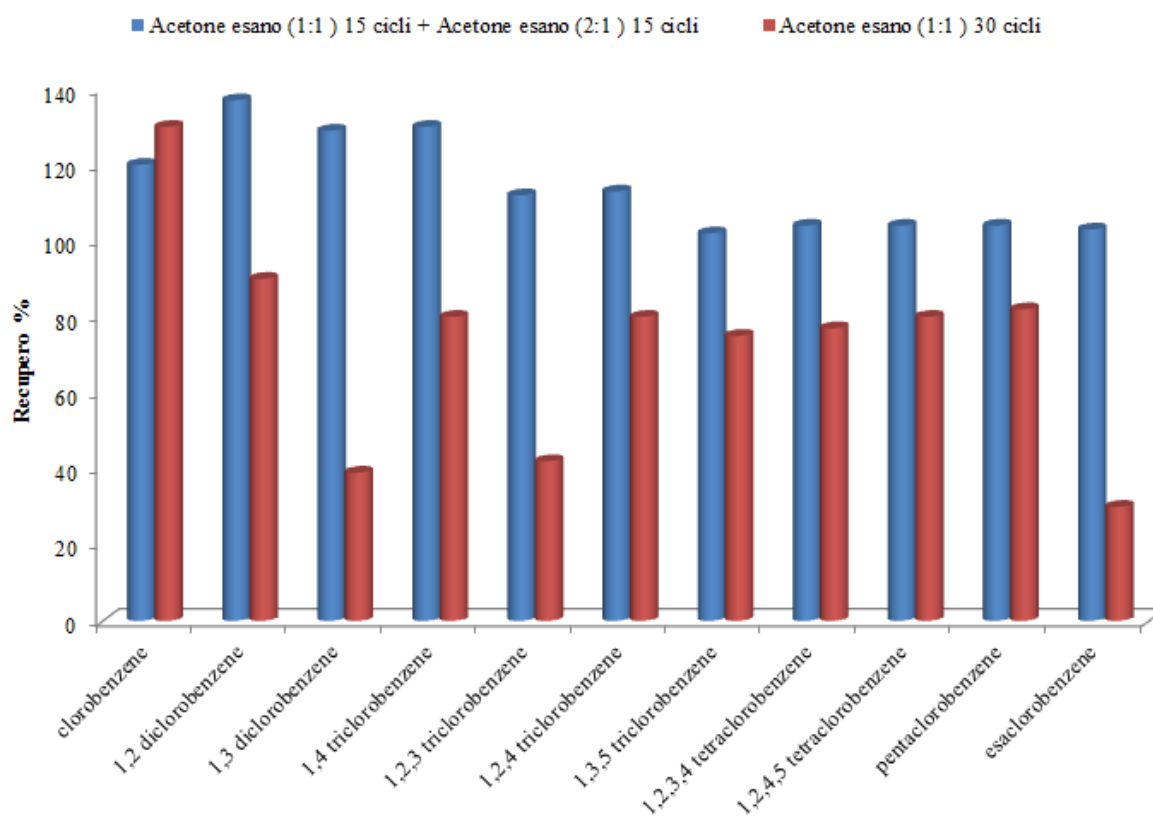


Figura 13. Recuero percentuale dei singoli clorobenzene utilizzando diversi tipi di miscela estraente.

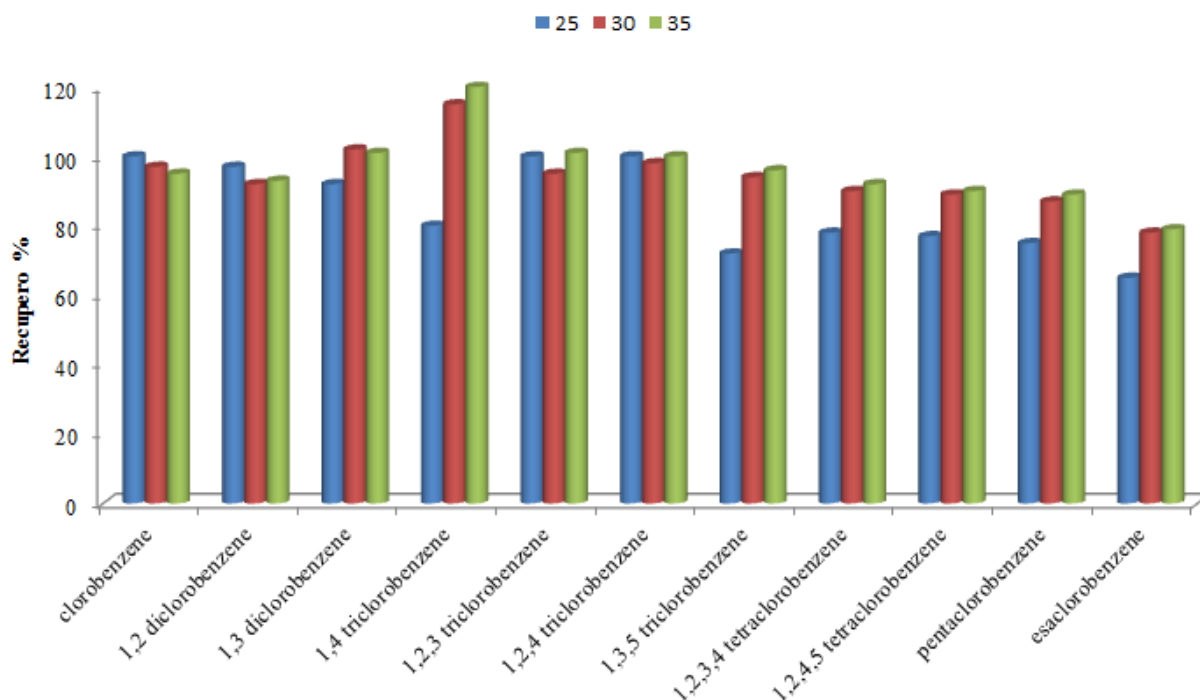


Figura 14. Recupero percentuale dei singoli clorobenzeni in funzione del numero di cicli estrattivi utilizzando una miscela di Acetone Esano (1.1) per i primi 15 cicli e Acetone Esano (2.1) per i successivi 15 cicli

Dai grafici riportati in Figura 13 e 14 è possibile notare che la migliore resa di estrazione si ottiene utilizzando una miscela acetone esano 1:1 per i primi 15 cicli estrattivi, con un successivo cambio nei rapporti di estrazione in 2:1 per i rimanenti 15 cicli estrattivi. Tale andamento potrebbe derivare dalla diversa polarità dei clorobenzeni i quali sono estratti in maniera sequenziale cambiando la polarità del solvente durante l'estrazione. Ottimizzata la procedura di estrazione, ho focalizzato la mia attenzione sullo sviluppo della tecnica fotochimica di purificazione.

5.2.1 Sviluppo del metodo di fotopurificazione

Il primo passo ha coinvolto lo studio dell'effettiva stabilità fotochimica dei cloro benzeni alla lunghezza d'onda di 350 nm. Gli spettri UV-Vis pre e post irradiazione di una miscela di xCBs in acetone esano 1:1 w/w sono riportati in Figura 15.

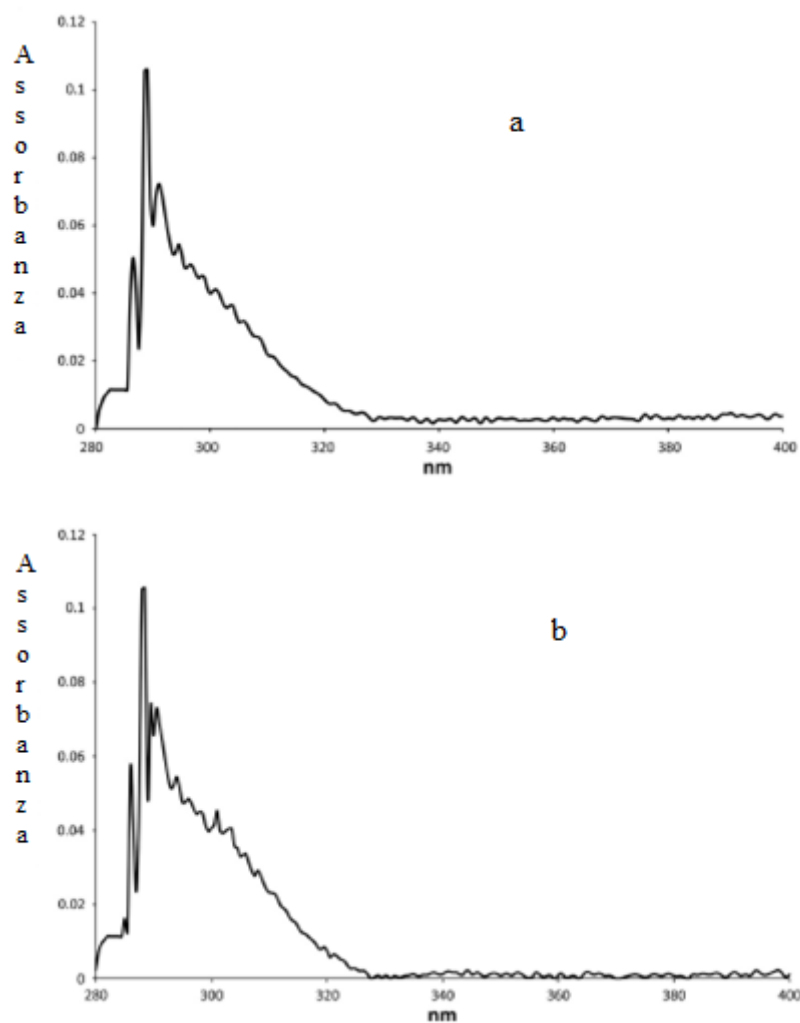


Figura 15. Spettri UV-Vis di miscele di CBs pre e post irradiazione a 350 nm per 6 ore

Dalla Figura 15 è possibile notare che la miscela di xCBs sottoposta ad irradiazione a 350 nm per 6 ore non subisce sensibili variazioni. Tale comportamento è indice della stabilità fotochimica dei clorobenzeni, ad ulteriore conferma di quanto già riportato in letteratura [80]. Successivamente, i diversi estratti organici provenienti dallo stesso campione di sedimento, sono stati trattati in diverse condizioni e per diverso tempo (Tabella 10) e i campioni ottenuti sono mostrati in Figura 16.

Tabella 10. Condizioni sperimentali per la purificazione dell'estratto organico per la determinazione dei CBs

Campione	λ di irradiazione (nm)	Tempo di irradiazione (h)	Gorgogliamento di Ossigeno
1	Nessuna irradiazione	0	No
2	350 ± 25 nm	1	10 min
3	350 ± 25 nm	3	10 min
4	350 ± 25 nm	6	10 min
5	350 ± 25 nm	6	No
6	Purificazione in Colonna	0	No
7	350 ± 25 nm	12	No
8	350 ± 25 nm	24	No

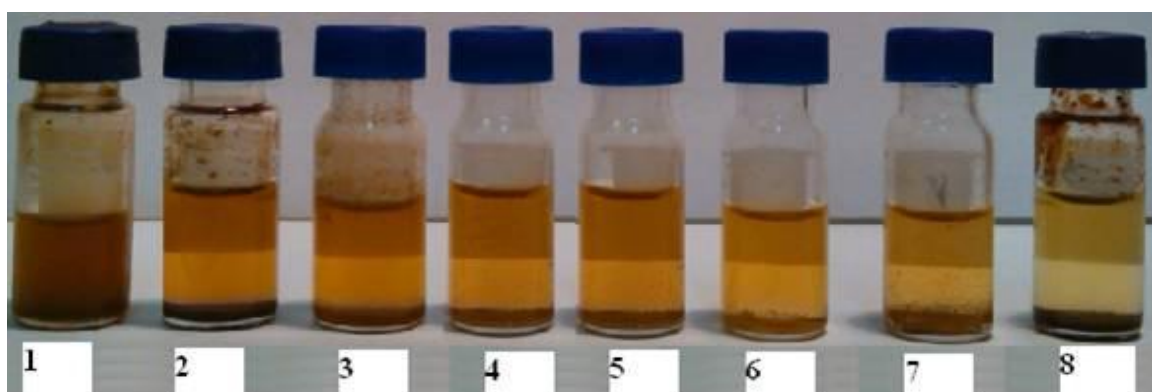


Figura 16. Risultato delle diverse procedure di purificazione applicate

Dalla Figura 16 è possibile notare come il campione non sottoposto a trattamento (1) è affetto da un elevato contenuto di interferenti organici.

I campioni da 2 a 5 mostrano un cambiamento di colore con tonalità decrescente, indice della diminuzione del contenuto sostanza organica, Il campione n°6 (campione purificato secondo la procedura EPA 8260) mostra un colore simile al campione n°5, mentre i campioni n°7 e 8 sono più chiari.

E' da notare che tra il campione 4 e 5 non intercorrono sensibili variazioni colorimetriche. Tale fatto potrebbe essere imputabile al minor contributo dell'ossigeno rispetto

all'irradiazione diretta. In particolare, è possibile evidenziare che, l'ossigeno singoletto, generato mediante processi di foto-sensibilizzazione, ha un ruolo minore se paragonato all'irradiazione diretta per un tempo pari a 6 ore. Gli stessi andamenti di fotopurificazione sono stati riscontrati anche mediante comparazione della Total Ion Current (TIC) dei cromatogrammi.

Secondo quanto sopra considerato, la scelta della migliore procedura di purificazione fotochimica, corrisponde a quella della metodica del campione n° 5, ovvero nell'irradiazione dell'estratto organico a $\lambda = 350 \pm 25$ nm per 6 ore.

5.1.2 Validazione della procedura analitica

Identificate le migliori condizioni di purificazione, il lavoro successivo è stato volto alla validazione del metodo analitico. Considerando che non avevo a disposizione un campione di riferimento certificato, la validazione della procedura è stata effettuata utilizzando un campione di sedimento fortificato con una quantità nota di un mix di clorobenzeni.

I dati dell'analisi dei xCBs contenuti in tale campione, e ottenuti dalla procedura di purificazione proposta, sono stati comparati con i dati ottenuti eseguendo la metodica di purificazione riportata sul manuale dell' Environmental Protection Agency [81]. I risultati sono riportati in Figura 17.

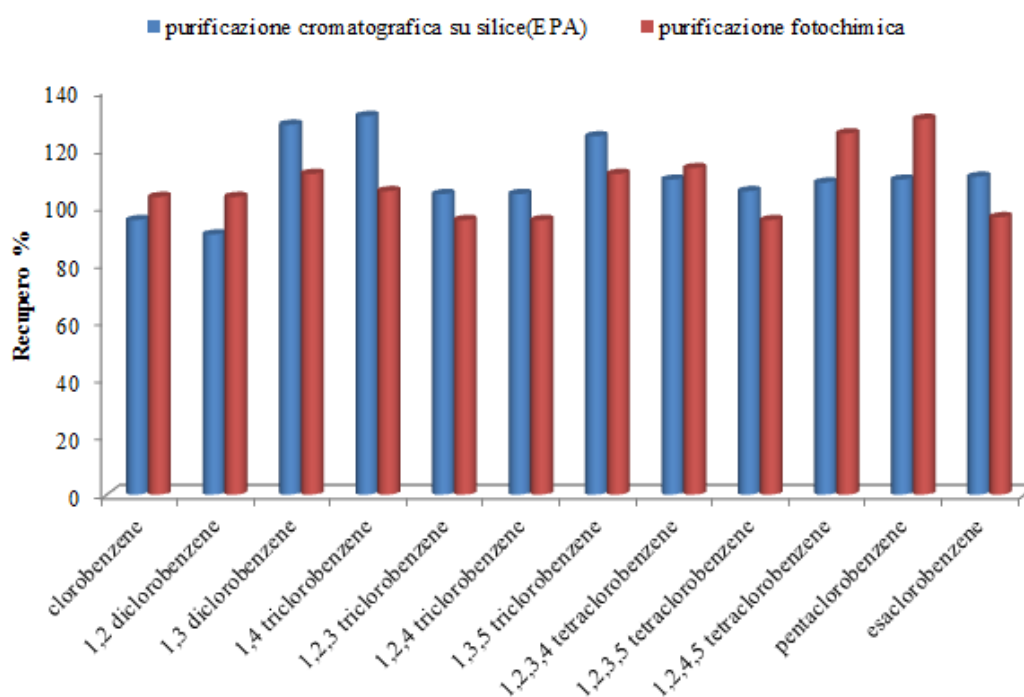


Figura 17. Recupero percentuale dei singoli CBs utilizzando la metodica EPA e quella fotochimica

Inoltre, al fine di confrontare i due differenti metodi, ho eseguito il test di student “t test” per verificare se le differenze riscontrate utilizzando le due diverse procedure erano statisticamente significative (Tabella 11).

Tabella 11. Parametri di comparazione delle due diverse metodiche a confronto

CBs	a) Metodo di purificazione EPA		b) Metodo di purificazione fotochimica .		$t_{calcolato}$	$t_{critico}$
	Concentrazione reale (ppb)	Recupero % con metodica fotochimica	Recupero % con metodica cromatografica			
Clorobenzene	200	95 ± 7	103 ± 9	0.5692	2.776	
1,2- diclorobenzene	200	90 ± 7	103 ± 2	0.3143	2.776	
1,3- diclorobenzene	200	128 ± 5	111 ± 4	2.2016	2.776	
1,4- diclorobenzene	200	131 ± 5	105 ± 6	0.8942	2.776	
1,2,3- triclorobenzene	200	104 ± 9	95 ± 9	0.3168	2.776	
1,2,4- triclorobenzene	200	104 ± 2	95 ± 10	0.3906	2.776	
1,3,5- triclorobenzene	200	124 ± 4	111 ± 9	0.8687	2.776	
1,2,3,4- tetraclorobenzene	200	109 ± 8	113 ± 8	0.2468	2.776	
1,2,3,5- tetra clorobenzene	200	105 ± 8	95 ± 8	0.3613	2.776	
1,2,4,5- tetraclorobenzene	200	108 ± 7	125 ± 4	2.3884	2.776	
Pentaclorobenzene	200	109 ± 10	130 ± 7	0.5791	2.776	
Esaclorobenzene	200	110 ± 7	96 ± 5	0.0905	2.776	

Dai parametri t riportati in Tabella 11 è possibile affermare che, per tutti gli analiti presi in considerazione, non vi è una differenza significativa dei due diversi metodi.

Da tali considerazioni è quindi possibile affermare che, la metodica di purificazione fotochimica proposta in questa tesi è valida per lo scopo proposto.

6 Risultati e discussione tematica 2: trattamento di matrici contaminate

6.1 Adsorbimento di PCBs su sfere di alginato e sfere ibride di alginato

Nell'ambito della tematica 2, una delle classi di contaminanti organici presa in considerazione come inquinante modello, è stata rappresentata dai Policlorobifenili.

Le formule di struttura dei 16 PCB presi in considerazione nell'ambito della tematica 2 sono riportate in Figura 18.

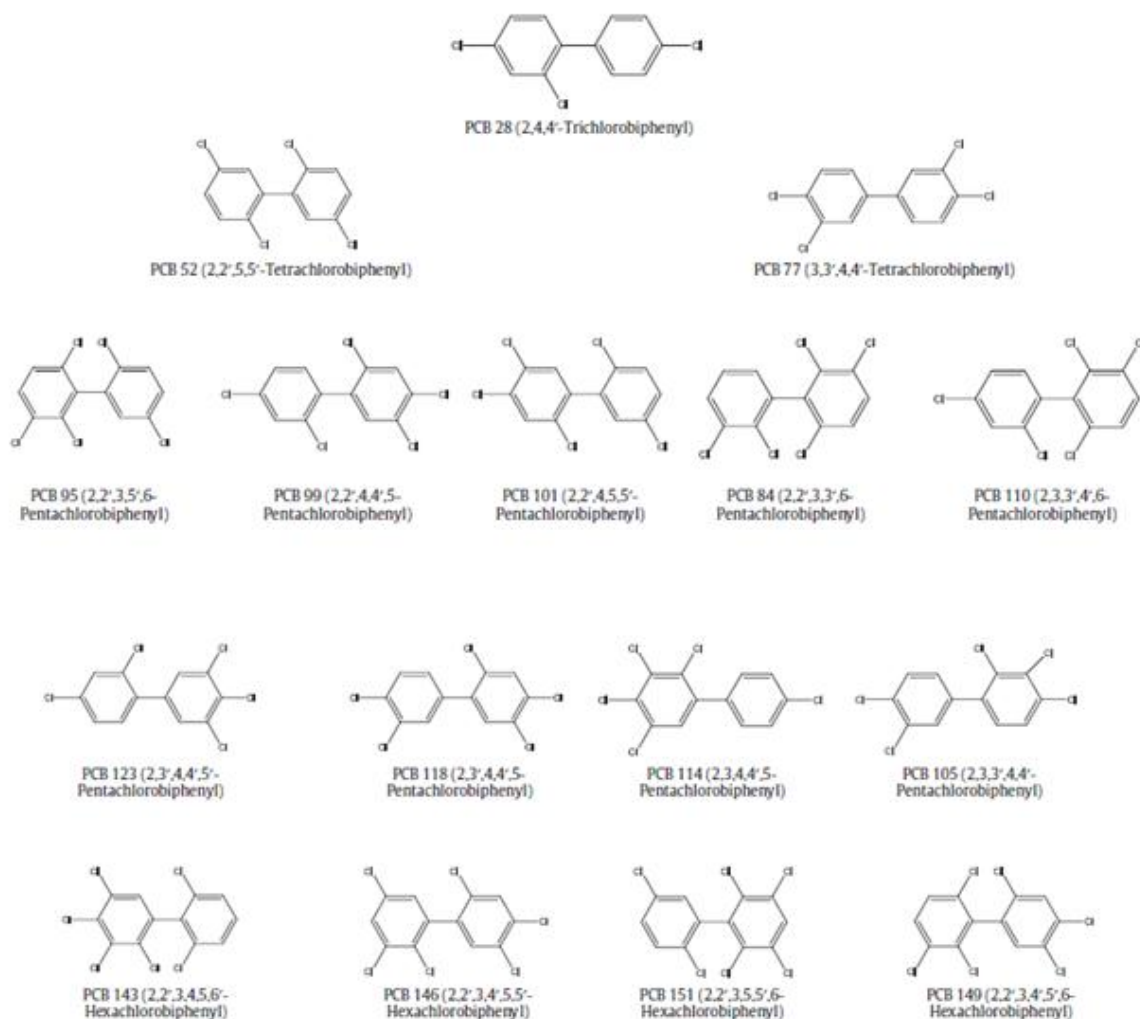


Figura 18. Formule di struttura dei 16 PCB presi in considerazione

Gli studi di adsorbimento sono stati condotti in modalità batch alla temperatura di 25 °C a valori di pH di 5.5. Le concentrazioni dei PCBs sono state determinate mediante analisi dell'estratto organico da soluzioni acquose applicando la metodica di letteratura EPA method 680.

6.1.1 Sintesi e caratterizzazione delle sfere di alginato e alginato montmorillonite

Il primo stadio ha coinvolto la sintesi e la caratterizzazione di sfere di alginato e di sfere ibride di alginato montmorillonite.

La sintesi delle diverse tipologie di sfere di alginato sono state eseguite mediante lo *ionic gelation method* [82].

Per la sintesi delle sfere ibride di alginato montmorillonite, 20 mL di una sospensione di montmorillonite al 8% è stata messa ad agitare con una soluzione acquosa di alginato al 4% per 2 ore, ovvero fino a “stabilità” della sospensione. Trascorso tale tempo, la sospensione, è stata fatta gocciolare mediante una pipetta su 100 mL di una soluzione di CaCl_2 1M. Le sfere di alginato formatesi sono state lasciate in agitazione nella medesima soluzione per 12 ore.

Per la sintesi delle sfere di solo alginato, 2 g di alginato sono stati solubilizzati in 20 mL di acqua e il gel risultante è stato omogeneizzato mediante agitazione per 2 ore. Trascorso tale tempo, il gel, è stato fatto gocciolare su 100 mL di una soluzione di CaCl_2 1M con conseguente formazione di sfere di alginato, le quali sono state poste ad agitare nella medesima soluzione per le successive 12 ore.

Le sfere così sintetizzate sono state caratterizzate mediante indagine FT-IR (Figura 19).

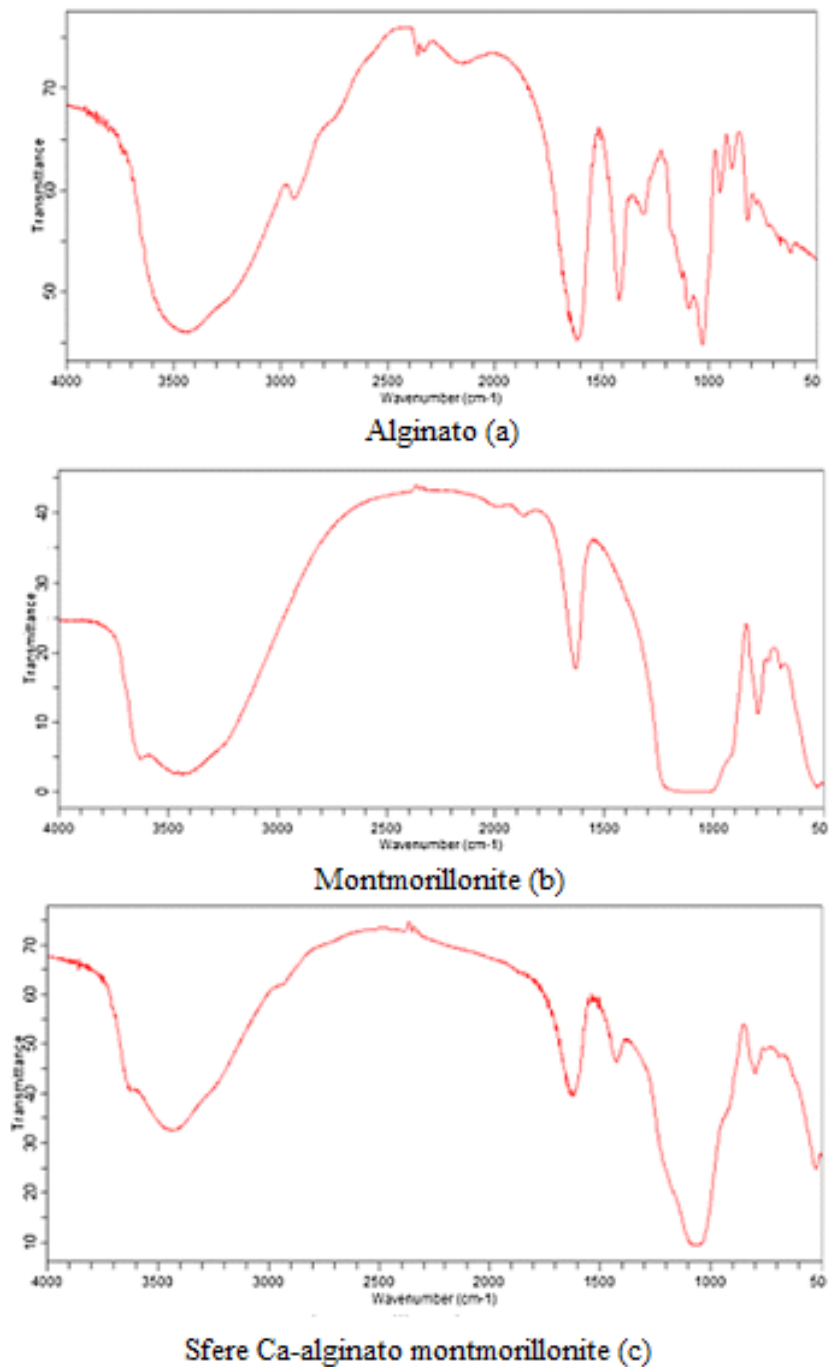


Figura 19. Spettri FTIR di alginato (a), montmorillonite (b) e sfere di alginato montmorillonite

Da come si evince dalla Figura 19 c, lo spettro delle sfere ibride di Ca-alginato montmorillonite contiene bande comuni sia allo spettro del solo alginato (Figura 19 a), sia allo spettro della sola montmorillonite (Figura 19 b).

In particolare sono da prendere in considerazione la banda a 3631 cm^{-1} relativa allo stretching del OH dell'acqua e al Si-OH, quella a 1044 , 623 e 523 cm^{-1} relative allo stretching Si-O in $[\text{SiO}_4]^{4-}$, 916 cm^{-1} relativa al bending di Al-Al-OH e 798 cm^{-1} relativa al Si-O in SiO_2 .

6.1.2 Studi di adsorbimento; effetto del pH

Generalmente il pH, attraverso la protonazione o la deprotonazione della specie adsorbente e degli analiti, assume un ruolo importante nell'adsorbimento di molecole target a causa delle variazioni del tipo e della densità di carica. Per investigare l'effetto del pH sull'adsorbimento dei PCBs nelle diverse tipologie di sfere utilizzate, ho effettuato degli studi di adsorbimento nel range di pH tra 2.0 e 8.3.

Gli studi hanno evidenziato che la variazione di pH non provoca variazioni di adsorbimento da parte dei PCBs sulle diverse tipologie di sfere utilizzate. Tale andamento è presumibilmente imputabile al fatto che, i PCBs sono delle molecole apolari e l'interazione con le diverse tipologie di sferette è relativa alle forze di tipo Van der Waals. Per tale motivo, la variazione di pH, non altera il tipo di adsorbimento. Tale andamento è in accordo con alcuni dati di letteratura riguardanti l'adsorbimento di molecole di natura apolare su una differente classe di sfere di alginato [83].

6.1.3 Studi di adsorbimento; effetto dose adsorbente

Al fine di individuare le ottimali condizioni di adsorbimento, ho effettuato prove di adsorbimento dei PCBs variando la quantità di fase adsorbente. In dettaglio, gli esperimenti sono stati effettuati in modalità batch su 10 mL di soluzione acquosa contenente alcuni congeneri dei PCB alla concentrazione di 10 ppb e aumentando le quantità di sfere da 0.25 a 2.5 mg di MABs (Figura 20).

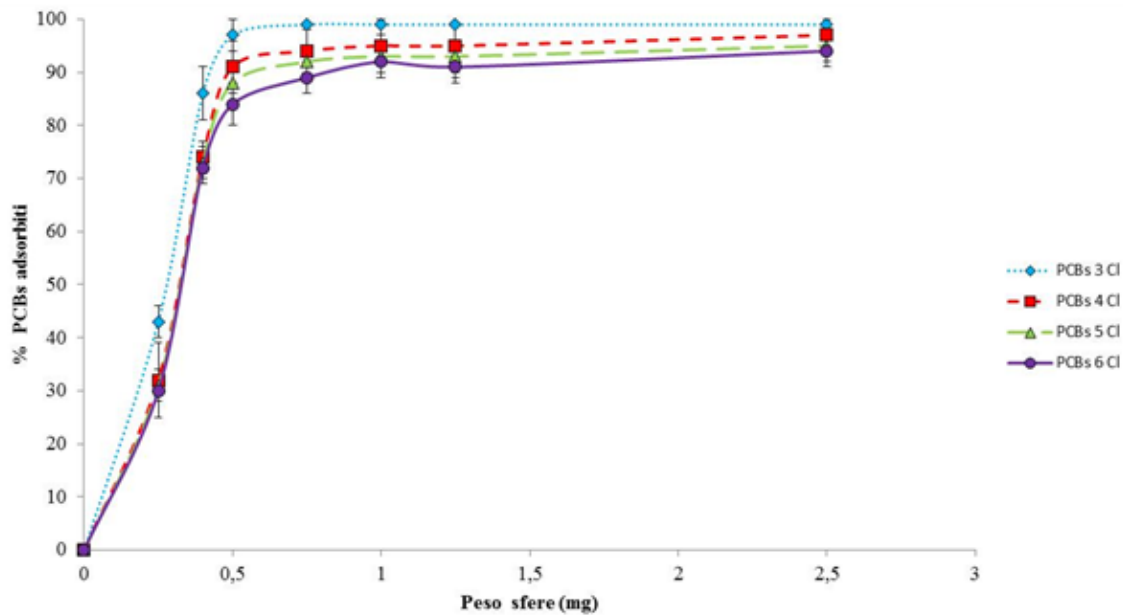


Figura 20. Effetto dose adsorbente sull'adsorbimento dei PCBs nelle sfere di alginato montmorillonite

Da come è possibile evidenziare dalla Figura 20, la rimozione percentuale dei PCBs aumenta con l'aumentare di MABs in soluzione, fino a raggiungere il valore massimo di rimozione utilizzando 1 mg di MABs. Tale andamento è presumibilmente attribuibile ad una maggiore quantità di siti disponibili da parte delle MABs la quale provoca una diminuzione della concentrazione dei PCBs in soluzione. Inoltre, di particolare interesse risulta che la percentuale di PCBs rimossi dipende anche dal grado di clorazione, con percentuali di rimozione maggiori per i PCB a basso grado di clorazione.

6.1.4 Studi di adsorbimento; isoterme di adsorbimento

Determinate le migliori condizioni sperimentali di adsorbimento, ho deciso di investigare l'effetto dell'aggiunta di montmorillonite alle sfere di alginato mediante lo studio di isoterme di adsorbimento. L'isoterma di adsorbimento descrive la relazione tra la quantità di inquinante che è stata adsorbita da una specie adsorbente, in determinate condizioni di concentrazione di inquinante. Tra i modelli maggiormente utilizzati per descrivere i processi di adsorbimento sono di fondamentale importanza il modello di Langmuir (eq. 3) e il modello di Freundlich (eq. 4.). Tuttavia, non sempre tali modelli riescono a descrivere e interpretare i dati sperimentali, specialmente nel caso di adsorbimenti di molecole di natura idrofobica. In questi casi, le isoterme maggiormente utilizzate sono le così dette isoterme sigmoideali o a "S",

e uno dei modelli maggiormente utilizzati per descrivere un'interazione di questo tipo è quello di Chapman (eq. 5).

$$q_e = (q_m K_L C_e) / (1 + K_L C_e) \quad (\text{eq. 3})$$

con

q_e = capacità adsorbente (mg g^{-1})

q_m = massima capacità adsorbente (mg g^{-1})

K_L = costante di Langmuir

C_e = concentrazione di adsorbato all'equilibrio

$$q_e = K_F C_e^{(1/n)} \quad (\text{eq. 4})$$

con

q_e = capacità adsorbente (mg g^{-1})

K_F = costante di Freundlich

C_e = concentrazione di adsorbato all'equilibrio

n = parametro empirico che tiene conto del tipo di adsorbimento

$$q_e = q_m (1 - e^{-K C_e})^c \quad (\text{eq. 5})$$

con

K = Costante

C_e = concentrazione di adsorbato all'equilibrio

c = parametro empirico che tiene conto dei processi di adsorbimento

Tutti gli esperimenti di adsorbimento sono stati condotti alla temperatura di 25 °C, su aliquote di 10 mL di soluzioni a diversa concentrazione di PCBs utilizzando 20 sfere.

I dati acquisiti sono stati elaborati e i relativi parametri q_e e C_e , riportati in un grafico, sono stati interpretati utilizzando i modelli sopra descritti (Figure 20 a, b, c e isoterme di adsorbimento utilizzando le sfere di alginato; Figure 21 a, b, c e isoterme di adsorbimento utilizzando le sfere di alginato montmorillonite) e i relativi parametri sono riportati nelle Tabelle 12 e 13.

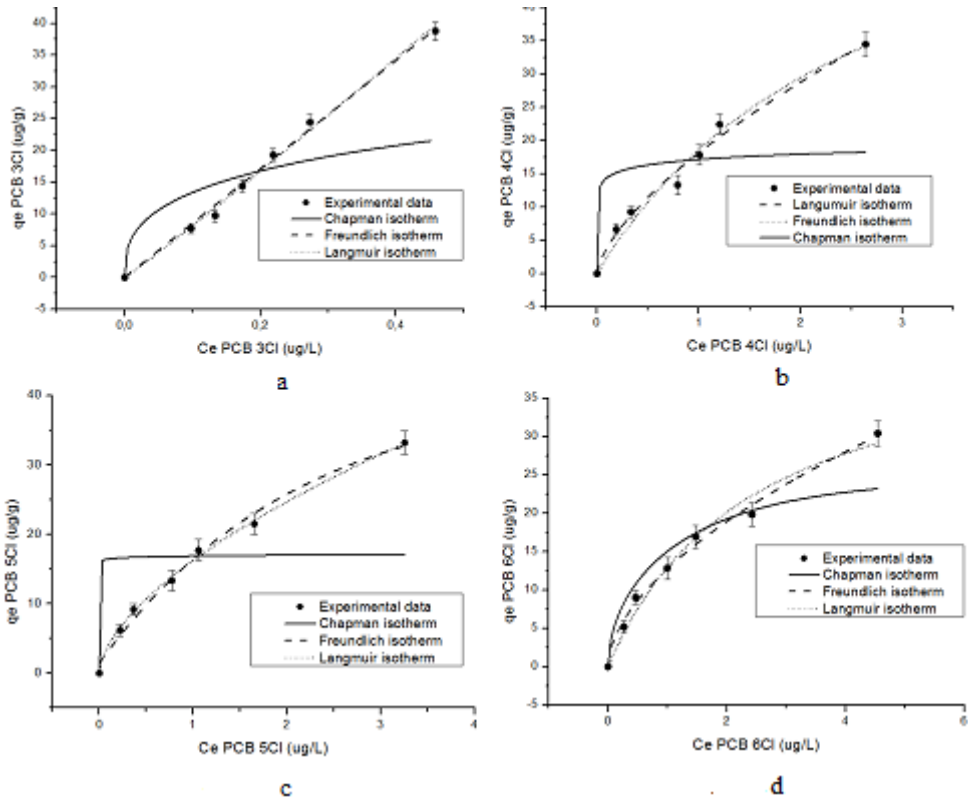


Figura 20. Isotherme di adsorbimento su ABs per i PCBs a differenti gradi di clorazione

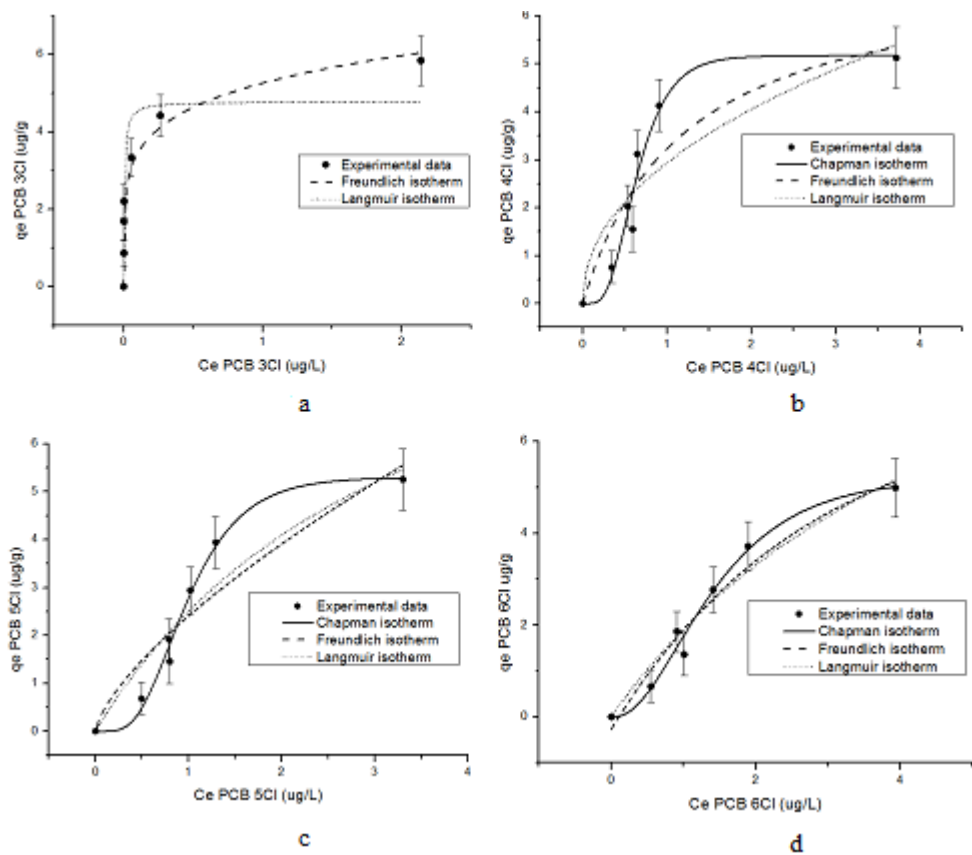


Figura 21. Isotherme di adsorbimento su MABs per i PCBs a differenti gradi di clorazione

Tabella 12. Parametri relativi ai modelli di adsorbimento per i PCBs a diverso grado di clorazione su sfere di alginato (ABs)

Analita	Langmuir			Freundlich				Chapman		
	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	R^2	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	1/n	R^2	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	R^2
PCB 3 Cl	332.56	0.29	0.991	-	83.71	0.762	0.989	-	-	-
PCB 4 Cl	69.97	0.36	0.976	-	18.10	0.662	0.985	-	-	-
PCB 5 Cl	54.95	0.44	0.986	-	16.25	0.604	0.997	-	-	-
PCB 6 Cl	44.94	0.40	0.977	-	12.78	0.565	0.992	-	-	-

Tabella 13. Parametri relativi ai modelli di adsorbimento per i PCBs a diverso grado di clorazione su sfere ibride di alginato-montmorillonite (MABs)

Analita	Langmuir			Freundlich				Chapman		
	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	R^2	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	1/n	R^2	$q_m (\mu\text{g g}^{-1})$	K	R^2
PCB 3 Cl	4.74	225.70	0.860	-	5.26	0.211	0.953	-	-	-
PCB 4 Cl	7.04	0.85	0.824	-	2.93	0.694	0.761	5.17	3.62	0.939
PCB 5 Cl	11.24	0.28	0.885	-	2.40	0.700	0.856	5.30	2.35	0.985
PCB 6 Cl	12.39	0.18	0.939	-	1.87	0.924	0.920	5.19	1.10	0.975

Da come si evince dalle Figure 20 e 21, l'adsorbimento dei PCBs nelle diverse tipologie di sfere utilizzate segue 2 meccanismi differenti. L'adsorbimento dei PCBs nelle sfere di solo alginato segue un adsorbimento di tipo Freundlich, ovvero un meccanismo di adsorbimento dove l'adsorbente presenta una superficie eterogenea costituita da punti nei quali il calore di adsorbimento si riduce esponenzialmente con il grado di ricoprimento. Generalmente, l'isoterma di Freundlich è il modello di adsorbimento più utilizzato in quanto, a differenza di quello di Langmuir, interpola i dati sperimentali. Tuttavia, nei casi dell'adsorbimento dei PCBs su superfici eterogenee, il modello di adsorbimento di Freundlich non si adatta. In quest'ultimo caso, infatti, il modello di adsorbimento migliore sembra essere di tipo sigmoidale o a S espresso tramite l'equazione di Chapman. Tale comportamento è imputabile all'effetto dell'aggiunta della montmorillonite nelle sfere di alginato. Infatti, come riportato in letteratura, i composti organici idrofobici hanno una basa affinità per le argille. Come conseguenza, una volta che le prime molecole di PCBs sono adsorbite sulla montmorillonite, le rimanenti molecole d'inquinante in soluzione instaurano un'interazione con le molecole di adsorbato. Questo fenomeno è noto in letteratura come meccanismo di adsorbimento cooperativo, ed è stato osservato per l'adsorbimento di un'altra classe di HOCs, gli idrocarburi policiclici aromatici, su sfere di chitosano contenenti tensioattivo [84].

6.1.5 Studi di adsorbimento; cinetiche di adsorbimento

Al fine di determinare la cinetica di adsorbimento sulle sfere ibride di alginato montmorillonite, ho monitorato per 16 ore le concentrazioni dei PCBs nella soluzione al

variare del tempo di contatto. In Figura 22 sono riportate le percentuali di rimozione per le diverse classi isomeriche dei PCBs in 10 mL di soluzione alla concentrazione di $5 \mu\text{g L}^{-1}$ contenente 20 MABs.

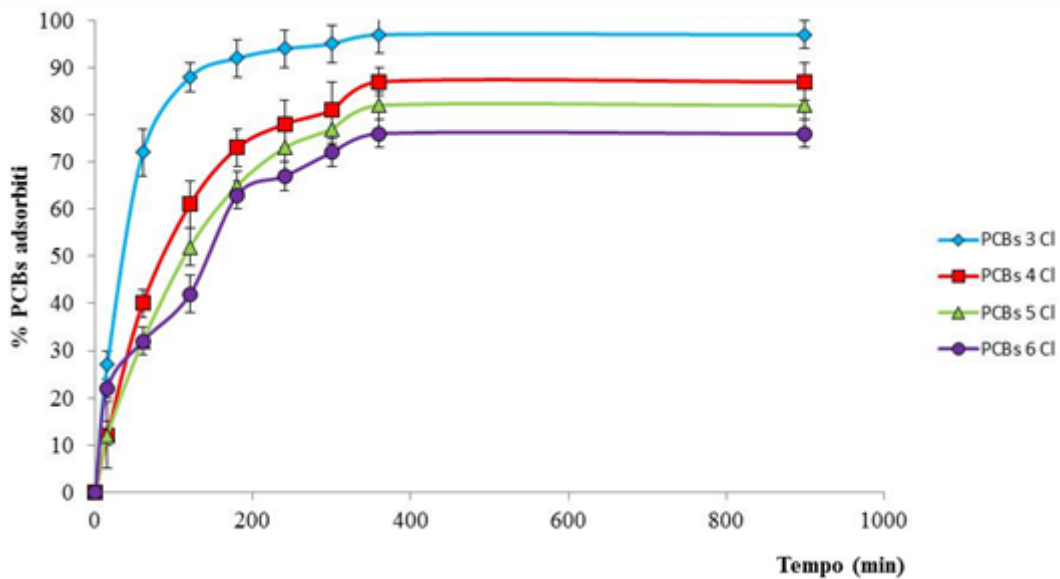


Figura 22. Adsorbimento percentuale delle diverse classi isomeriche di PCBs su sfere di alginato montmorillonite.

Da come è possibile notare dalla Figura 22, la percentuale dei PCBs adsorbiti dipende dal loro grado di clorazione. Inoltre, l'adsorbimento raggiunge l'equilibrio dopo 6 ore di tempo di contatto (360 minuti).

Utilizzando i modelli cinetici di adsorbimento, ed in particolare quelli di primo e secondo (eq. 6, 7), è stato possibile evidenziare come il migliore modello in grado di interpolare i dati sperimentali, fosse quello di pseudo secondo ordine (Tabella 14).

$$\ln q_e - q_t = \ln q_e - K_1 t \quad (\text{eq.6})$$

Con:

q_e = quantità di PCBs adsorbiti all'equilibrio in (mg g^{-1})

q_t = quantità di PCBs adsorbiti al tempo t in (mg g^{-1})

K_1 = costante cinetica di primo ordine h^{-1}

t = tempo in minuti

$$t/q_t = 1/K_2 q_e^2 + t/q_t \quad (\text{eq.7})$$

Con:

q_e = quantità di PCBs adsorbiti all'equilibrio in (mg g^{-1})

q_t = quantità di PCBs adsorbiti al tempo t in (mg g^{-1} .)

K_2 = costante cinetica di pseudo secondo ordine ($\text{gmg}^{-1} \text{min}^{-1}$)

t = tempo in minuti

I dati relativi i modelli cinetici applicati sono riportati in Tabella 14.

Tabella 14. Parametri relativi ai modelli cinetici di adsorbimento per i PCBs a diverso grado di clorazione su sfere ibride di alginato-montmorillonite

C_0 ($5 \mu\text{g L}^{-1}$)	Pseudo primo ordine			Pseudo secondo ordine			sperimentale
	k_1 (min^{-1})	q_e ($\mu\text{g g}^{-1}$)	R^2	K_2 ($\text{g } \mu\text{g min}^{-1}$)	q_e ($\mu\text{g g}^{-1}$)	R^2	q_e ($\mu\text{g g}^{-1}$)
PCBs 3Cl	0.0147	1.53	0.988	0.0210	2.28	0.998	2.20
PCBs 4Cl	0.0131	2.10	0.992	0.0220	2.10	0.993	2.16
PCBs 5Cl	0.0117	2.45	0.899	0.0055	2.10	0.988	1.91
PCBs 6Cl	0.0106	2.24	0.968	0.0100	1.85	0.982	1.85

Dai dati cinetici, si evince che il meccanismo cinetico responsabile dell'adsorbimento è di pseudo secondo ordine. L'adsorbimento dei PCBs sulle sfere di alginato montmorillonite infatti avviene ad opera non di un singolo processo ma di più processi.

6.2 Degradazione di inquinanti organici: processi fotochimici e fotocatalitici

In questa tesi, la degradazione degli inquinanti organici per il trattamento di matrici contaminate, è stato suddivisa in due sottosezioni: degradazione fotochimica (Linea 2.1), ovvero quei processi dove un particolare inquinante è degradato mediante reazione diretta con la luce; degradazione fotocatalitica (Linea 2.2), ovvero quei processi dove un particolare inquinante viene degradato mediante reazioni con specie reagenti formatesi in seguito all'interazione luce materia.

6.2.1 Sviluppo del metodo analitico

Nell'ambito del trattamento di matrici contaminate mediante processi fotochimici (Tematica 2 Linea 2.1), la classe di contaminanti organici presa come modello è stata quella degli esteri ftalici.

La prima fase ha riguardato lo sviluppo di una metodica analitica per la determinazione di esteri ftalici in matrici reali quali polveri domestiche, intonaci, materiali di risulta ecc..

Lo sviluppo del metodo analitico ha riguardato il pretrattamento del campione, l'ottimizzazione della procedura di estrazione e l'analisi gas cromatografica dell'estratto organico. In particolare, considerando che le normali procedure di restauro degli ambienti indoor prevedono una fase di rimozione degli intonaci, con conseguente esposizione da parte degli operatori addetti a possibili sostanze tossiche, ho focalizzato la mia attenzione sullo sviluppo di un metodo analitico per quanto concerne le pitture murali.

Al fine di ottenere un campione rappresentativo 5 g di una pittura murale sono stati prelevati e omogeneizzati mediante mortaio d'agata. 200 mg del campione omogeneizzato sono stati trasferiti in un beacker da 100 mL e addizionanti di un'aliquota di una soluzione a concentrazione nota di esteri ftalici deuterati in esano. Il campione così arricchito è stato utilizzato per l'ottimizzazione delle procedure di estrazione.

Le classiche procedure di estrazione dei VOCs da matrici solide prevedono metodiche basate sull'utilizzo di un solvente organico mediante apparecchio di Soxhlet o bagno ultrasuoni. Considerando, sia i tempi di estrazione mediante apparecchio di Soxhlet (4-12 ore), sia l'elevato volume di solvente organico necessario (150 mL), la scelta sulla procedura di estrazione è ricaduta sull'estrazione ad ultrasuoni, la quale prevede ripetuti cicli di estrazione di circa 20 minuti per ogni ciclo estrattivo .

Tuttavia, la procedura di estrazione mediante ultrasuoni doveva essere ottimizzata in termini di miglior miscela estraente e numero di cicli estrattivi. Per tale motivo ho eseguito delle

prove preliminari di estrazioni, su un campione di intonaco fortificato, utilizzando diversi solventi (Figura 23) e diversi cicli di estrazione (Figura 24). La valutazione delle rese di estrazione è stata effettuata mediante analisi GC-MS.

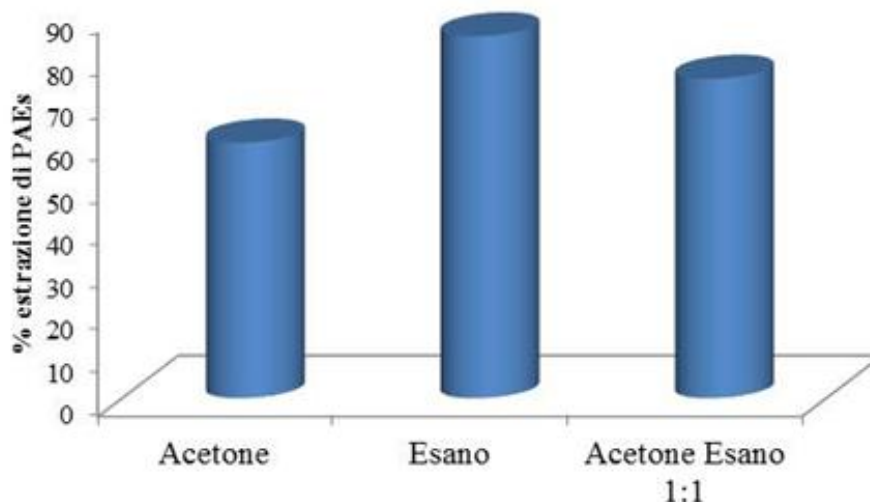


Figura 23. Percentuali di estrazione degli esteri ftalici dopo 3 cicli estrattivi da 15 minuti con 20 mL di diversi solventi

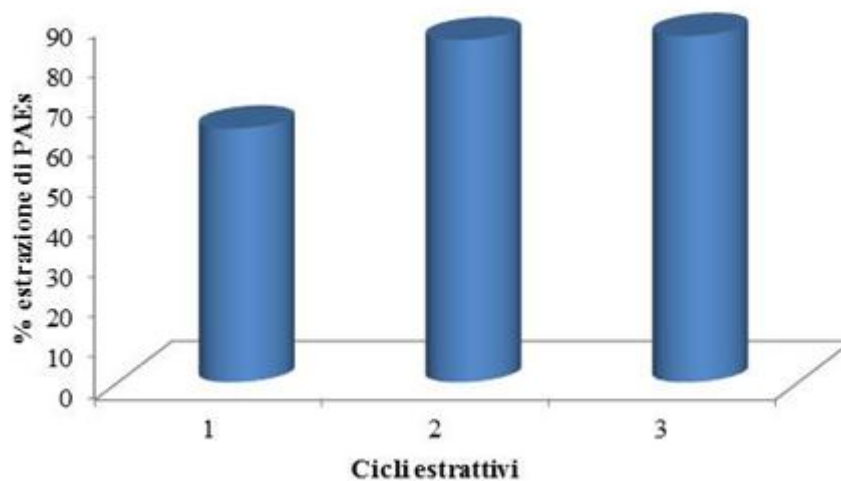


Figura 24. Percentuali di estrazione degli esteri ftalici per 15 minuti con 20 mL di esano al variare dei cicli di estrazione

Le migliori rese di estrazione sono state ottenute effettuando 3 cicli estrattivi da 15 minuti con esano.

L'intera metodica analitica è stata quindi ottimizzata mediante validazione della qualità del dato analitico, analizzando tre volte tre diversi campioni di intonaco, e valutandone le

percentuali di recupero e precisione. I parametri inerenti l'assicurazione di qualità del dato analitico sono riportati in Tabella 15.

Tabella 15. Recupero percentuale e precisione per la determinazione degli esteri ftalici in campione di intonaco

Recupero	79-102 %
Precisione	>93 %

Considerando che i risultati soddisfacevano i criteri inerenti la qualità del dato analitico, la metodica di determinazione degli esteri ftalici è stata considerata attendibile ed applicabile.

6.2.2 Sviluppo del metodo di degradazione e applicazione

La seconda fase del trattamento di matrici contaminate mediante processi fotochimici è stata incentrata sullo sviluppo del metodo di degradazione degli esteri ftalici e la sua applicazione.

A tale proposito, 200 mg di intonaco preventivamente omogeneizzato, sono stati trasferiti in una capsula di Petri costituendo uno strato omogeneo. La capsula è stata posta parallelamente alla distanza di 10 cm da una lampada al mercurio con intensità d'irradiazione massima a 254 nm. Aliquote di campione da 30 mg sono state prelevate a 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 e 8 ore e analizzate secondo la procedura analitica precedentemente ottimizzata.

Le concentrazioni iniziali degli analiti, espresse come somma dei singoli analiti, erano comprese tra lo 0.8 e i 236 mg kg⁻¹, con una media di 39.4 mg kg⁻¹. Dei 15 esteri ftalici presi in considerazione, prima dell'irradiazione solo 4 (DEHP, DiBP, DBP e DEP) risultavano essere presenti in quantità apprezzabili, con una maggiore rilevanza del DEHP.

La valutazione della rimozione degli esteri ftalici è stata effettuata secondo l'eq.8.

$$L = (C_0 - C_t) / C_0 * 100 \quad (\text{eq. 8})$$

con

L = valutazione della perdita degli esteri ftalici

C₀ = concentrazione degli esteri ftalici al tempo 0

C_t = concentrazione degli esteri ftalici al tempo t

Le concentrazioni (mg kg⁻¹) dei singoli esteri ftalici in funzione del tempo d'irradiazione sono riportate in Figura 25 a, mentre in Figura 25 b sono mostrate le percentuali di rimozione espresse.

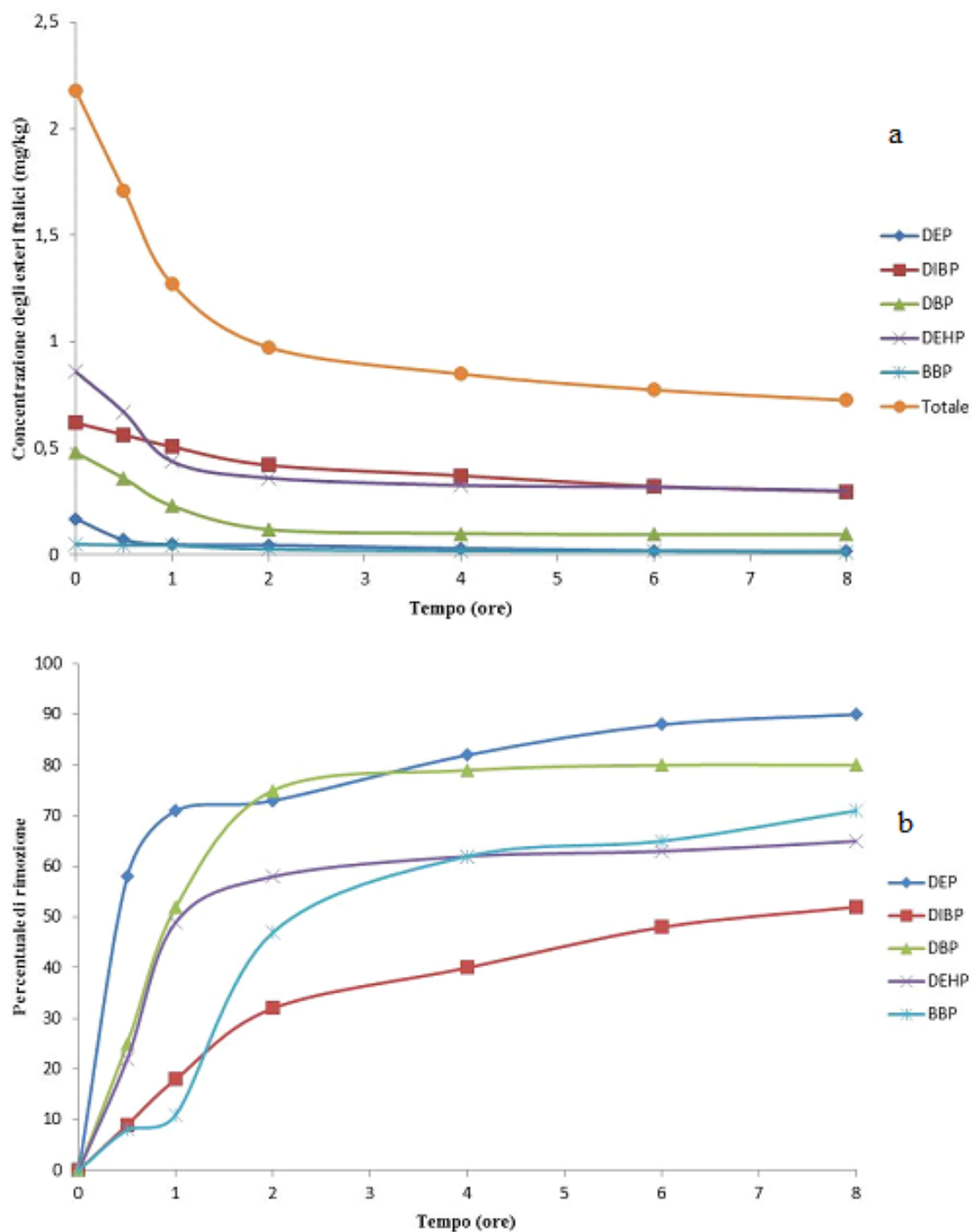


Figura 25. a) Concentrazione degli esteri ftalici al variare del tempo d'irradiazione;
 b) Rimozione percentuale degli esteri ftalici in funzione del tempo d'irradiazione

Da quanto si evince dai grafici di Figura 25, la diminuzione degli esteri ftalici, è abbastanza marcata nei primi 60 minuti d'irradiazione (dal 15 al 70 %) per poi continuare con velocità minore fino alle 8 ore, con una rimozione percentuale media del 68%.

Al fine di ipotizzare un possibile meccanismo di reazione, sono stati effettuati studi cinetici applicando un'equazione cinetica di pseudo primo ordine. I risultati relativi alla degradazione dei singoli esteri ftalici sono riportati in Tabella 16.

$$\ln C_0/C_t = kt \quad \text{eq.9}$$

Tabella 16. Parametri cinetici per la degradazione degli esteri ftalici mediante irradiazione diretta a 254 nm

Analita	k (h ⁻¹)	R	$t_{1/2}$
DEP	0.631	0.87	1.15
DiBP	0.221	0.99	2.20
DBP	0.737	0.99	1.00
DEHP	0.466	0.95	1.46
BBP	0.323	0.95	1.82
Totale	0.424	0.98	1.55

I dati riportati in Tabella 16 mostrano che il meccanismo cinetico di fotodegradazione degli esteri ftalici è di pseudo primo ordine. Tale dato è indice del fatto che solo la fotolisi diretta è responsabile della degradazione. Infatti, come riportato in letteratura, la fotodegradazione degli esteri ftalici mediante irradiazione diretta a 254 nm induce processi di fotodecarbossilazione, foto-idrossilazione, foto-dealchilazione e rottura dei legami C-O, C-C e O-alchile.

Da quanto è emerso dai dati sperimentali, è possibile ipotizzare la rimozione degli esteri ftalici da una matrice complessa, come la pittura murale, mediante irradiazione diretta a 254 nm. I risultati ottenuti sono di notevole importanza poiché, al fine di tutelare gli operatori addetti al restauro delle abitazioni, è possibile ipotizzare un'irradiazione superficiale delle pitture murali prima delle classiche procedure di restauro.

6.2.3 Processi fotocatalitici: sintesi e caratterizzazione delle sfere di alginato montmorillonite (MABs) e sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs)

Dall'analisi dei dati di letteratura [85] è emerso che, la montmorillonite, se sottoposta a un particolare processo di scambio cationico, riesce a inglobare ferro sotto forma di goethite (α -FeOOH), la quale risulta reattiva per la reazione di foto Fenton anche a pH neutri. Tale dato è stato preso come spunto per la prima fase del lavoro nell'ambito della Linea 2.2. In particolare ho cercato di supportare la montmorillonite modificata su un materiale biopolimerico al fine di valutare le proprietà fotocatalitiche in seguito a processo foto Fenton condotto sul 4- nitrofenolo scelto come inquinante modello da fotodegradare.

Per la modifica della montmorillonite, 5 g di montmorillonite K5 sono stati messi ad agitare per 4 ore a temperatura ambiente con 100 mL di una soluzione di $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ al 30 % in etanolo acqua (60:40 w/w). Trascorso tale tempo, il solido è stato separato mediante centrifugazione, lavato con acqua ed essiccato in stufa a 120 °C per 24 ore. La polvere così ottenuta presentava un aspetto fine di colore bruno.

Il secondo passo è stato dedicato alla sintesi delle diverse tipologie di sfere di alginato mediante lo "ionic gelation method"[84].

Per la sintesi delle diverse tipologie di sfere ibride di alginato montmorillonite (modificata o non modificata), 20 mL di una sospensione di montmorillonite al 8% è stata messa ad agitare per 2 ore con una soluzione acquosa di alginato al 4%, cioè fino a quando la sospensione appariva stabile. Trascorso tale tempo, mediante una pipetta, la sospensione è stata fatta gocciolare su 100 mL di una soluzione di CaCl_2 1 M. Immediatamente si è osservata la formazione di sfere di alginato, le quali sono state lasciate in agitazione nella medesima soluzione per 12 ore.

Le sfere così sintetizzate sono state caratterizzate mediante indagine FT-IR (Figura 26), mentre il contenuto di ferro totale e superficiale (Tabella 17) è stato determinato mediante assorbimento atomico con atomizzatore a fiamma.

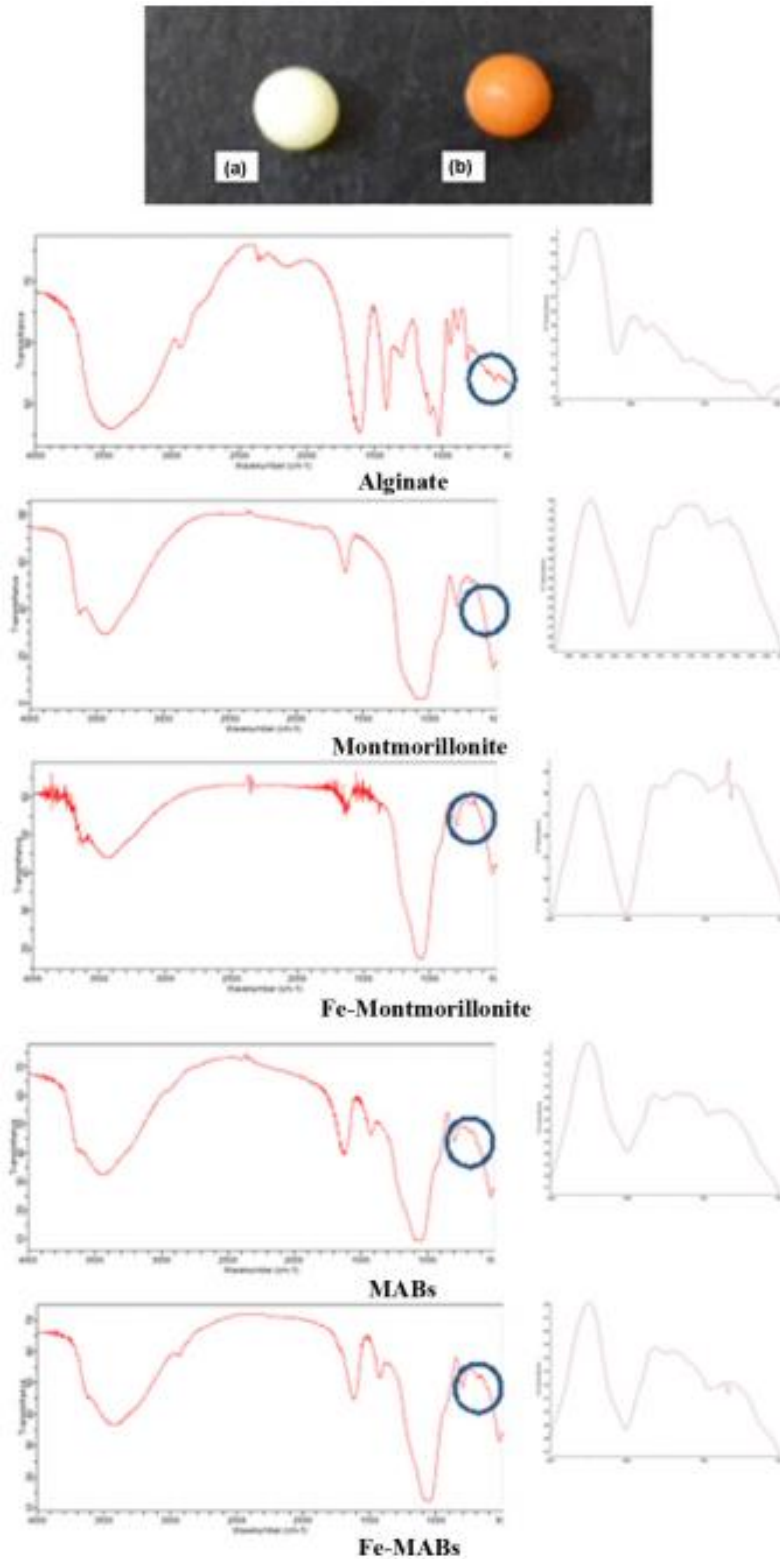


Figura 26. Sfere di alginato montmorillonite MABs (a). Sfere di alginato montmorillonite modificata Fe-MABs (b). Spettri FT-IR della montmorillonite (Mont), montmorillonite ferro arricchita (Fe-Mont), sfere ibride di alginato montmorillonite (MABs) e sfere ibride di alginato montmorillonite ferro arricchita (Fe-MABs).

Tabella 17. Caratterizzazione delle differenti tipologie di sfere

Parametri	50 MABs	50 Fe-MABs
Peso bagnato (mg)	2075 ± 3	2368 ± 3
Peso secco (mg)	192 ± 1	206 ± 1
Fe superficiale (mg)	<0.2	2.2 ± 0.1
Fe totale (mg)	0.4 ± 0.1	2.8 ± 0.1

Rispetto alle sfere ibride di alginato montmorillonite (MABs), le sfere ibride di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs) mostrano un significativo cambiamento di colore dal bianco al bruno (Figura 26). In entrambe le tipologie di sfere il contenuto di acqua era approssimativamente del 90 %, mentre differenze significative sono state evidenziate per il contenuto di ferro totale (13000 mg kg⁻¹ per le Fe-MABs e 2083 mg kg⁻¹ per le MABs) e superficiale (105000 mg kg⁻¹ per le Fe-MABs e <520 mg kg⁻¹ per le MABs). Differenze a livello molecolare sono state riscontrate mediante l'analisi FT-IR. Nel dettaglio le bande FT-IR sono state così assegnate: 3450 and 3631 cm⁻¹ corrispondente allo stretching OH relativo alle molecole d'acqua e ai legami Si-OH, Al-OH; 2900 cm⁻¹ corrispondente allo stretching C-H dell'alginato; 1623 and 1428 cm⁻¹ corrispondenti allo stretching simmetrico/asimmetrico del carbossilato; 1044, 623 and 523 cm⁻¹ relativi allo stretching Si-O in [SiO]⁴⁻ tetraedico; 916 cm⁻¹ attribuito alla vibrazione di bending del Al-Al-OH; 798 cm⁻¹ attribuito al Si-O in SiO₂; 669 cm⁻¹ corrispondente allo stretching Fe-OH come riportato in letteratura [85].

6.2.4 Studio di adsorbimento del 4-nitrofenolo

La seconda fase dello studio dei processi fotocatalitici è stata finalizzata allo studio dell'adsorbimento del 4-NP (scelto come inquinante modello) utilizzando le diverse sfere. Gli studi sono stati condotti in modalità batch, alla temperatura di 25 °C, a un valore di pH iniziale di 7.0 e con diverso tipo e numero di sfere.

I dati ottenuti mediante gli studi di adsorbimento sono rappresentati in Figura 27.

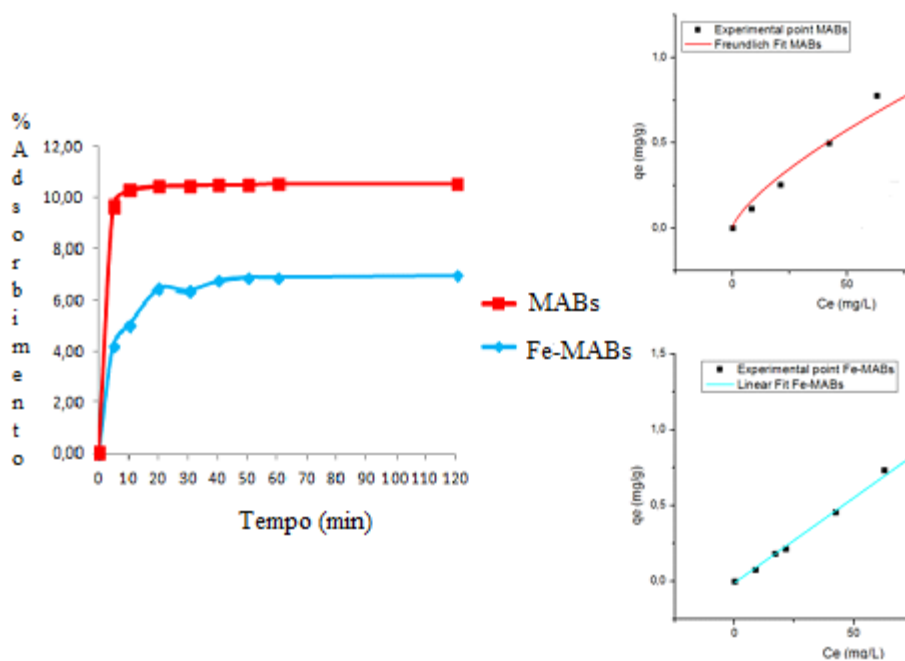


Figura 27. Cinetiche e isoterme di adsorbimento del 4-NP nelle differenti sfere di alginato montmorillonite (MABs) e alginato montmorillonite ferro arricchita (Fe-MABs).

Dagli studi di adsorbimento (Figura 27), è possibile evidenziare che l'adsorbimento, a parità di quantità di sfere utilizzate (peso secco), è maggiore per le MABs (MABs 10 % vs Fe-MABs 7%), ed inoltre, i processi responsabili dell'adsorbimento del 4-NP sulle diverse tipologie di sfere sono diversi (isoterma di adsorbimento di tipo Freundlich per le MABs, isoterma di adsorbimento di tipo lineare per le Fe-MABs). Di particolare importanza sono le cinetiche di adsorbimento che evidenziano come il processo di adsorbimento raggiunga l'equilibrio già nei primi 10 minuti.

6.2.5 Valutazioni delle proprietà fotocatalitiche delle MABs e delle Fe-MABs e valutazione delle migliori condizioni di fotodegradazione

La terza fase della linea 2.2 si è basata sulla valutazione delle proprietà foto catalitiche delle diverse tipologie di sfere sintetizzate e sull'ottimizzazione delle procedure di degradazione. Tale valutazione è stata effettuata in termini di variazione delle concentrazioni di nitrofenolo, variazione di perossido di idrogeno, variazione del valore di pH e identificazione dei prodotti di degradazione fotochimica del nitrofenolo.

Nel dettaglio, le valutazioni delle proprietà foto catalitiche sono state condotte separatamente utilizzando 25 sfere di diversa tipologia (0.096 g MABs peso secco) (0.103 g Fe-MABs peso secco), in soluzioni aventi un valore di pH iniziale di 7.0 ± 0.1 , e utilizzando un simulatore solare Suntest CPS.

Le variazioni di 4-NP, H_2O_2 e pH sono riportate in Figura 28 a, b, c.

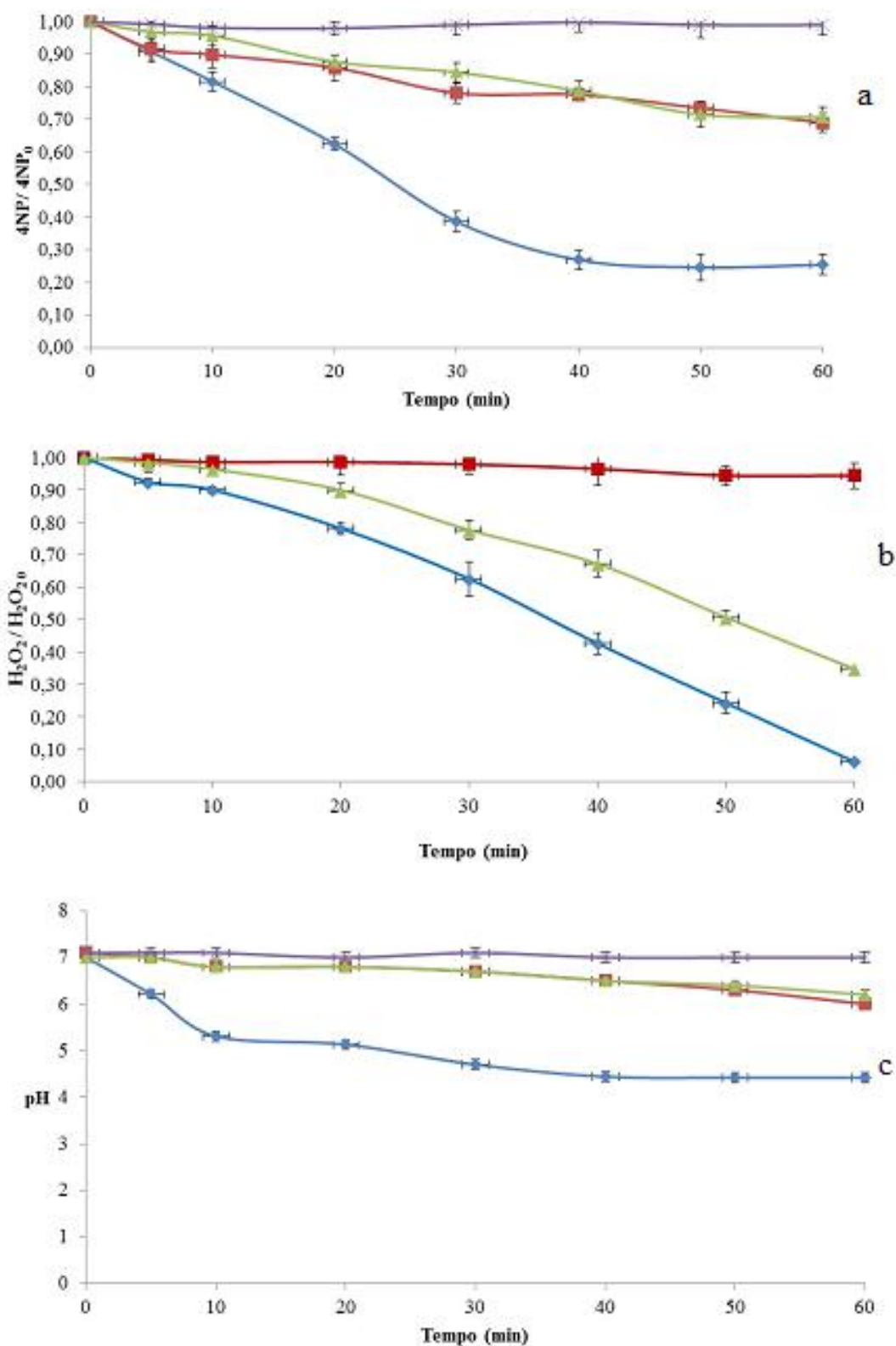


Figura 28. Variazioni di 4-NP (a), H₂O₂ (b) e pH (c) nelle diverse condizioni sperimentali: Fe-MABs + hv + H₂O₂ linea blu, MABs + hv + H₂O₂ linea verde, hv + H₂O₂ linea rossa, hv linea viola.

In accordo con le mie aspettative, il nitrofenolo è stabile se sottoposto alla sola irradiazione solare, mentre in presenza di H₂O₂ e irradiazione solare, è possibile osservare una diminuzione della concentrazione. In queste condizioni, la rimozione del nitrofenolo può essere attribuita a due meccanismi: il primo, riguarda la reazione tra nitrofenolo e ·OH generati dalla rottura omolitica del H₂O₂; il secondo, è relativo alla reazione tra nitrofenolo e le speci **ROS**, le quali sono generate da processi di trasferimento energetico di fotosensibilizzazione dovuti al nitrofenolo deprotonato, il quale assorbe radiazioni di lunghezze d'onda a 418 nm [86]. Tuttavia, considerando le concentrazioni di nitrofenolo e H₂O₂ utilizzate, e i rispettivi valori dei coefficienti di estinzione molare (4-NP a 410 nm ; ε = 16.800 M⁻¹ cm⁻¹; H₂O₂ a 310 nm ε = 0.7 M⁻¹ cm⁻¹), è possibile ipotizzare che il meccanismo di rimozione del 4-NP sia imputabile, in maniera predominante, alle specie **ROS** generate in seguito al processo di trasferimento energetico. Da evidenziare inoltre che, lo stesso andamento di rimozione del 4-NP è stato osservato aggiungendo al sistema hv + H₂O₂ le sfere di alginato montmorillonite (MABs). Presumibilmente, l'effetto dell'adsorbimento delle MABs è stato compensato dall'interferenza delle stesse sfere sia per la riduzione dell'intensità luminosa sulla superficie sia per una diminuzione dell'H₂O₂ imputabile alla presenza di alginato, sostanza organica facilmente ossidabile dalle specie radicaliche ·OH e ·O₂H.

Per quanto concerne il sistema Fe-MABs + hv + H₂O₂, una maggiore rimozione del nitrofenolo è stata osservata in concomitanza con il maggior consumo di perossido d'idrogeno e una netta variazione del pH. Quest'ultima è attribuibile al fatto che i prodotti derivanti dalla degradazione del nitrofenolo, i quali sono stati identificati mediante HPLC UV-Vis, hanno caratteristiche acide.

Al fine di individuare l'effettivo processo responsabile della degradazione del nitrofenolo (Fenton omogeneo- Fenton eterogeneo), alcune considerazioni sono state fatte in merito.

Tenendo presente che il processo di rimozione del nitrofenolo è dovuto a tre contributi (adsorbimento, fotolisi mediante meccanismi di sensibilizzazione e reazione di Fenton), ho ricavato il contributo di ogni singolo processo utilizzando le equazioni da 10 a 13.

$$\text{ads mol 4-NP}_t = \text{mol 4-NP}_0 - \text{mol 4-NP}_t \quad \text{eq.10}$$

$$\text{ads mol 4-NP}^{\text{HPD}}_t \approx \text{ads mol 4-NP}_t \quad \text{eq.11}$$

$$\text{PF mol 4-NP}_t = \text{mol 4-NP}_0 - \text{mol 4-NP}_t - \text{ads mol 4-NP}_t - \text{non-PF mol 4-NP}^{\text{HPD}} \quad \text{eq.12}$$

Con:

ads mol 4-NP_t = moli di 4-NP adsorbite

mol 4-NP₀ = moli di 4-NP al tempo iniziale

mol 4-NP_t = moli di 4-NP al tempo t

ads mol 4-NP^{HPD}_t = moli di 4-NP adsorbite durante il processo foto Fenton eterogeneo

PF mol 4-NP_t = moli di 4-NP relative al processo foto Fenton eterogeneo

non-PF mol 4-NP^{HPD} = moli di 4-NP degradate durante il processo non foto Fenton eterogeneo

Dal momento che gli studi di adsorbimento hanno evidenziato il raggiungimento dell'equilibrio già nei primi 10 minuti, è presumibile che, lo stesso comportamento avvenga durante gli esperimenti di fotodegradazione, ed è quindi possibile assumere, con una cauta approssimazione, che il numero di molecole adsorbite durante il processo di foto-Fenton eterogeneo sia uguale a quello relativo al solo processo di adsorbimento. Considerando che, il 4-NP è stabile se sottoposto alla sola irradiazione, è possibile affermare che il contributo non foto Fenton deriva esclusivamente dal processo di sensibilizzazione. Questo contributo può essere stimato sottraendo al totale della rimozione, il contributo dell'adsorbimento delle MABs. Tale contributo può essere ritenuto simile sia per le MABs che per le Fe-MABs. Da queste considerazioni ho determinato il contributo della degradazione dovuta a un meccanismo di tipo Fenton (eq. 13).

$$\mathbf{PF\ mol\ 4-NP_t = mol\ 4-NP_0 - mol\ 4-NP_t - ads\ mol\ 4-NP_t - non-PF\ mol\ 4-NP^{HPD}} \quad \mathbf{eq.13}$$

Dai valori ricavati è possibile comparare i dati di rimozione del 4-NP utilizzando le due diverse tipologie di sferette, ed i risultati sono riportati in Figura 29.

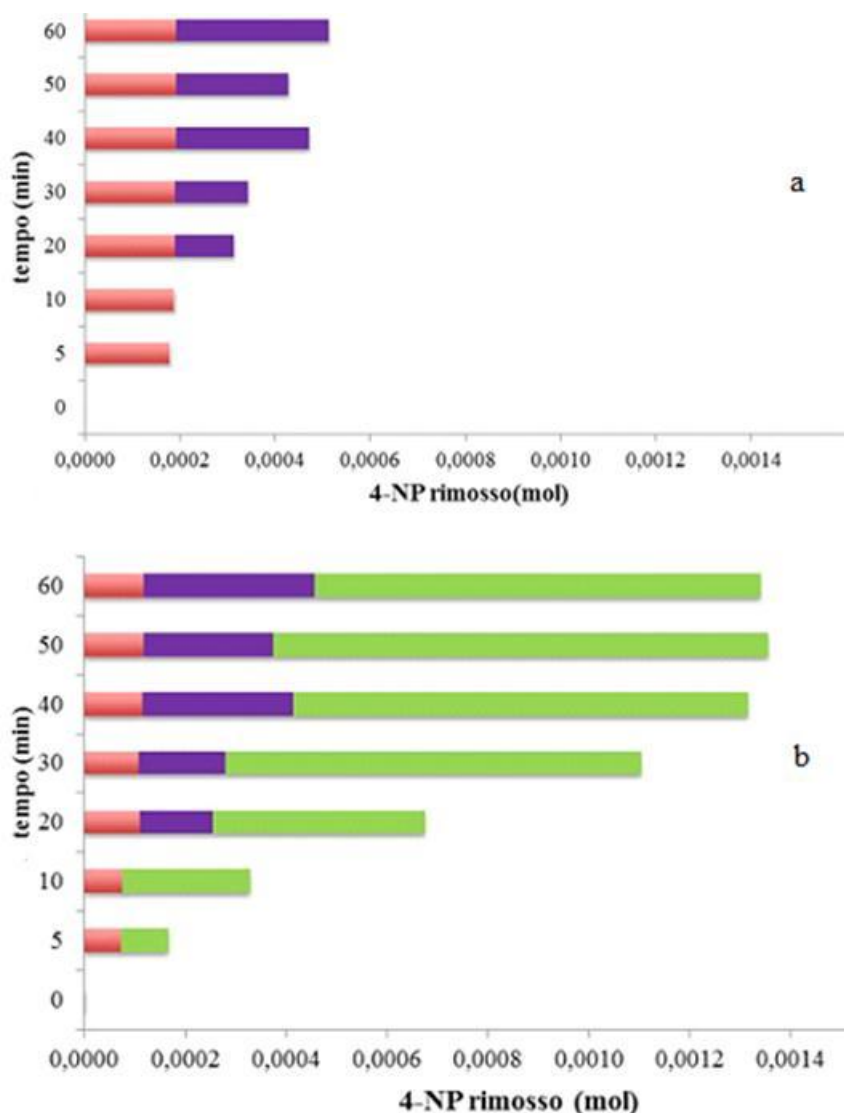


Figura 29. Comparazione dei diversi processi nella degradazione del 4-NP utilizzando le diverse tipologie di sferette MABs (a) e Fe-MABs (b) come supporto nella reazione di foto-Fenton: rosso adsorbimento; viola fotodegradazione diretta; verde foto Fenton

Dal grafico di Figura 29 è possibile evidenziare che la rimozione del 4-NP è maggiore nel caso in cui si utilizzano le sfere di alginato montmorillonite ferro arricchita (Fe-MABs). Inoltre, nel caso delle Fe-MABs, già nei primi 5 minuti di reazione, è possibile evidenziare come il processo di rimozione dovuto a un meccanismo di tipo foto Fenton sia già attivo.

Al fine di avere un'ulteriore conferma sul meccanismo di degradazione, è stato condotto uno studio cinetico. In particolare, riportando in un grafico $\ln(\text{PF}[4\text{-NP}]_t)$ vs t si è ottenuta una correlazione di tipo lineare ($R^2 = 0.966$) che conferma un meccanismo cinetico di primo ordine con un valore di costante cinetica di $k_{\text{PF}} = 0.019 \pm 0.002$ (min^{-1}).

In teoria, il meccanismo di degradazione potrebbe essere imputabile a meccanismi di foto Fenton omogenei ed eterogenei. In letteratura [87], in condizioni simili a quelle sperimentali testate, per la degradazione del 4-NP mediante foto Fenton è riportata una costante di $(k_{PF}(\text{sln}) = 0.023 \text{ min}^{-1})$. Considerando che, nel caso sperimentale, il meccanismo di degradazione di tipo Fenton è attivo già nei primi 5 minuti, ovvero quando la concentrazione di ferro in soluzione è molto bassa ($< 0.2 \text{ ppm}$ Figura 30) e il valore di pH è tale da provocare la formazione di idrossidi di ferro poco solubili (> 5.5 Figura 28), è possibile affermare, con ragionevole certezza, che il meccanismo coinvolto nella degradazione del 4-NP sia di tipo foto-Fenton eterogeneo. Infine, allo scopo di ottimizzare la procedura di degradazione, sono stati condotti studi inerenti la scelta delle migliori quantità di foto-catalizzatore e di perossido d'idrogeno da utilizzare.

Quindi, oltre a valutare l'efficienza di rimozione del nitrofenolo, ho monitorato sia il ferro rilasciato in soluzione al variare delle quantità di foto-catalizzatore e del tempo d'irradiazione (Figura 30), sia la quantità di perossido d'idrogeno e cicli di riutilizzo del foto-catalizzatore Tabelle 18, 19 e 20.

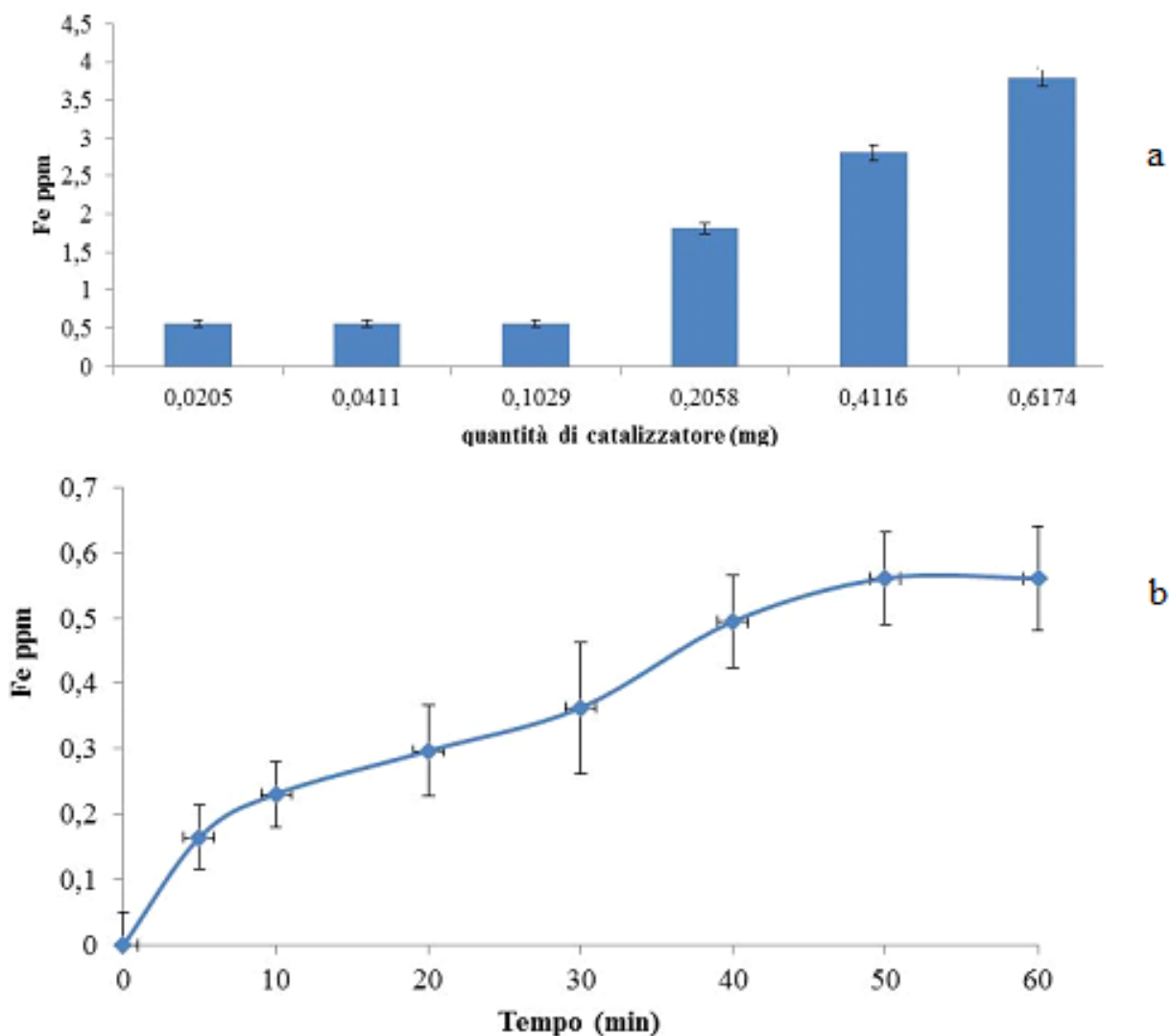


Figura 30. Concentrazioni di ferro in soluzione al variare delle quantità di foto-catalizzatore (a) e nel tempo d'irradiazione (b) utilizzando 25 Fe-MABs a valori di: $\text{pH}_0 = 7.0$, $[\text{4-NP}]_0 = 2.8 \text{ mM}$ (10 ppm), $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 0.176 \text{ M}$ (150 ppm)

Tabella18. Rimozione percentuale del 4-NP, e ferro rilasciato al variare della quantità di foto-catalizzatore Fe-MABs a valori di: $\text{pH}_0 = 7.0$, $[\text{4-NP}]_0 = 2.8 \text{ mM}$ (10 ppm), $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 0.176 \text{ M}$ (150 ppm)

[Fe-MABs] (g/L)	%4-NP Degradato ($\pm 1\%$)	[Fe] mg/L
0.8	23	< 0.07
1.6	55	0.15
4.0	75	0.23
8.0	60	0.30
16.0	54	0.36
24.0	45	0.50

Tabella19. Rimozione percentuale del 4-NP, e ferro rilasciato al variare della concentrazione di H₂O₂ utilizzando 25 Fe-MABs a valori di pH₀ = 7.0, [4-NP]₀ = 2.8 mM (10 ppm)

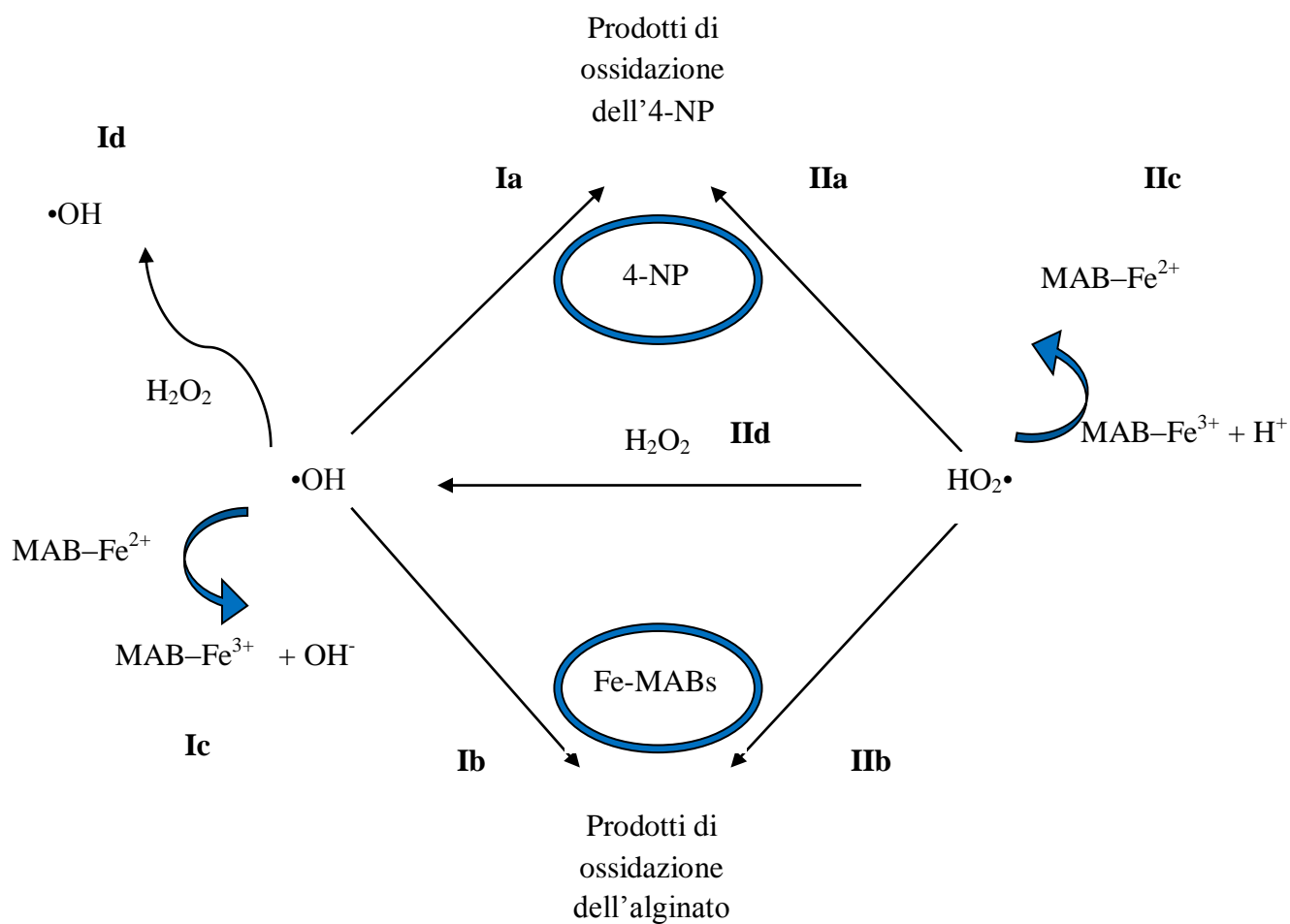
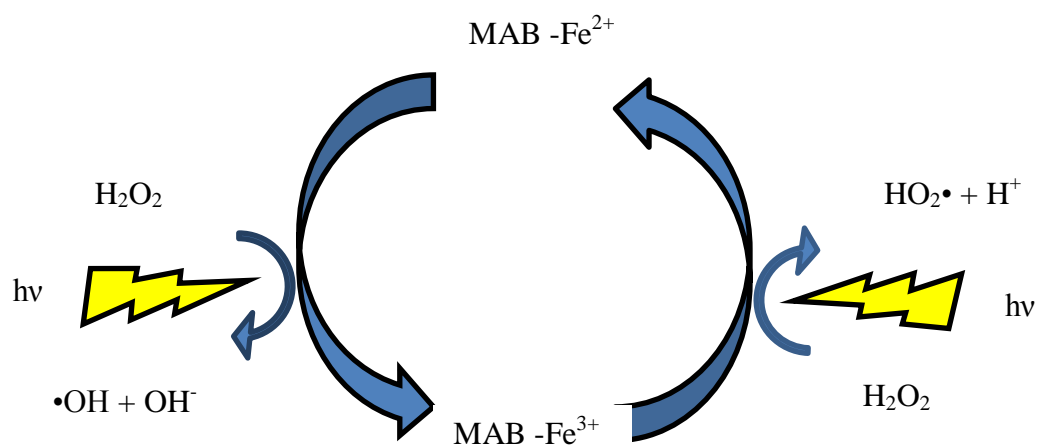
[H ₂ O ₂] (mg/L)	%4-NP Degradato (±1%)	[Fe] mg/L
50	30	0.50
100	55	0.56
150	75	0.56
200	77	0.96
250	88	1.29
500	100	5.25

Tabella20. Rimozione percentuale del 4-NP, e ferro rilasciato a vari cicli di riciclaggio utilizzando 25 Fe-MABs a valori di: pH₀ = 7.0, [4-NP]₀ = 2.8 mM (10 ppm), [H₂O₂]₀ = 0.176 M (150 ppm)

Cicli	%4-NP Degradato	[Fe] mg/L
I	75	0.56
II	56	1.06
III	56	1.39

Delle Figura 30 è possibile affermare che, le condizioni ottimali per la di rimozione dei 4-NP, anche in termini di consumo di H₂O₂ e ferro rilasciato, sono state ottenute utilizzando una quantità di catalizzatore di 4.0 g L⁻¹ e una concentrazione di H₂O₂ di 150 ppm.

Tale andamento può essere spiegato tenendo conto delle reazioni competitive riportate nello Schema 2.



Schema 2. Reazioni coinvolte durante HFP-Fe-MABs

I radicali (**ROS**) prodotti mediante le reazioni riportate nello Schema 2 possono:

- ✓ reagire con il 4-NP formando i prodotti di reazione del 4-NP (Ia; IIa)
- ✓ reagire con l'alginato formando i prodotti di ossidazione dell'alginato (Ib; IIb)
- ✓ reagire con il ferro supportato sul foto-catalizzatore con conseguente produzione di specie non ossidanti (Ic; IIc)
- ✓ rigenerare altri radicali in seguito alla reazione con H_2O_2 (Id; IIId) (reazione non veloce)

E' evidente che l'aumento delle quantità di foto-catalizzatore e di perossido d'idrogeno, provocano uno "spegnimento" della reazione (quenching) mediante un processo di "annientamento" dei radicali (scavenge).

Per tale motivo, la scelta migliore, ai fini della degradazione, dovrebbe essere orientata per l'utilizzo di Fe-MABs (4 g L^{-1}) e H_2O_2 (150 ppm).

6.3 Inattivazione di *Escherichia coli* nella drinking water mediante reazione di foto Fenton su sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs)

Considerata l'attività fotocatalitica delle sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs) per la reazione di foto-Fenton, ho pensato di investigare sul possibile utilizzo di tale fotocatalizzatore per l'inattivazione batterica di *Escherichia coli* nella *drinking water* mediante processo foto-Fenton.

6.3.1 Preparazione delle soluzioni madri

Negli studi d'inattivazione batterica, la preparazione della soluzione madre riveste un ruolo di fondamentale importanza poiché i batteri, al contrario dei reattivi chimici, sono soggetti alla possibile inattivazione causata da meccanismi di "stress". A tale proposito, la preparazione delle soluzioni madri è uno stadio sensibile a cui bisogna prestare la massima attenzione. Le preparazioni delle soluzioni madri sulle quali sono stati condotti gli esperimenti sono di seguito riportate.

Gli standard di batteri di partenza sono stati conservati a - 20 °C in fiale contenenti il 20% di glicerolo. Pre-culture batteriche sono state preparate per ogni serie di esperimenti strisciando lo standard di batteri in capsule di Petri contenenti un gel di Agar e incubandoli successivamente in piastre per 24 ore a 37 ° C (Heraeus Incubatore B 5060 EK-CO2, Heraeus Instruments, Hanau, Germania). Dalle colonie crescenti, una colonia è stata riplaccata su un'altra capsula di Petri e incubata nuovamente per 24 ore a 37 °C.

I batteri della soluzione madre sono stati mantenuti in una soluzione Luria-Bertani (LB) (10 g Bacto™ triptone, 5 g di estratto di lievito, 10 g di NaCl per litro). Al fine di preparare il pellet batterico per gli esperimenti di foto-inattivazione, una colonia è stata scelta dalla pre-culture e inoculata in un portacampione Eppendorf sterile contenente 5 mL di brodo LB. Il portacampione è stato incubato a 37 °C e 180 giri al minuto in un incubatore shaker (Minitron AI 71, INFORS AG, Bottmingen, Svizzera). Dopo 8 ore, le cellule sono state diluite (1% v/v) in dei Falcon con 25 mL di brodo LB ed incubate a 37 °C per 15 ore nell'incubatore (Heraeus B 5060 EK-CO2, Heraeus strumenti, Hanau, Germania). La crescita batterica è stata monitorata mediante misure di densità ottica a 600 nm. I batteri sono stati centrifugati per 15 minuti a 5000 rpm e 4 °C in una centrifuga universale (HERMLE Z 323 K, Rengli Laboratorio Systems, Renens, Svizzera). Il pellet batterico è stato risospeso e lavato per 15 minuti nella centrifuga. Il lavaggio è stato ripetuto due volte per 5 min e il pellet finale è stato risospeso ad un volume di 25 mL di soluzione salina. Questa procedura ha determinato un

pellet batterico di circa $1,0 * 10^9$ CFU mL⁻¹ (Colonie Formanti Unità). I Lavaggi e le risospensioni sono state fatte sia in acqua Milli-Q sterilizzata, sia in una soluzione salina (NaCl/KCl (8 g e 0,8 g per litro) contenente Bacto TM Trypton. All'inizio di ogni esperimento, i reattori contenenti la sospensione batterica, sono stati collocati al buio a 25 °C sotto agitazione magnetica per almeno 1 ora, in modo da permettere ai batteri di adattarsi alla nuova matrice. I reagenti sono stati aggiunti dopo la stabilizzazione della popolazione e prima di avviare le procedure d'irradiazione

6.3.2 Valutazioni delle proprietà fotocatalitiche delle Fe-MABs

Gli studi d'inattivazione batterica sono stati condotti in differenti condizioni in soluzioni saline a pH 7 con una concentrazione batterica iniziale di $1,0 * 10^7$ CFU mL⁻¹ scelta come concentrazione reale di acqua contaminata [76]. Inoltre, considerando che basse concentrazioni di perossido idrogeno non sono abili ad avviare processi d'inattivazione batterica [76], la valutazione delle proprietà fotocatalitiche delle Fe-MABs sono state stimate utilizzando 10 ppm di H₂O₂.

In Figura 31 sono riportati gli andamenti d'inattivazione batterica in funzione del tempo secondo le condizioni sperimentali. Nel dettaglio i sistemi oggetto di studio sono di seguito riportati:

- Fe-MABs
- Fe-MABs + hv
- Fe-MABs + H₂O₂
- Fe-MABs + H₂O₂ + hv
- hv + H₂O₂
- hv

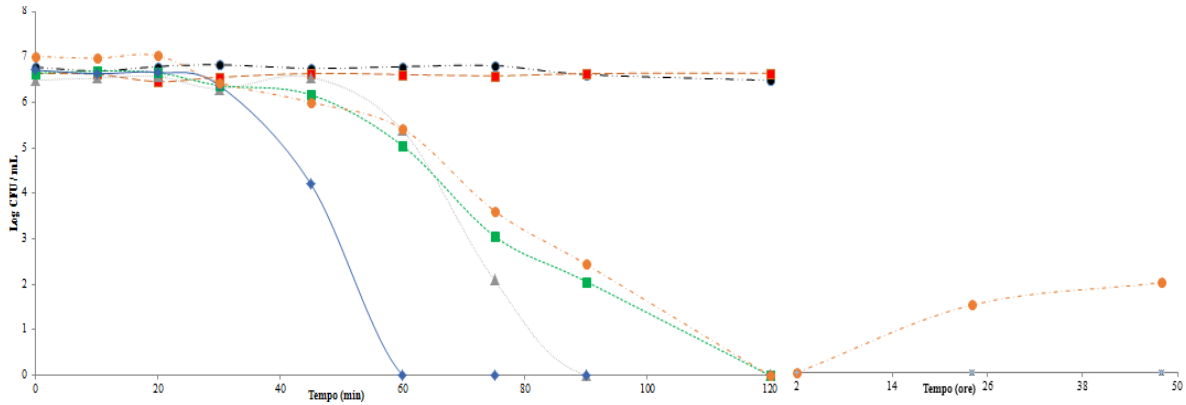


Figura 31. Inattivazione di *E. coli* (sinistra) e ricrescita (destra) in campioni di acqua trattati secondo le diverse condizioni sperimentali al pH iniziale di 7.0

- i) ●(linea nera) 0.23 g/ L di Fe-MABs; ii) ■(linea rossa) 0.23 g L⁻¹di Fe-MABs + H₂O₂ 10 ppm; iii)■(linea verde) 0.23 g L⁻¹ di Fe-MABs + hv; iv) ▲(linea grigia) hv + H₂O₂ 10 ppm; v) ◆(linea blu) 0.23 g L⁻¹ di Fe-MABs + hv + H₂O₂ 10 ppm; ●(linea arancione)hv.

Da come si evince dalla Figura 31, nessuna inattivazione batterica è stata evidenziata al buio in presenza di Fe-MABs e Fe-MABs + H₂O₂. Inoltre, inattivazioni con grado crescente sono state evidenziate negli esperimenti hv, H₂O₂ + hv, Fe-MABs + hv, H₂O₂ + hv e Fe-MABs + H₂O₂ + hv. Tale andamento indica che il sistema Fe-MABs + H₂O₂ + hv è attivo per l'inattivazione batterica.

Al fine di individuare l'effettivo processo responsabile dell'inattivazione batterica (Fenton eterogenea, irradiazione diretta, adsorbimento), alcune considerazioni sono state fatte in merito.

Tenendo presente che il processo d'inattivazione batterica potrebbe essere dovuto a 4 contributi (adsorbimento, fotolisi diretta, contributo non foto Fenton e reazione di Fenton eterogenea), ho ricavato il contributo di ogni singolo processo utilizzando l'equazioni da 13 a 15.

$$ads E.coli_t = E.coli_{t0} - E.coli_t^{DF + Fe-MABs} \quad \text{eq. 13}$$

$$adsE.coli_t^{HPF} \approx adsE.coli_t^{Fe-MABs} \quad \text{eq.14}$$

con

$ads E.coli_t = E. coli$ adsorbiti al tempo t

$E.coli_t^{DF + Fe-MABs} = E coli$ rivelati nella dark Fenton al tempo t

$ads E.coli_t^{HPF} = E. coli$ adsorbiti al tempo t nella foto Fenton eterogenea

Utilizzando le approssimazioni delle eq. 13 e 14, è possibile ricavare il contributo dell'inattivazione degli *E. coli* dovuti al processo di foto Fenton in fase eterogenea utilizzando le Fe-MABs ($E.coli_t^{HPF}$) attraverso l'eq. 15.

$$E.coli_t = E.coli_{t0} - ads E.coli_t^{HPF} - non - FPE.coli_t - DI E.coli_t - E.coli_t^{HPF-Fe-MABs} \quad \text{eq.15}$$

con

$non - FPE.coli_t = E. coli$ inattivati attraverso meccanismi non foto Fenton ($H_2O_2 + hv$)

$DI E.coli_t = E. coli$ inattivati attraverso irradiazione diretta (hv)

$E.coli_t^{HPF-Fe-MABs} = E. coli$ inattivati attraverso foto Fenton eterogenea in presenza di Fe-MABs

I contributi dei singoli processi per l'inattivazione degli *E. coli* attraverso processi di foto Fenton eterogenea in presenza di Fe-MABs, sono riportati in Figura 32.

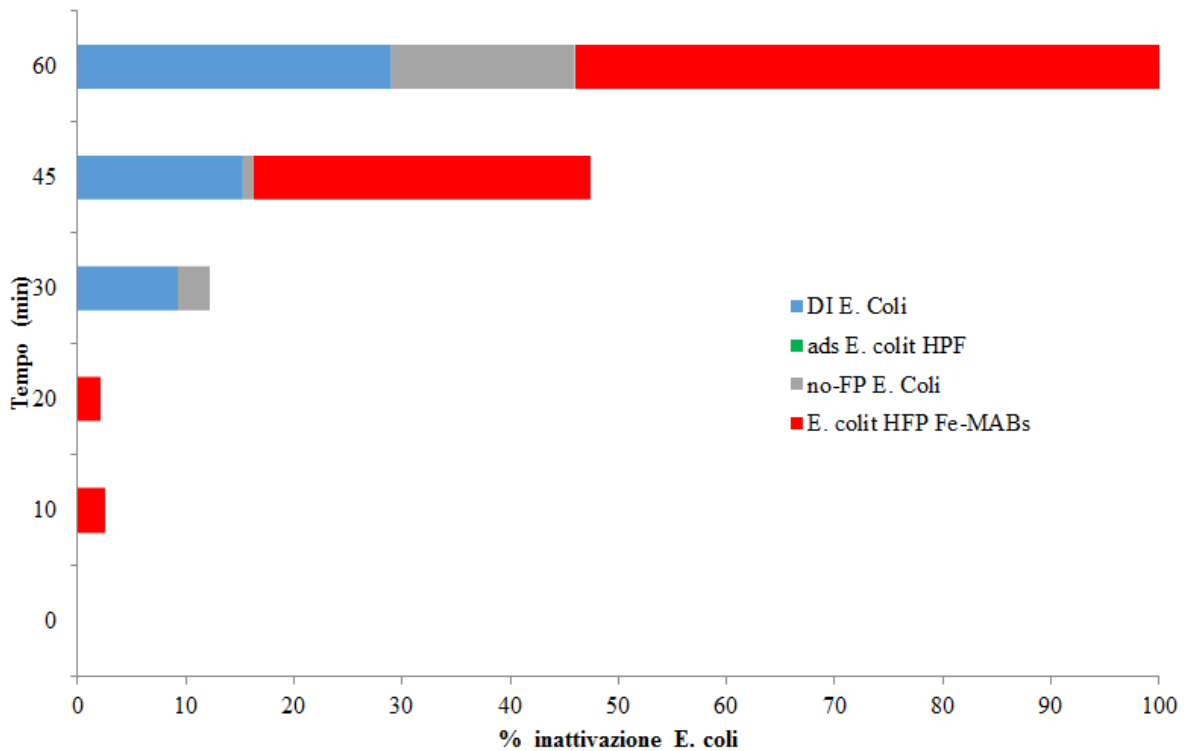


Figura 32. Contributo dei singoli processi per l'inattivazione degli *E. coli* nel sistema Fe-MABs + $H_2O_2 + hv$

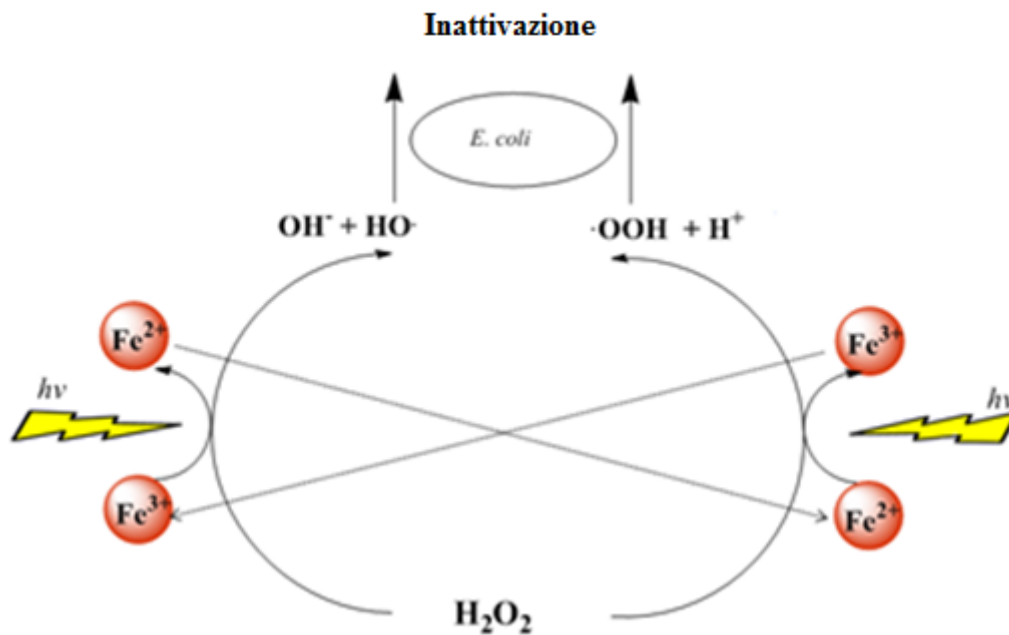
Dal grafico di Figura 32 è possibile evidenziare che il meccanismo di Fenton eterogeneo, derivante dall'utilizzo delle Fe-MABs, è parzialmente attivo già nei primi 10 minuti, e che

contribuisce in maniera determinante all'inattivazione batterica dopo 45 minuti con un contributo percentuale dell'intero processo d'inattivazione pari a circa il 50 %.

I processi maggiormente coinvolti nell'inattivazione batterica e le reazioni competitive nella reazione foto Fenton di tipo eterogeneo sono riportati nello Schema 3.

$\text{HO}_2 \cdot + E. coli \Rightarrow$ inattivazione di *E. coli* attraverso il danneggiamento della membrana

$\text{HO} \cdot + E. coli \Rightarrow$ inattivazione di *E. coli* attraverso il danneggiamento della membrana



Reazioni competitive

$\text{HO}_2 \cdot + \text{Fe-MABs} \Rightarrow$ processi di ossidazione dell'alginato

$\text{HO} \cdot + \text{Fe-MABs} \Rightarrow$ processi di ossidazione dell'alginato

$\text{HO} \cdot + \text{H}_2\text{O}_2 \Rightarrow \text{HO}_2 \cdot + \text{H}_2\text{O}$

$\text{HO} \cdot + \text{HO}_2 \cdot \Rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

$\text{HO} \cdot + \text{HO} \cdot \Rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Schema 3. Reazioni coinvolte nel meccanismo di foto Fenton eterogeneo utilizzando le Fe-MABs

La disinfezione dell'acqua avviene attraverso le reazioni della componente batterica con i ROS ($\text{HO}_2 \cdot$ e $\text{HO} \cdot$) generati attraverso la reazione del perossido d'idrogeno con le Fe-MABs

in presenza di luce. Nel dettaglio, i radicali possono avviare l'inattivazione batterica mediante il danneggiamento della membrana lipidica dei batteri, con conseguenza attivazione di meccanismi intracellulari deleteri per il batterio stesso.

Tuttavia, un eccesso di **ROS**, può provocare reazioni competitive che diminuiscono il grado d'inattivazione batterica. A tale proposito è utile evidenziare le migliori condizioni operative.

6.3.3 Ottimizzazione delle procedure d'inattivazione

Evidenziate le proprietà fotocatalitiche delle Fe-MABs per la reazione di foto Fenton in fase eterogenea, la fase successiva è stata incentrata verso la ricerca delle migliori condizioni d'inattivazione in termini di quantità del catalizzatore. A tale proposito ho condotto esperimenti di foto inattivazione variando la quantità di foto-catalizzatore da 0,23 a 0,90 g L⁻¹ e i risultati sono riportati in Figura 33.

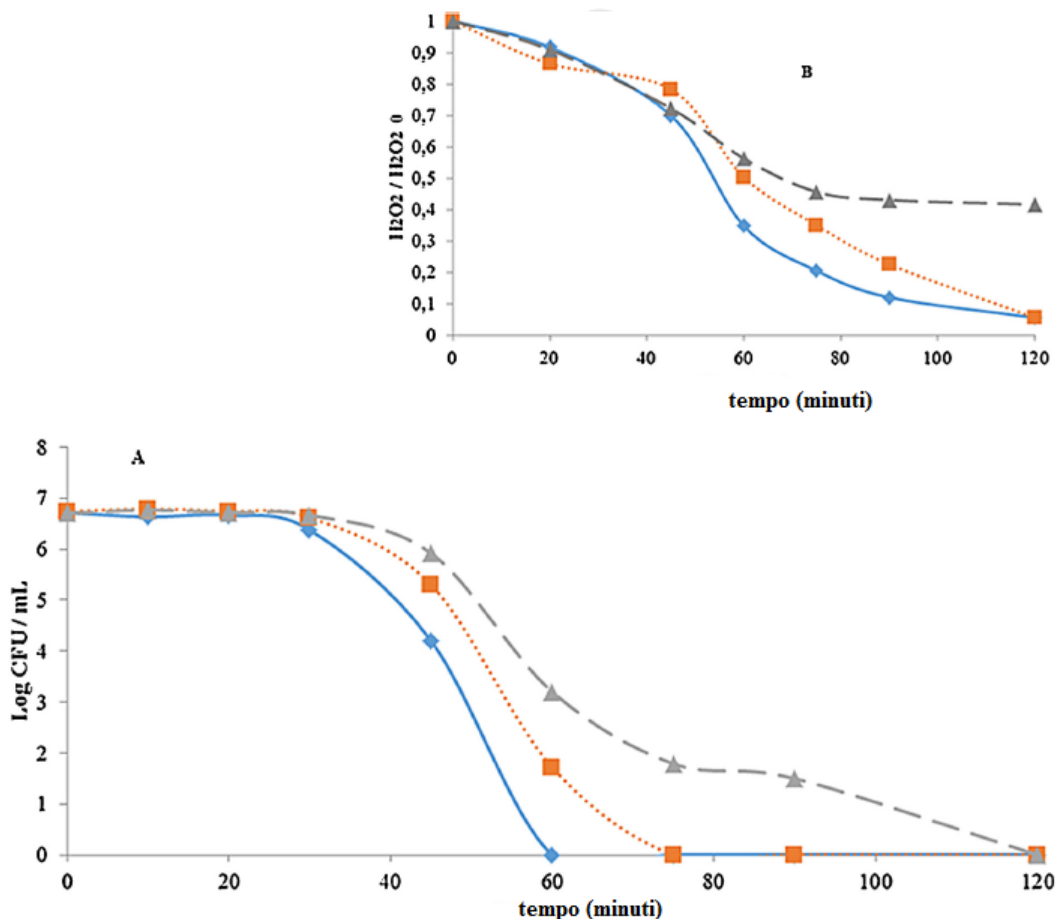


Figura 33. Inattivazione di *E.coli* (A) e consumo di perossido di idrogeno (B) utilizzando diverse quantità di Fe-MABs al pH iniziale di 7.0 con H₂O₂ 10 ppm ◆ (linea blu) 0.23 g L⁻¹ di Fe-MABs; ■ (linea arancione) 0.45 g L⁻¹ di Fe-MABs; ▲ (linea grigia) 0.90 g L⁻¹ di Fe-MABs

Dalla Figura 33 si evince che la migliore degradazione, sia in termini di inattivazione batterica sia in termini di consumo di perossido di idrogeno, è ottenuta utilizzando una quantità di Fe-MABs in dose di 0.23 g L^{-1} . Tale risultato è presumibilmente imputabile sia alla diminuzione di luce irradiante all'aumentare della quantità di sfere in soluzione, sia ad un aumento dei meccanismi di tipo competitivi (ossidazione dell'alginato) in seguito all'aumento della quantità delle Fe-MABs in soluzione.

6.3.4 Studi di riciclaggio

Nelle reazioni di foto Fenton, la possibilità del riutilizzo del fotocatalizzatore, è un parametro di importanza rilevante. A tale proposito ho condotto delle prove di inattivazione batterica in funzione dei cicli di riciclaggio delle Fe-MABs e i risultati sono riportati in Figura 34.

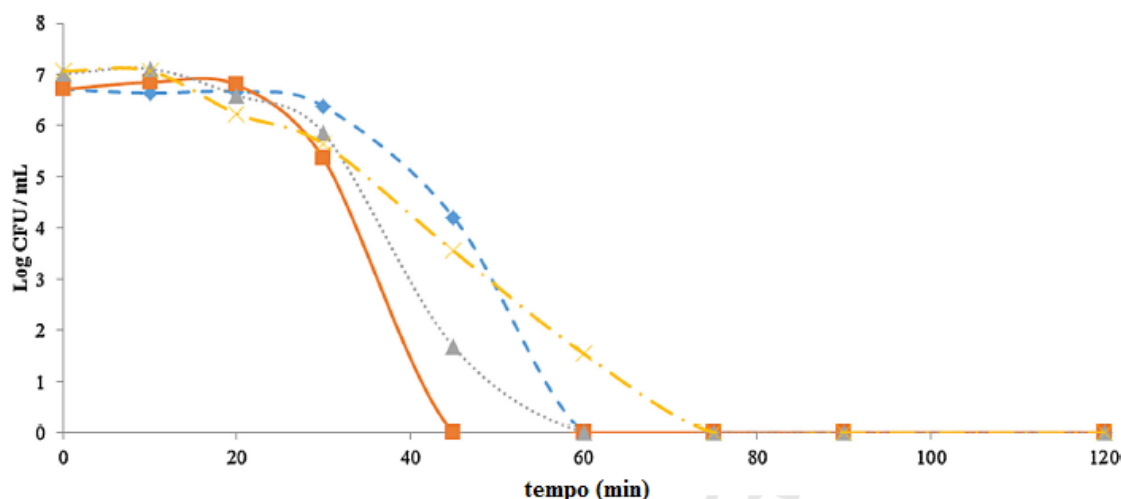


Figura 34. Inattivazione di *E. coli* in funzione dei cicli di riciclaggio utilizzando 5 Fe-MABs + hv, H_2O_2 10 ppm al pH iniziale di 7.0 ◆ (linea blu) I ciclo; ■ (linea arancione) II ciclo; ▲ (linea grigia) III ciclo; X (linea gialla) IV ciclo

Da come è possibile notare dal grafico di Figura 34, i migliori risultati di inattivazione batterica si ottengono nel secondo ciclo di riutilizzo per poi proseguire nell'ordine III, I e IV. Tale andamento può essere razionalizzato a seguito di una maggiore esposizione della montmorillonite modificata dopo il primo ciclo di utilizzo, la quale aumenterebbe la superficie cataliticamente attiva con un conseguente aumento delle proprietà fotocatalitiche delle Fe-MABs.

Infine, allo scopo di evidenziare se il processo d'inattivazione di foto Fenton fosse di tipo eterogeneo, ho monitorato il valore di pH iniziale e finale e la concentrazione di ferro in soluzione per ogni ciclo di riciclaggio, e i risultati sono riportati in Tabella 21.

Tabella 21. pH iniziale e finale, Fe rilasciato in soluzione durante il riciclaggio di 5 Fe-MABs in presenza di $h\nu$, H_2O_2 10 ppm

Tempo min	Ferro rilasciato in soluzione e valori di pH							
	I		II		III		IV	
	Fe (ppm)	pH	Fe (ppm)	pH	Fe (ppm)	pH	Fe (ppm)	pH
0	0.000	7.0	0.012	7.0	0.013	7.0	0.001	7.0
30	0.004		0.041		0.034		0.011	
60	0.011		0.047		0.061		0.020	
120	0.070	5.1	0.054	5.4	0.084	5.9	0.008	7.0

Dalla Tabella 21 si evince che, il valore di pH nella seconda prova di riciclo ha un valore di 5.4, valore per il quale la minima quantità di ferro rilasciata in soluzione si dovrebbe trovare sottoforma di idrossido e quindi precipitare. Per tale motivo posso affermare che la reazione di inattivazione batterica mediante processo foto Fenton utilizzando le Fe-MABs come fotocatalizzatore è di tipo eterogeneo.

7.0 Conclusioni

Durante il periodo del mio di dottorato ho studiato e trattato due differenti tematiche connesse alla chimica analitica e ambientale, ovvero la purificazione di estratti ai fini analitici e il trattamento di matrici contaminate.

In merito alla tematica del trattamento di estratti organici ai fini analitici, ho sviluppato e ottimizzato tecniche di purificazione fotochimica a basso impatto ambientale per la determinazione dei policlorobifenili e i clorobenzeni in estratti organici di campioni di sedimento marino.

Nell'ambito della metodica di purificazione di estratti organici da sedimento per la determinazione dei PCBs la migliore metodica di purificazione è stata individuata nell'irradiazione dell'estratto organico a $\lambda = 350$ nm per 3 ore previo gorgogliamento di Ossigeno per 10 minuti.

Nell'ambito della metodica di purificazione di estratti organici da sedimento per la determinazione dei CBs la migliore metodica di purificazione è stata individuata nell'irradiazione diretta dell'estratto organico a $\lambda = 350$ nm per 6 ore.

Mediante le metodiche di fotopurificazione sviluppate e ottimizzate è possibile ottenere un miglioramento nelle procedure di purificazione in termini di rischio e costi economici, ambientali e salutari.

In merito la tematica del trattamento di matrici contaminate, ho sviluppato e ottimizzato metodiche per la degradazione di esteri ftalici su pitture murali mediante tecniche fotochimiche, metodiche per la rimozione di policlorobifenili mediante adsorbimento su sfere di alginato e alginato-montmorillonite e metodiche per la degradazione del nitrofenolo in soluzione acquosa mediante processo foto-Fenton utilizzando come catalizzatore sfere di alginato montmorillonite ferro arricchita (Fe-MABs).

Nell'ambito della fotodegradazione degli esteri ftalici, percentuali di rimozioni medie del 68% sono state ottenute irradiando direttamente campioni di intonaco a λ di 254 nm per un tempo di 8 ore. Le indagini sulla cinetica di degradazione hanno evidenziato processi di pseudo primo ordine, ovvero processi dove la degradazione degli esteri ftalici è soggetta a un solo meccanismo, appunto quello relativo alla fotolisi diretta.

Nell'ambito della rimozione di policlorobifenili mediante adsorbimento su sfere di alginato e alginato-montmorillonite, è stato possibile stabilire che, mediante 20 sfere di alginato montmorillonite (0,5 g di sfere bagnate) è possibile rimuovere mediamente il 90% di PCBs in una soluzione acquosa di 10 ppb. Inoltre è stato possibile evidenziare l'effetto sui meccanismi

di adsorbimento derivanti dell'aggiunta di montmorillonite su sfere di alginato, evidenziando un meccanismo di adsorbimento cooperativo (di tipo S) nel caso in cui si utilizzino sfere di alginato montmorillonite.

Nell'ambito della degradazione del nitrofenolo in soluzione acquosa mediante processo foto-Fenton, è stato sintetizzato un nuovo tipo di foto-catalizzatore a base di alginato montmorillonite ferro arricchita (Fe-MABs) attivo per la reazione di foto-Fenton anche a pH neutri. Mediante l'utilizzo delle Fe-MABs è stato possibile rimuovere oltre il 70% di nitrofenolo in una soluzione acquosa di 10 ppm in appena 40 minuti di irradiazione utilizzando 25 sfere (0,103 g) e 100 ppm di H_2O_2 . Inoltre, tali fotocatalizzatori hanno mostrato ottime rese di degradazione del nitrofenolo fino a 3 cicli di riutilizzo.

Nell'ambito dell'inattivazione di *Escherichia coli* nella *drinking water* mediante reazione di foto-Fenton condotta su sfere di alginato montmorillonite ferro arricchite (Fe-MABs) posso affermare che l'utilizzo delle Fe-MABs rappresenta un metodo valido ed efficace per la disinfezione dell'acqua dalla contaminazione di *Escherichia coli*.

In definitiva, da quanto è emerso dal presente lavoro di dottorato si può affermare che, gli studi effettuati hanno implementato lo stato dell'arte inerente le metodiche di purificazione di matrici contaminate e nel contempo, avviato una nuova linea di ricerca nei processi della *Green Analytical Chemistry*.

Gli studi e i risultati ottenuti nel periodo di dottorato, hanno permesso la pubblicazione di **13 lavori** su riviste scientifiche internazionali indicizzate ISI, 9 comunicazioni a Congresso (3 Comunicazioni Orali e 6 Posters) e una domanda di brevetto.

Pubblicazioni Inerenti le tematiche del dottorato:

Barreca, S., Orecchio, S., Mazzola, A., Tuzzolino, N., Polychlorinated Biphenyls in Sediments from Sicilian Coastal Area (Scoglitti) using Automated Soxhlet, GC-MS, and Principal Component Analysis. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 34, 2014, 237-262.

Barreca S., Orecchio S, Pace A. Photochemical sample treatment for extracts clean up in PCB analysis from sediments. *TALANTA*. 103, 2013, 349-354.

Pace, A., Barreca, S. *Environmental Organic Photochemistry: Advances and Perspectives. Current Organic Chemistry*. 17, 2013, 3032-3041.

Orecchio, S., Indelicato, R., Barreca, S. Determination of selected phthalates by gas chromatography-mass spectrometry in mural paintings from Palermo (Italy). *Microchemical journal*. 114, 2014, 187-191.

Barreca, S., Indelicato, R., Orecchio, S., Pace, A. Photodegradation of selected phthalates on mural painting surfaces under UV light Irradiation. *Microchemical journal*. 114, 2014, 192-196.

Barreca, S., Velez Colmenares J.J., Pace, A., Orecchio, S., Pulgarin, C. Neutral solar Photo-Fenton degradation of 4-nitrophenol on Fe-enriched hybrid montmorillonite-alginate beads (MABs). *Photochemistry and photobiology A: Chemistry*. 282, (2014), 33-40.

Barreca, S., Orecchio, S., Pace, A., Photochemical sample treatment: a greener approach to chlorobenzene determination in sediments. *Talanta* 129 (2014) 263–269

Barreca, S., Orecchio, S., Pace, A., The effect of montmorillonite clay in alginate gel beads for Polychlorinated Biphenyls adsorption; isothermal and kinetic studies. *Applied Clay Science* 99 (2014) 220–228

Barreca, S., Velez Colmenares J.J., Pace, A., Orecchio, S., Pulgarin, C. E. coli inactivation by neutral solar Heterogeneous Photo-Fenton (HPF) over Hybrid

Iron/Montmorillonite/Alginate beads. Journal of Environmental Chemical Engineering (2014) accepted

Inoltre, durante la mia attività all'interno dell'Università Degli Studi di Palermo, ho collaborato ad altre ricerche di carattere scientifico le quali hanno prodotte le seguenti pubblicazioni su riviste scientifiche internazionali indicizzate ISI:

Barreca, S., Bastone, S., Caponetti, E., Chillura D.M., Orecchio, S., Determination of Selected Polyaromatic Hydrocarbons by Gas Chromatography-Mass Spectrometry for the Analysis of Wood to Establish the cause of Sinking of an Old Vessel (Scauri wreck) by Fire. Microchemical Journal 117 (2014) 116–121

Bergamasco, A., Culotta, L., De Stefano, C., Orecchio, S., Sammartano, S., Barreca, S. Composition, distribution and sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in sediments of Gulf of Milazzo (Mediterranean Sea, Italy). Polycyclic Aromatic Compounds. 34 (2014) 397-424

Orecchio, S., Amorello, D., Raso, M., Barreca, S., Lino, C., Di Gaudio, F. Determination of trace elements in gluten-free food for celiac people by ICP-MS. Microchemical Journal 116 (2014) 163–172

Orecchio S, Indelicato R, Barreca S. The distribution of phthalate esters in indoor dust of Palermo (Italy). ENVIRONMENTAL GEOCHEMISTRY AND HEALTH. 35, 2013, 613-624

Partecipazioni a congressi:

9) Orecchio, S., Amorello, D., Raso, M., Barreca, S., Lino, C., Di Gaudio, F. (2014). Determinazione degli elementi in tracce negli alimenti per celiaci tramite ICP-MS. Comunicazione orale al XXV congresso nazionale della Società Chimica Italiana.

8) Barreca, S., Orecchio, S., Pace, A. (2014). Analisi di clorobenzeni in campione di sedimento mediante purificazione fotochimica: nuove frontiere nella Green Analytical Chemistry. Comunicazione orale premiata con borsa al XXV congresso nazionale della Società Chimica Italiana.

7) Barreca, S., Indelicato, R., Orecchio, S., Pace, A. (2014). Fotodegradazione di esteri ftalici su pitture murali tramite irradiazioni UV. Poster In: XXV congresso nazionale della Società Chimica Italiana

6) Orecchio S., Barreca S., Pace A. (2013). Study on the adsorption of PCBs in alginate Montmorillonite beads by GC-MS analysis. Poster In: informal meeting mass spectrometry

5) Barreca S., Orecchio S., Pace A. (2013). Polychlorinated biphenyls adsorption onto alginate beads and hybrid alginate montmorillonite beads: isothermal and kinetics studies Poster In: Incontri di Scienza delle Separazioni 2013

4) Barreca S., Indelicato R., Orecchio S.(2013). Phthalate esters in products and materials which come into contact with humans. GC-MS analysis. Poster In: 31 th informal meeting mass spectrometry Palermo

3) Barreca S., Orecchio S., Indelicato R. (2012). Phthalate esters (PEAs) and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in indoor dust matter of Palermo (Italy) area. Extraction, GC-MS analysis. Comunicazione orale In: Massa 2012 Palermo

2) Barreca S., Indelicato R., Orecchio S. (2012). Phthalate ester in coffee brew samples: analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. Poster In: Massa 2012 Palermo

1) Orecchio S., Pace A., Barreca S. (2012). Photochemical sample treatment: A greener approach for PCB analysis in sediments. Poster In: SESEH 2012 2012 Sino-European Symposium on Environment and Health

Domanda di brevetto

Domanda di brevetto numero: RM2013A000127

Data deposito domanda di brevetto: 01 Marzo 2013

Titolo della domanda di brevetto: Dispositivo per estrarre e purificare analiti da una matrice.

Richiedente della domanda di brevetto: Università degli Studi di Palermo

Inventori:

Barreca Salvatore

Caruso Casimiro

Orecchio Santino

Pace Andrea

Bibliografia

- [1] Probst, L., Monfardini, E., Frideres, L., Demetri, D., Schnabel, L., Alain, K., Clarke, S. (2013). Business Innovation Observatory Environmentally friendly technologies and energy efficiency
- [2] Horvath, I.T., Anastas, P.T. (2007). Innovations and green chemistry. *Chemical reviews*, 107(6), 2169-2173.
- [3] Anastas, P.T., Warner, J.C. (2000). *Green Chemistry: Theory and Practice*
- [4] Tang, S.L.Y.R., Smith, L., Poliakoff, M. (2005) Principles of green chemistry: PRODUCTIVELY, *Green Chem.*, 7, 761-762
- [5] Anastas, P.T. (1999). Green chemistry and the role of analytical methodology development, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 29, 167–175.
- [6] Namiesnik, J. (2000). Trends in environmental analytics and monitoring, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 30, 221–269.
- [7] de la Guardia, M., Ruzicka, J., (1995). Towards environmentally conscientious analytical chemistry through miniaturization, containment and reagent replacement, *Analyst*, 120.
- [8] Gałuszka, A., Migaszewski, Z., Namiesnik, J. (2013) The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends in Analytical chemistry* 50 78–84.
- [9] Eljarrat, E., & Barcelo, D. (2003). Priority lists for persistent organic pollutants and emerging contaminants based on their relative toxic potency in environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(10), 655-665.
- [10] Jones, K.C., de Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science, *Environmental Pollution* 100, 209-221.
- [11] *Persistent Organic Pollutants: A Global Issue, A Global Response*, Stockholm Convention 2001
- [12] Corsolini, S., demollo, N., Romeo, T., Greco, S., Focardi, S. (2005). Persistent organic pollutants in edible fish: a human and environmental health problem. *Microchemical* 1, 115-123.
- [13] Beyer, A., Mackay, D., Matthies, M., Wania, F., Webster, F.E. (2000). Assessing long-range transport potential of persistent organic pollutants. *Environmental Science & Technology* 34, 699-703.

- [14] Paasivirta, J., Sinkkonen, S., Mikkelsen, P., Rantio, T., Wania, F. (1999). Estimation of vapor pressures, solubilities and Henry's law constants of selected persistent organic pollutants as functions of temperature. *Chemosphere*, 39(5), 811-832.
- [15] Muir, D.C., Howard, P. H. (2006). Are there other persistent organic pollutants? A challenge for environmental chemists. *Environmental science & technology*, 40(23), 7157-7166.
- [16] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2006.
- [17] Barreca, S., Mazzola, A., Orecchio, S., Tuzzolino, N. (2014). Polychlorinated biphenyls in Sediments from Sicilian Coastal Area (Scoglitti) using Automated Soxhlet, GC-MS, and Principal Component Analysis, *Polycyclic Aromatic Compounds* 34, 3.
- [18] Lee, C. L., Song, H. J., & Fang, M. D. (2000). Concentrations of chlorobenzenes, hexachlorobutadiene and heavy metals in surficial sediments of Kaohsiung coast, Taiwan. *Chemosphere*, 41(6), 889-899.
- [19] Götz, R., Bauer, O. H., Friesel, P., Herrmann, T., Jantzen, E., Kutzke, M., Stachel, B. (2007). Vertical profile of PCDD/Fs, dioxin-like PCBs, other PCBs, PAHs, chlorobenzenes, DDX, HCHs, organotin compounds and chlorinated ethers in dated sediment/soil cores from flood-plains of the river Elbe, Germany. *Chemosphere*, 67(3), 592-603.
- [20] Decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152 Norme in materia ambientale (G.U. n. 88 del 14 aprile 2006)
- [21] Sustainable Management of Contaminated guideline. (2013)
- [22] EPA 560/6-75-2004, National conference on Polychlorinated Biphenyl, November 19-21 (1975)
- [23] Quensen, J.F., Boyd, S.A., Tiedje, J.M. (1990). Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganisms from sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(8), 2360-2369.
- [24] Harris, M., Zacharewski, T., Safe, S. (1993). Comparative potencies of Aroclors 1232, 1242, 1248, 1254, and 1260 in male Wistar rats—assessment of the toxic equivalency factor (TEF) approach for polychlorinated biphenyls (PCBs). *Toxicological Sciences*, 20(4), 456-463.
- [25] Nakata, H., Kawazoe, M., Arizono, K., Abe, S., Kitano, T., Shimada, H., Ding, X. (2002). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl residues in foodstuffs and human tissues from China: status of contamination, historical trend, and human dietary exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(4), 0473-0480.

- [26] Pavan, I., Baroffio, C., Passini, V., Bilei, T., Pira, E., & Minoia, C. (2003). Policlorobifenili: valori di riferimento. *Giornale Italiano di medicina del lavoro ed Ergonomia* 25(1), 61-67.
- [27] Xiao Jing, L., Cong, H., Hong, Y. (2009). Determination of organochlorine pesticides and chlorobenzene compounds in water by headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography. *Journal of Environment and Health*, 26(7), 626-629.
- [28] Garrido, N. M., Economou, I. G., Queimada, A. J., Jorge, M., Macedo, E. A. (2012). Prediction of the n-hexane/water and 1-octanol/water partition coefficients for environmentally relevant compounds using molecular simulation. *AIChE Journal*, 58(6), 1929-1938.
- [29] Daly, G.L., Lei, Y.D., Teixeira, C., Muir, D.C., Wania, F. (2007). Pesticides in western Canadian mountain air and soil. *Environmental science & technology*, 41(17), 6020-6025.
- [30] Wallace, L., Pellizzari, E., WELL, T., Zelon, H., Sparacino, C., Perritt, R., Whitmore, R. (1986). Concentrations of 20 volatile organic compounds in the air and drinking water of 350 residents of New Jersey compared with concentrations in their exhaled breath. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 28(8), 603-608.
- [31] Chiou, C. T., Porter, P.E., Schmedding, D. W. (1983). Partition equilibriums of nonionic organic compounds between soil organic matter and water. *Environmental Science & Technology*, 17(4), 227-231.
- [32] Beck, J., Hansen, K.E. (1974). The degradation of quintozene, pentachlorobenzene, hexachlorobenzene and pentachloroaniline in soil. *Pesticide Science*, 5(1), 41-48.
- [33] Jones, K.C., De Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental Pollution*, 100(1), 209-221.
- [34] Perocco, P., Bolognesi, S., Alberghini, W. (1983). Toxic activity of seventeen industrial solvents and halogenated compounds on human lymphocytes cultured in vitro. *Toxicology letters*, 16(1), 69-75.
- [35] Bigley, F. P., Grob, R. L. (1985). Determination of phenols in water and wastewater by post-column reaction detection high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 350, 407-416.
- [36] Martins, J. M., Mermoud, A. (1998). Sorption and degradation of four nitroaromatic herbicides in mono and multi-solute saturated/unsaturated soil batch systems. *Journal of contaminant hydrology*, 33(1), 187-210.
- [37] EPA Appendix A to 40 CFR, Part 423--126 Priority Pollutants 2013

- [38] Kaloyanova, F. P., El Batawi, M. A. (1991). Human toxicology of pesticides. CRC press.
- [39] Stales, C. A., Peterson, D. R., Parkerton, T. F., Adams, W. J. (1997). The environmental fate of phthalate esters: a literature review. *Chemosphere*, 35(4), 667-749.
- [40] Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., Hungerbühler, K. (2006). What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans?. *Risk Analysis*, 26(3), 803-824.
- [41] Orecchio, S., Indelicato, R., Barreca, S. (2014). Determination of selected phthalates by gas chromatography–mass spectrometry in mural paintings from Palermo (Italy). *Microchemical Journal*, 114, 187-191.
- [42] Lau, T. K., Chu, W., Graham, N. (2005). The degradation of endocrine disruptor di-n-butyl phthalate by UV irradiation: A photolysis and product study. *Chemosphere*, 60(8), 1045-1053.
- [43] Harris, J.C. Rate of Aqueous Photolysis, In: *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*. eds. W.J. Lyman, W.F. Reehl, D.H. Rosenblatt, Chapt. 8, McGraw-Hill, New York.) 1982b
- [44] Staples, C.A.; Adams, W.J.; Parkerton, T.F.; Gorsuch, J.W.; Biggingers, G.R.; Reiner, K.H. Aquatic Toxicity of Eighteen Phthalate Esters. *Environ. Toxicol. Chem.* 1997. 16(5), 875–891.
- [45] Gledhill, W.E., Kaley, R.G.; Adams, W.J; Hicks, O; Michael, P.R.; Saeger, V.W.; LeBlanc, G.A. (1980). An Environmental Safety Assessment of Butyl Benzyl Phthalate. *Environ. Sci. Technol.* 14, 301-305.
- [46] Wolfe, N.L., Bums, L.A., Steen, W.C. (1980). Use of Linear Free Energy Relationships and an Evaluative Model to Assess the Fate and Transport of Phthalate Esters in the Aquatic Environment. *Chemosphere*. 9, 393-402.
- [47] Howard, P.H. *Handbook of Environmental Degradation Rates*, Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI. 1991. 725.
- [48] Baker, K. H., Herson, D. S. (1994). *Bioremediation*. McGraw-Hill, Inc..
- [49] Alexander, M. (1999). *Biodegradation and bioremediation*. Gulf Professional Publishing.
- [50] Skipper, H. D., Turco, R. F. (1995). Redox and energy aspects of soil bioremediation.
- [51] Shim, S. S., Kawamoto, K. (2002). Enzyme production activity of *Phanerochaete chrysosporium* and degradation of pentachlorophenol in a bioreactor. *Water Research*, 36(18), 4445-4454.

- [52] Mohn, W.W., Tiedje, J.M. (1992). Microbial reductive dehalogenation. *Microbiological Reviews*, 56(3), 482-507.
- [53] Raghavan, R., Coles, E., Dietz, D. (1991). Cleaning excavated soil using extraction agents: a state-of-the-art review. *Journal of Hazardous Materials*, 26(1), 81-87.
- [54] Hansen, B.R., Davies, S.R. (1994). Review of potential technologies for the removal of dissolved components from produced water. *Chemical engineering research & design*, 72(2), 176-188.
- [55] Ashworth, R.A., Howe, G.B., Mullins, M.E., Rogers, T. N. (1988). Air-water partitioning coefficients of organics in dilute aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, 18(1), 25-36.
- [56] Chuang, K.T. (1993). U.S. Patent No. 5,190,668. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [57] Bansal, R. C., Goyal, M. (2010). *Activated carbon adsorption*. CRC press.
- [56] Bhattacharyya, K.G., Gupta, S.S. (2008). Adsorption of a few heavy metals on natural and modified kaolinite and montmorillonite: a review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 140(2), 114-131.
- [59] Ho, Y.S., Ng, J.C.Y., McKay, G. (2000). Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review. *Separation & Purification Reviews*, 29(2), 189-232.
- [60] Crini, G., Badot, P.M. (2008). Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in polymer science*, 33(4), 399-447.
- [61] Gadd, G.M. (2009). Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(1), 13-28.
- [62] Gerente, C., Lee, V.K.C., Cloirec, P.L., McKay, G. (2007). Application of chitosan for the removal of metals from wastewaters by adsorption—mechanisms and models review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 37(1), 41-127.
- [63] Demirbas, A. (2008). Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: a review. *Journal of Hazardous Materials*, 157(2), 220-229.
- [64] Cavallaro, G., Gianguzza, A., Lazzara, G., Milioto, S., Piazzese, D. (2013). Alginate gel beads filled with halloysite nanotubes. *Applied Clay Science*, 72, 132-137.

- [65] Martínez-Huitle, C. A., Brillas, E. (2009). Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: a general review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 87(3), 105-145.
- [66] Brillas, E., Sirés, I., Oturan, M. A. (2009). Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chemical Reviews*, 109(12), 6570-6631.
- [67] Thiruvengkatachari, R., Vigneswaran, S., Naidu, R. (2008). Permeable reactive barrier for groundwater remediation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 14(2), 145-156.
- [68] USEPA, Permeable reactive barrier technologies for contaminant remediation, Report number EPA/600/R-98/125, Washington, DC, 1998.
- [69] Stasinakis, A. S. (2008). Use of selected advanced oxidation processes (AOPs) for wastewater treatment—a mini review. *Global NEST Journal*, 10(3), 376-385.
- [70] Yan, Y. E., Schwartz, F. W. (1999). Oxidative degradation and kinetics of chlorinated ethylenes by potassium permanganate. *Journal of Contaminant Hydrology*, 37(3), 343-365.
- [71] Umar, M., Aziz, H. A., Yusoff, M. S. (2010). Trends in the use of Fenton, electro-Fenton and photo-Fenton for the treatment of landfill leachate. *Waste Management*, 30(11), 2113-2121.
- [72] Herney-Ramirez, J., Vicente, M. A., Madeira, L. M. (2010). Heterogeneous photo-Fenton oxidation with pillared clay-based catalysts for wastewater treatment: A review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 98(1), 10-26.
- [73] Kumar, J.K., Pandit, A.B. (2012) *Drinking Water Disinfection Techniques*, CRC Press.
- [74] Blanco, J., Malato, M., Fernández-Ibañez, P., Alarcón, D., Gernjak, W., Maldonado, M.I. (2009). Review of feasible solar energy applications to water processes, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 13, 1437–1445.
- [75] Hossain, F., Perales-Perez, O.J., Hwang, S., Román, F. (2014). Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: applications, limitations and future perspectives, *Sci. Total Environ.* 466, 1047–1059.
- [76] Ndounla, J., Kenfack, S., Wéthé, J., Pulgarin, C. (2014). Relevant impact of irradiance (vs. 445 dose) and evolution of pH and mineral nitrogen compounds during natural water disinfection by photo-Fenton in a solar CPC reactor, *Appl. Catal. B: Envir* 144–153.

- [77] Luque de Castro, M. D., Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 369(1), 1-10.
- [78] Hutzinger, O., Safe, S., Zitko, V. (1972). Photochemical degradation of chloro-biphenyls (PCBs). *Environmental health perspectives*, 1, 15.
- [79] Khan, A. U. (1976). Singlet molecular oxygen. A new kind of oxygen. *The Journal of Physical Chemistry*, 80(20), 2219-2228.
- [80] EPA January 1995 Environmental Protection and Toxics EPA 749-F-95-007a Chlorobenzene Fact Sheet: Support Document (CAS No. 108-90-7).
- [81] EPA method 8260 B, Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry.
- [82] Mohanraj, V. J., Chen, Y. (2007). Nanoparticles-a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 561-573.
- [83] Zhang, S., Niu, H., Cai, Y., Shi, Y. (2010). Barium alginate caged Fe₃O₄@ C18 magnetic nanoparticles for the pre-concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalate esters from environmental water samples. *Analytica chimica acta*, 665(2), 167-175.
- [84] Chatterjee, S., Lee, D. S., Lee, M. W., Woo, S. H. (2010). Enhanced molar sorption ratio for naphthalene through the impregnation of surfactant into chitosan hydrogel beads. *Bioresource technology*, 101(12), 4315-4321.
- [85] Muthuve, I., Krishnakumar, B., Swaminathan, M. (2012). Novel Fe encapsulated montmorillonite K10 clay for photo-Fenton mineralization of Acid Yellow 17, *Indian J. Chem.* 51 800–806.
- [86] Ely, A., Baudu, M., Basly, J. P., Kankou, M.O.S.A.O. (2009). Copper and nitrophenol pollutants removal by Na-montmorillonite/alginate microcapsules. *Journal of hazardous materials*, 171(1), 405-409.
- [83] Cambier, P. (1986). Infrared study of goethites of varying crystallinity and particle size: I. Interpretation of OH and lattice vibration frequencies, *Clay Miner.* 21, 191–200.
- [84] Lu, X., Bian, X., Nie, G., Zhang, C., Wang, C., Wei, Y. (2012). Encapsulating conducting polypyrrole into electrospun TiO₂ nanofibers: a new kind of nanoreactor for in situ loading Pd nanocatalysts towards p-nitrophenol hydrogenation. *Journal of Materials Chemistry*, 22(25), 12723-12730.

[85] Kiwi, J., Pulgarin, C., Peringer, P. (1994). Effect of Fenton and photo-Fenton reactions on the degradation and biodegradability of 2 and 4-nitrophenols in water treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, 3(4), 335-350.

Ringraziamenti

Una tesi di dottorato, non è solo frutto dei risultati sperimentali, ma di un continuo ed intenso studio che va oltre le barriere fisiche dell'università. Per tale motivo, la tesi di dottorato coinvolge, in maniera diretta o indiretta, una serie di persone e a loro questa sezione è dedicata.

Desidero ringraziare Roberta per essermi stata vicina sempre, anche a 1799 km di distanza, i miei genitori, mia sorella e mio fratello per aver creduto in me.

Ringrazio i professori Santino Orecchio, Andrea Pace e Cesar Pulgarin per gli utili consigli scientifici e per avermi incoraggiato nei miei studi.

Altri ringraziamenti vanno ai colleghi del EPFL (Stefanos Papoutsakis, Stefanos Giannakis, Jelena Nesic, Julia Velez, Laura Suarez, Cristina Ruales-Lonfat, Ana Isabel, Sami Rtimi e Juliette Ndoula) per il clima di coesione, ai miei coinquilini di Losanna (Andrea Massironi, Giulia Ruggeri e Odeta Limaj), ai miei coinquilini di Palermo (le case di Palermo sono più grandi di quelle di Losanna e non posso inserire i nomi di tutti), al mio consulente in ambito biologico Alessandro e ai miei amici (2x Vincenzo C., Ciccione, Ivan, Valerio, Fabio, Estera e Roberta).