

Alma Mater Studiorum - Università degli Studi di Bologna

SCUOLA DI SCIENZE

Dipartimento di Ingegneria Civile, Chimica, Ambientale e dei Materiali "DICAM"

Corso di Laurea Magistrale in:

Chimica Industriale

Classe LM-71 – Scienze e tecnologie della Chimica Industriale

**RECUPERO DI POLIFENOLI
CONTENUTI NELLE ACQUE DI VEGETAZIONE
PROVENIENTI DA OLEIFICI
MEDIANTE ADSORBIMENTO**

Tesi di laurea sperimentale

CANDIDATO

Dino Ibba

RELATORE

Prof. Davide Pinelli

CORRELATORE

Dott. Dario Frascari

Sessione III

Anno Accademico 2012-2013

Indice

ABSTRACT.....	5
CAPITOLO 1.....	7
INTRODUZIONE	7
1.1 La produzione di olio d'oliva: i numeri	7
1.2 Processi per l'estrazione dell'olio d'oliva e dei suoi sottoprodotti associati	9
1.3 Composizione chimica dei sottoprodotti della lavorazione delle olive	11
1.4 Le OMW e l'impatto ambientale	12
1.4.1 OMW e inquinamento del suolo.....	12
1.5 Applicazioni e bioconversione dei sottoprodotti della lavorazione delle olive	13
1.6 I composti Fenolici: un quadro generale.....	14
1.6.1 L'attività antiossidante dei composti fenolici	15
1.7 Composti fenolici nelle OMW	16
1.7.1 Recupero dei composti fenolici dalle OMW	17
1.8 Adsorbimento: un quadro generale.....	18
1.8.1 Equilibrio di adsorbimento	18
1.9 Dinamiche dell'adsorbimento in colonna	21
1.9.1 Bilancio di massa per adsorbimento a letto fisso	21
1.9.2 Equilibrio locale e dispersione trascurabile.....	23
1.9.3 Isoterma lineare e dispersione trascurabile	24
1.10 Tipi di adsorbenti	26
1.10.1 Resine polimeriche.....	27
1.10.2 Dimensioni delle particelle di resina e perdite di carico.....	27
1.11 Apparecchiature: le colonne.....	28
1.11.1 Tecniche di impaccamento delle colonne	29
1.12 Scale up di un letto fisso	29
1.12.1 Metodo LUB.....	30
CAPITOLO 2.....	33
SCOPO.....	33
CAPITOLO 3.....	35

PARTE SPERIMENTALE	35
3.1 Reagenti utilizzati.....	35
3.2 Strumentazione e attrezzature	37
3.3 Preparazione delle soluzioni.....	39
3.3.1 Preparazione delle acque defenolizzate.....	39
3.3.2 Preparazione delle soluzioni per l'analisi dei fenoli con il metodo di Folin&Ciocalteu	40
3.3.3 Preparazione delle soluzioni per l'analisi dei fenoli totali con in HPLC.....	40
3.3.4 Preparazione dei campioni per l'analisi in HPLC dei fenoli totali provenienti dalle prove di desorbimento.....	41
3.4 Caratterizzazione delle acque.....	41
3.4.1 Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti.....	41
3.4.2 Determinazione della concentrazione dei composti fenolici.....	42
3.4.2.1 Metodo dei fenoli totali di Folin&Ciocalteu.....	42
3.4.2.2 Metodo dei fenoli totali tramite analisi HPLC.....	43
3.5. Procedure per l'attivazione della resina	43
3.6 Procedura per la determinazione della cinetica di adsorbimento	43
3.7 Procedura per la determinazione delle isoterme di adsorbimento.....	44
3.8 Metodo di impaccamento della colonna.....	44
3.9 Procedure per lo studio fluidodinamico	45
3.10 Procedure per la determinazione della curva di Breakthrough	45
3.11 Metodo prove desorbimento.....	46
3.11.1 Procedura per le prove di solubilità e di recovery della frazione fenolica	46
3.11.2 Procedura per la realizzazione delle prove preliminari di desorbimento	46
CAPITOLO 4	49
RISULTATI E DISCUSSIONE.....	49
4.1 Caratterizzazione delle acque di vegetazione.....	49
4.1.1 Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti.....	49
4.1.1.1 Acque della Puglia (Gallipoli).....	49
4.1.1.2 Acque della Liguria (Imperia).....	51
4.1.2 Determinazione della densità delle acque	54
4.1.3 Determinazione della concentrazione dei composti fenolici.....	54
4.1.3.1 Metodo dei fenoli totali di Folin&Ciocalteu.....	55
4.1.3.2 Metodo dei fenoli totali tramite analisi in HPLC	58
4.2 Cinetiche di adsorbimento.....	62
4.3 Isoterme di adsorbimento	64

4.4 Realizzazione dell'impianto.....	65
4.5 Caratterizzazione del comportamento fluidodinamico dell'impianto.....	67
4.7 Prova di desorbimento	72
CAPITOLO 5.....	73
CONCLUSIONI	73
REFERENZE BIBLIOGRAFICHE	75

ABSTRACT

The environmental pollution problems associated with the disposal of the olive oil production wastewaters (OMW, Olive Mill Wastewaters), and the impossibility of directly using them as irrigation waters because of their polyphenolic content, led to propose the separation of their polyphenols.

This result can be obtained by an adsorption-desorption process in a suitable cost-effective system which, besides permitting the wastewater decontamination and valorization, allows the recycling of the adsorption solid phase and of the desorption solvent.

The present work is part of a project aimed at the development of pilot scale process based on the use of the AMBERLITE XAD16 adsorption resin. The adsorption stage is preceded by a wastewater filtration pretreatment, and a final desorption process is added to recover the polyphenols using acidified ethanol as the solvent.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 La produzione di olio d'oliva: i numeri

I popoli del mediterraneo coltivano olivi ed estraggono olio da milioni di anni. Oggi circa 900 milioni di olivi coprono oltre 10 milioni di ettari di terreno in tutto il mondo e il 98% di questi sono situati nel bacino del mediterraneo^[1]. L'International Olive Oil Council stima la produzione mondiale di olio d'oliva a 2.426.000 tonnellate per il periodo 2012/2013 prevede un ulteriore aumento per l'annata 2013/2014 dove si sforerà il tetto dei 3.000.000 di tonnellate prodotte.^[2]

Tabella 1: Produzione di olio di oliva nei principali paesi europei^[2]

Paese Europeo	Produzione 2010/11 (ton)	Produzione 2011/12 (ton)	Produzione 2012/13 (ton)	Produzione 2013/14 (ton)
Cipro	6500	6500	5600	5600
Croazia				4000
Spagna	1392000	1615000	616000	1536000
Francia	6100	3200	4800	5000
Grecia	301000	294600	357000	230000
Italia	440000	399200	415000	450000
Portogallo	62900	76200	59100	76200
Slovenia	7	5	2	7
TOTALE	2209100	2395200	1459400	2308100

I principali paesi produttori sono Spagna, Italia, Grecia e Portogallo che da soli coprono circa il 60% della produzione mondiale, ma l'aumento della richiesta, trainato anche dalle eccellenti proprietà nutrizionali del prodotto, sta portando numerosi nuovi paesi ad emergere come produttori, promuovendo la coltivazione intensiva di olivi in diverse zone del mondo.

Funge da traino all'aumento della produzione e del consumo, il successo della dieta mediterranea, che è associata ad una minore incidenza di arteriosclerosi, di alcuni tipi di cancro e di malattie cardiovascolari e neurodegenerative^[3].

La crescente popolarità dell'olio d'oliva è sicuramente legata alla presenza al suo interno di molecole che sono state individuate come responsabili dei benefici della dieta mediterranea. Queste sono l'acido oleico, un acido carbossilico monoinsaturo a 18 atomi di carbonio, e l'infinità di composti fenolici presenti, che possono aiutare a diminuire il livello di grassi nel sangue e agiscono come antiossidanti naturali per prevenire numerose malattie. La componente fenolica ha inoltre proprietà antiinfiammatorie, antiproliferative e antiaterogeniche.

Tuttavia l'estrazione dell'olio d'oliva genera una grande quantità di sottoprodotti, i due principali sono:

- il residuo liquido acquoso, le acque di vegetazione (olive mill wastewater-OMW), che sono attualmente considerate come rifiuto;
- il residuo solido.

Entrambi i sottoprodotti sono dannosi per l'ambiente, in particolare le acque di vegetazione che, come diversi studi hanno dimostrato, hanno un effetto negativo sulle popolazioni microbiche del suolo, sugli ecosistemi acquatici e sull'aria, a causa delle emissioni di biossido di zolfo e a causa della stessa presenza di fenoli.

Proprio la componente fenolica infatti contribuisce in maniera maggiore all'inquinamento data la sua tossicità a concentrazioni elevate e alla sua forte azione antimicrobica. Secondo le stime, la produzione annua a livello mondiale di acque di vegetazione si attesta tra i 7 e i 30 milioni di metri cubi. Si genera così nella regione mediterranea una questione ambientale strettamente correlata all'enorme produzione di acque di vegetazione e vi è quindi un urgente bisogno di trovare il modo di trattare sia questo residuo liquido, sia gli altri sottoprodotti dell'industria dell'olio d'oliva.^[4]

1.2 Processi per l'estrazione dell'olio d'oliva e dei suoi sottoprodotti associati

L'estrazione dell'olio d'oliva è ottenuta attraverso processi che possono essere discontinui (a pressione) o continui (centrifugazione).

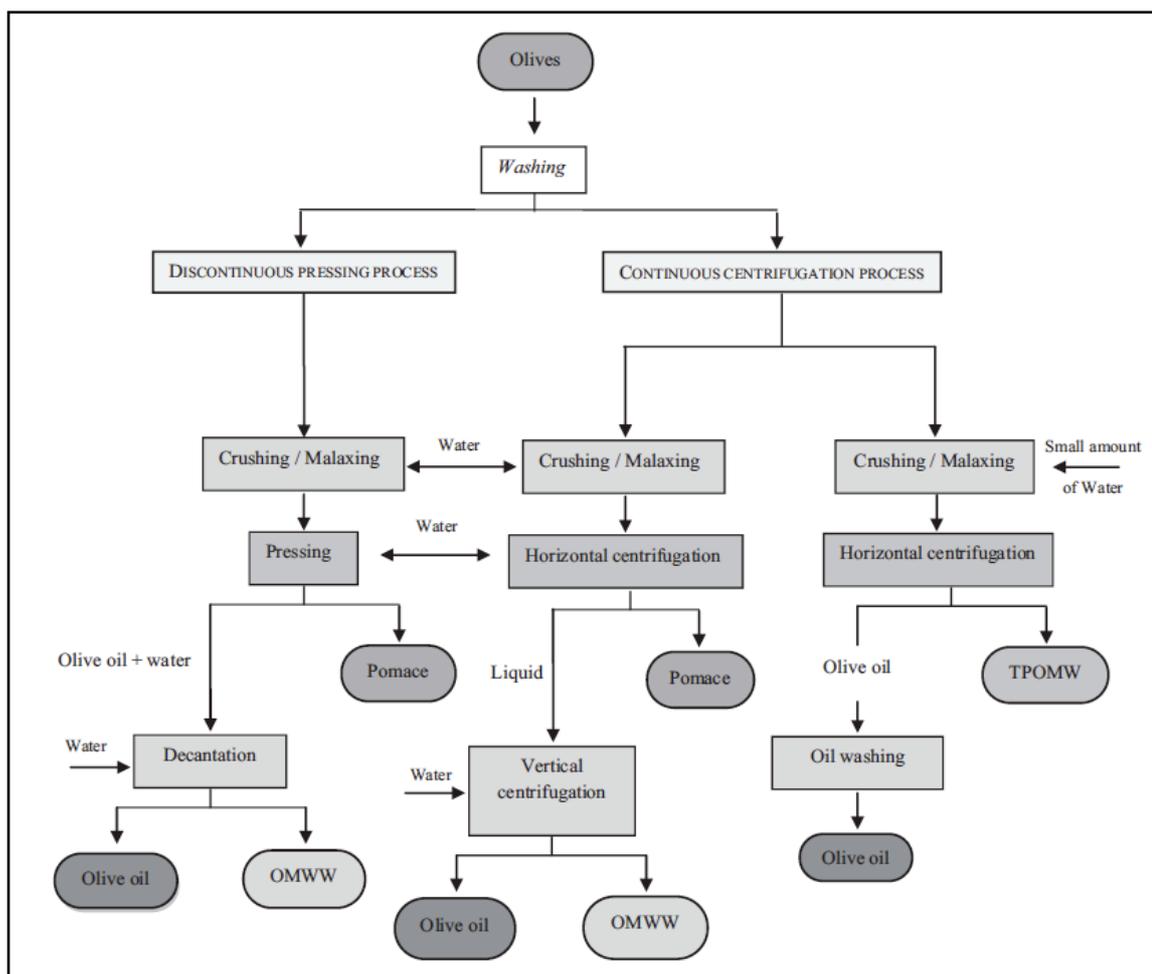


Figura 1: Processi di estrazione e produzione dell'olio di oliva

Il processo di pressatura discontinua è quello più antico, era effettuato all'inizio con i vecchi mulini poi sostituiti col tempo con delle presse idrauliche.

Per prima cosa le olive sono schiacciate e la risultante pasta ottenuta è continuamente mescolata per aumentare la percentuale di olio estratta e per facilitare l'agglomerazione delle piccole goccioline d'olio e la loro separazione dalla fase acquosa. Fase acquosa presente perché all'inizio del processo (ma anche in altre successive fasi) è introdotta

dell'acqua con lo scopo di agevolare la spremitura delle olive così da incrementare la quantità di olio ottenuto.

Dopo la molatura, la pasta ottenuta è stesa su dei dischi che sono impilati uno sopra l'altro e poi messa nella pressa. I dischi erano tradizionalmente fatti di fibra di canapa o di cocco, ma ora sono realizzati in fibre sintetiche per facilitare la pulizia e la manutenzione. È quindi applicata una pressione sui dischi per far compattare la fase solida della pasta e far percolare il liquido composto da olio e acque di vegetazione. A questo punto un'altra aliquota di acqua è aggiunta per aiutare la separazione dell'olio dalle altre fasi. La fase di pressatura produce una frazione solida che è chiamata sansa (olive cake or pomace) che contiene polpa, pelle, nocciolo e acqua. La fase liquida è fatta decantare per separare le due fasi e ottenere l'olio vero e proprio e le acque di vegetazione.

Questo metodo ha come vantaggi la semplicità tecnica e il basso costo delle apparecchiature, inoltre utilizza quantità di acqua abbastanza basse e produce quindi un volume di acque di vegetazione non troppo elevato (40-60 L/100 olive kg). Tuttavia ha anche degli svantaggi come la discontinuità del processo e gli elevati costi di manodopera, inoltre le acque di vegetazione prodotte, pur essendo in quantità non elevata hanno una domanda chimica di ossigeno (COD) maggiore rispetto a quelle generate da altri processi.

Il processo continuo, utilizza la centrifugazione per separare le fasi servendosi di un decantatore industriale; questo si basa sulla differenza di densità delle varie frazioni per separare le stesse. Esistono sistemi a tre o a due fasi che utilizzano decantatori industriali, sistemi che a livello di strumentazione hanno poche differenze, ma che portano delle differenze sulla produzione dell'olio e sui rifiuti generati.

Il processo a tre fasi genera tre frazioni: un residuo solido (sansa) e due fasi liquide (olio e acque di vegetazione). Questo sistema ha numerosi vantaggi come la completa automazione, la migliore qualità dell'olio, la necessità di minori spazi. Possiede però anche degli svantaggi, uno è legato alla maggiore aggiunta di acqua effettuata nella fase di centrifugazione, 1,25 - 1,75 volte maggiore rispetto al processo che utilizza la pressa nella fase estrattiva. Questo porta ad una produzione maggiore di acque di vegetazione (80-120 L/100 kg di olive) e quindi a maggiori costi di smaltimento. Sono maggiori anche i costi energetici e di investimento iniziali. Nonostante l'elevato consumo di acqua il sistema a tre fasi è quello più ampiamente utilizzato soprattutto nei paesi che producono grandi quantità di olio in poco tempo.

Il processo a due fasi è utilizzato per ridurre al minimo il volume di acqua utilizzato e quindi di acque di vegetazione prodotte. Questa tecnologia utilizza sempre delle centrifughe industriali che separano la pasta di olive in due fasi: l'olio di oliva e la sansa umida (TPOMW), che è una combinazione di sansa e acque di vegetazione. Questa può essere ulteriormente trattata per aumentare la resa in olio. I sistemi bifasici sono stati definiti "ecologici" a causa della riduzione nel consumo di acqua, tuttavia il TPOMW risultante (10 L/100 olive kg) è difficile da gestire perché il suo carico inquinante è molto più concentrato.

Un altro metodo di estrazione dell'olio praticabile è il processo continuo combinato percolazione-centrifugazione conosciuto come "Sinolea". Invece di pressione e centrifugazione questo metodo utilizza una filtrazione selettiva combinata con una centrifugazione per separare l'olio dalla pasta di olive. Tuttavia questo processo spesso non è utilizzato per gli elevati costi operativi e di manutenzione e l'alto consumo di energia. Inoltre ha una bassa efficienza poiché un gran quantitativo di olio rimane nella pasta di olive e ciò necessita un successivo trattamento.

1.3 Composizione chimica dei sottoprodotti della lavorazione delle olive

Le acque di vegetazione sono un liquido mediamente acido dal colore che varia dal rosso al nero. La loro composizione varia qualitativamente e quantitativamente secondo la varietà di olive da cui provengono, in base alle condizioni climatiche, alle pratiche di coltivazione e al processo di estrazione. A parte l'acqua, che va dall'80 al 90%, i componenti principali delle acque di vegetazione sono composti fenolici, zuccheri e acidi organici. Queste contengono anche nutrienti minerali, soprattutto potassio, che le rendono interessanti dal punto di vista dell'utilizzo in campo agricolo come fertilizzanti.

Come con le acque di vegetazione, anche la composizione chimica del residuo solido (sansa) varia in base alla diversa specie delle olive e soprattutto al processo utilizzato per la loro lavorazione. Cellulosa, emicellulosa e lignina sono i principali componenti, ma anche grassi e proteine sono presenti in grande quantità.

La sansa derivante dal processo a due fasi (TPOMW) ha delle caratteristiche molto diverse rispetto a quella derivante dal processo tradizionale di pressatura discontinua e a quello a tre fasi. Il TPOMW è un fango spesso, che contiene pezzi del nocciolo e polpa

proveniente dalle olive e acqua di vegetazione. Il suo grado di umidità è nel range di 65 – 75%, nettamente superiore rispetto al 22 – 25 % del processo tradizionale, e del 40 – 45 % del processo a tre fasi.

Le analisi minerali mostrano che come per le acque di vegetazione, l'elemento presente in maggior quantità nella frazione solida è il potassio, seguito dal calcio e dal sodio. La concentrazione di questi sali solubili è maggiore nelle acque di vegetazione per la loro naturale maggior percentuale di acqua. Le acque inoltre contengono la maggior concentrazione di fenoli totali e zuccheri solubili.

1.4 Le OMW e l'impatto ambientale

Le acque di vegetazione non trattate, sono uno dei più grandi problemi ambientali dei maggiori paesi produttori di olio d'oliva, a causa dell'alto carico organico, basso pH, alto COD (superiore ai 110 g/L) e alta domanda biologica di ossigeno.

Le OMW possono portare a seri danni ambientali come l'inquinamento delle acque superficiali e delle falde con conseguente tossicità per la vita acquatica, alterazione della qualità del suolo, fitotossicità e produzione di odori nauseanti. L'elevato volume di OMW prodotte e il brevissimo periodo di produzione delle stesse, aumenta la possibilità di danno ambientale tra novembre e marzo nei paesi dell'area del Mediterraneo, dove le OMW sono spesso scaricate nell'ambiente senza alcun tipo di trattamento.

1.4.1 OMW e inquinamento del suolo

Le OMWW riversate direttamente sul suolo, hanno effetto deteriorante non solo sulla crescita dei vegetali e sull'attività microbica, ma anche nelle proprietà chimico-fisiche del suolo. Il maggiore ostacolo all'utilizzo diretto delle OMW per irrigazione è l'elevata concentrazione di polifenoli, che sono fitotossici e possono inibire la germinazione dei semi delle piante. Inoltre le OMW contengono composti oleosi che aumentano l'idrofobicità del suolo e diminuiscono il potere di ritenzione dell'acqua e il tasso di infiltrazione della stessa nel suolo. E' importante chiarire che suoli di diversa origine

hanno un potere tamponante intrinseco differente e rispondono in maniera diversa alle perturbazioni applicate.

La dispersione delle OMW sui campi, è una pratica molto diffusa, che ha sollevato numerose controversie e dibattiti riguardo il potenziale potere fertilizzante e la tossicità dei composti che caratterizzano questo sottoprodotto. I numerosi studi svolti mettono in luce come, la diretta applicazione delle OMW senza nessun tipo di trattamento, ha un impatto negativo a lungo termine.

1.5 Applicazioni e bioconversione dei sottoprodotti della lavorazione delle olive

Come visto in precedenza, i processi di estrazione dell'olio d'oliva producono un residuo solido e delle acque di scarto che contengono numerosi composti che possono essere processati e riutilizzati parallelamente al loro smaltimento. Come possiamo vedere nella figura 2 i sottoprodotti della lavorazione delle olive possono avere numerosissime applicazioni.

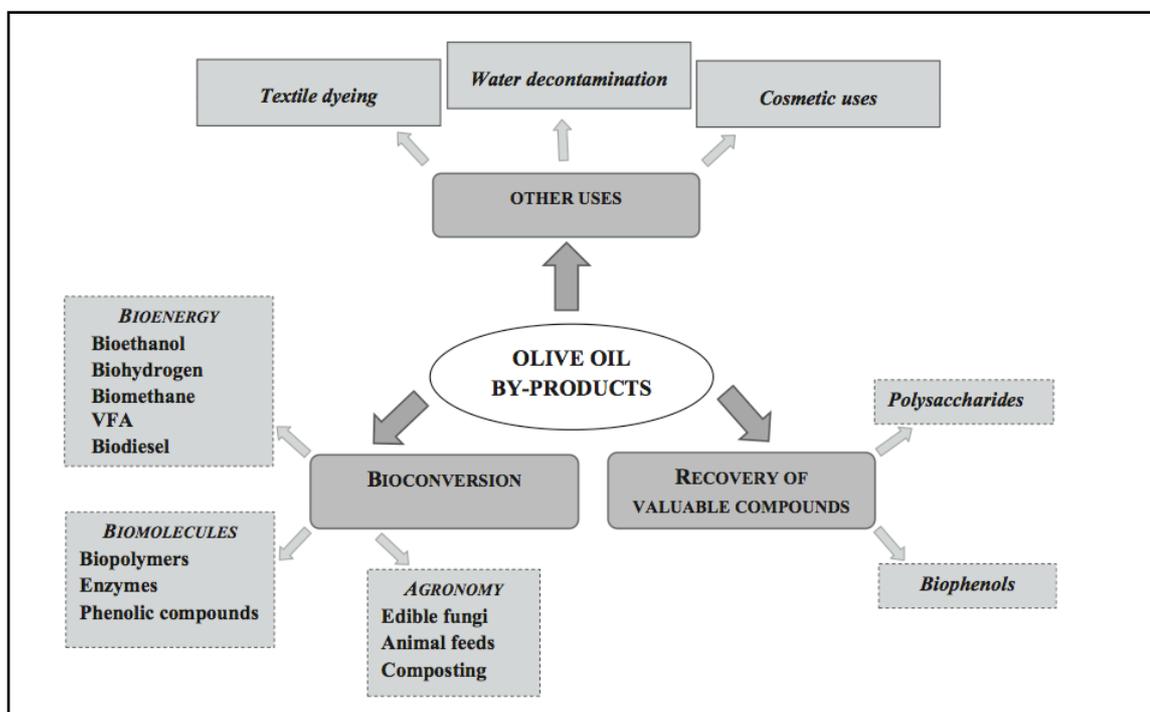


Figura 2: Possibili applicazioni e bioconversione dei sottoprodotti della lavorazione delle olive

La prima è la possibile bioconversione dei sottoprodotti; questa può procedere verso tre direzioni diverse:

- L'ottenimento di biocombustibili (etanolo, idrogeno, metano, VFA) tramite processi fermentativi;
- la realizzazione di biomolecole (Biopolimeri, enzimi, composti fenolici) a partire dalle molecole contenute all'interno delle acque di vegetazione, usando le stesse come mix di prodotti di partenza, secondo un approccio tipico della bioraffineria;
- l'utilizzo in agricoltura, dopo i dovuti trattamenti, come fonte di nutrienti sia per le specie animali, sia per la coltivazione di funghi commestibili e come materia organica per il compostaggio.

La seconda via possibile è il recupero di composti ad alto valore aggiunto. All'interno delle OMWW abbiamo numerose classi di composti che se recuperati possono essere riutilizzati in numerosi campi. Le classi di composti più importanti sono i polisaccaridi e i composti fenoli.

1.6 I composti Fenolici: un quadro generale

I composti fenolici o polifenoli, costituiscono uno dei gruppi più numerosi e ampiamente distribuiti di sostanze del regno vegetale, con più di 8000 strutture fenoliche attualmente conosciute. Questi, sono prodotti del metabolismo secondario delle piante e la loro struttura chimica può variare dalle semplici molecole, come gli acidi fenolici, ai composti altamente polimerizzati come i tannini. Si presentano principalmente in forme coniugate, con uno o più residui zuccherini legati ai gruppi idrossilici, sebbene esistano anche dei collegamenti diretti tra le unità zuccherine e gli atomi di carbonio aromatici. Associazioni con altri composti come acidi carbossilici e acidi organici, ammine, lipidi, e legami con altri fenoli, sono molto comuni.

I polifenoli, possono essere suddivisi in almeno 10 differenti classi, dipendenti dalla loro struttura chimica di base, ossia dal numero di anelli aromatici e dal numero di carboni presenti nelle catene laterali.^[5]

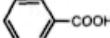
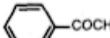
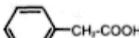
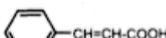
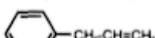
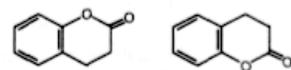
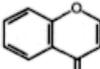
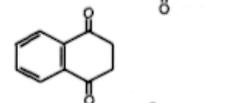
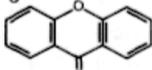
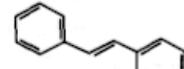
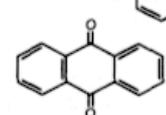
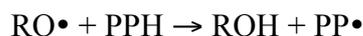
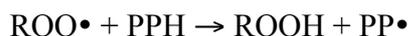
Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naftoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthenes	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

Figura 3: Suddivisione in categorie dei principali composti fenolici

1.6.1 L'attività antiossidante dei composti fenolici

I polifenoli, oltre ad essere i responsabili della colorazione di molti frutti e piante, hanno l'importante funzione di proteggere gli stessi vegetali dalle malattie, dai raggi UV, e proteggere i semi da eventuali danni prima della fase di germinazione.

Il loro potere antiossidante, interferisce con l'ossidazione di numerose molecole, grazie ad una rapida donazione di un atomo di idrogeno a molecole radicali che, come illustrato nella successiva reazione:



I radicali fenolici intermedi sono relativamente stabili, pertanto difficilmente danno inizio a nuove reazioni a catena. Questi radicali intermedi reagiscono semplicemente con gli altri radicali liberi e fungono da terminatori della reazione a catena.



L'efficienza di queste molecole come antiossidanti, dipende essenzialmente dalla loro struttura chimica. Il fenolo di per sé non ha un potere antiossidante, ma i fenoli orto e para sostituiti hanno questa capacità, che cresce con la sostituzione degli idrogeni con gruppi etile o n-butile.

L'azione antiossidante di queste molecole è esercitata anche in vivo, anche se i meccanismi e il loro ruolo all'interno degli esseri viventi non è ancora totalmente chiaro. E' noto che possiedono un forte potere inibitore dell'ossidazione LDL e attraverso questa azione antiossidante, esercitano il loro effetto protettivo contro le malattie cardiovascolari; per di più i flavonoidi possiedono un potere antitrombotico e vaso protettore.

Diversi tipi di polifenoli (acidi fenolici, tannini idrolizzabili e flavonoidi) hanno mostrato effetti anti-carcinogenici, interferendo in alcuni step fondamentali che possono portare alla formazione di tumori maligni, proteggendo il DNA da danni di origine ossidativa, inibendo l'attività di enzimi coinvolti nell'attivazione di procancerogeni e attivando sistemi enzimatici coinvolti nella detossificazione di xenobiotici. ^[6]

1.7 Composti fenolici nelle OMW

Una rilevante frazione della materia organica presente nelle OMW è costituita da composti fenolici. La diversità dei sistemi per l'ottenimento dell'olio dalle olive, condiziona quantitativamente e qualitativamente il contenuto di polifenoli all'interno

delle acque di vegetazione e del residuo solido. Durante il processo di estrazione dell'olio, le diverse caratteristiche chimiche, soprattutto quelle riguardanti la solubilità in acqua, comportano una differente ripartizione dei composti fenolici tra olio e acque di vegetazione, con una maggiore frazione di questi composti che si trasferisce dalla polpa delle olive alle acque. Questo fenomeno, spiega l'individuazione di determinati composti fenolici esclusivamente nella polpa o in altri specifici sottoprodotti.

La frazione acquosa, è caratterizzata da un'enorme complessità. I diversi studi identificano più di 20 composti fenolici nelle OMW. Le classi di fenoli idrofilici identificate, includono alcol fenilici, acidi fenolici, flavonoidi e lignani.^[6] Spesso confrontando i diversi studi, si può notare la presenza di alcuni fenoli in elevata quantità o la totale assenza degli stessi a seconda delle diverse acque di vegetazione considerate.^[7] Una spiegazione può essere data dalla reattività degli stessi e quindi dalla possibile degradazione dovuta a fenomeni ossidativi che modificano la struttura delle molecole. E' inoltre difficile trovare un metodo efficiente per la determinazione quantitativa dei composti fenolici e quindi, la variabilità degli stessi metodi, porta a diversi risultati nella caratterizzazione delle acque e ad una variabilità del contenuto fenolico nelle diverse OMW.

1.7.1 Recupero dei composti fenolici dalle OMW

Come sottolineato in precedenza, i composti fenolici sono abili ad esercitare un effetto tossico acuto verso i microorganismi, i vegetali, e gli organismi pluricellulari. D'altra parte sono dei naturali antiossidanti di notevole rilevanza per diversi settori industriali come quello medico, cosmetico e alimentare. Perciò il recupero selettivo dei composti fenolici dalle OMW, può accoppiare la funzione di riduzione della tossicità ambientale delle acque di vegetazione, dovuta proprio all'alta carica fenolica, con il recupero di molecole ad alto valore aggiunto.^[8]

Le tecnologie dedicate al recupero e alla purificazione di composti bioattivi provenienti da effluenti naturali sono ancora in via di studio e di sviluppo.

Per il recupero di fenoli dalle OMW, sono studiati per lo più i processi a membrana e ad estrazione liquido-liquido, spesso accoppiati con dei surfattanti. L'estrazione in fase

solida può rappresentare una valida alternativa, dato che si basa su processi semplici, efficaci ed economici.

Sono già utilizzate con successo delle resine polimeriche commerciali stirene-divinilbenzene per l'estrazione ed il recupero di polifenoli in fase solida da vinacce e scarti di mele. E' stato altresì dimostrato, che i processi di adsorbimento che utilizzano questi tipi di resine, danno delle ottime risposte, sia in termini di selettività, ma anche per l'economicità del processo, per quel che riguarda il recupero di fenoli ad alto valore aggiunto dalle OMW^[9].

1.8 Adsorbimento: un quadro generale

L'adsorbimento, è una tecnica di separazione molto utilizzata basata sulla capacità di certi solidi di concentrare selettivamente sostanze sulla loro superficie. All'equilibrio, i componenti individuali della miscela da separare, sono distribuiti tra la fase mobile e quella stazionaria. Come in tutte le separazioni, il trasporto di massa gioca un ruolo fondamentale. Il passaggio delle specie chimiche dalla fase mobile alla fase stazionaria, avviene tramite il trasferimento di massa attraverso un film stagnante che ricopre la superficie delle particelle, con i soluti che diffondono attraverso i pori fino ai siti di legame.

Le cinetiche delle reazioni di adsorbimento, possono a volte influenzare la separazione.

1.8.1 Equilibrio di adsorbimento

L'adsorbimento di specie chimiche può essere rappresentato dalla seguente relazione di equilibrio:



dove C è la specie chimica disciolta, S è un sito di adsorbimento, CS è il legame chimico al sito e K_{eq} è la costante di equilibrio che governa la reazione.

La costante di equilibrio per questa reazione sarà:

$$K_{eq} = \frac{[CS]}{[C][S]}$$

Consideriamo ora tre assunzioni fondamentali che riguardano l'adsorbimento. La prima è che è completamente reversibile, e le interazioni tra i siti adsorbenti non causano alterazioni nelle proprietà della soluzione.

La seconda è che le specie chimiche interagiscono con i siti una alla volta e quindi si legano ad un solo sito. In altre parole i legami sono specifici e non esistono legami non specifici o interazioni tra le molecole e la superficie. Terzo, c'è solo una modalità di legame col sito, tutti i legami sono uguali e descritti da un singolo valore di K_{eq} .

In molti casi, la concentrazione dei siti di adsorbimento è molto maggiore rispetto alla concentrazione delle specie chimiche disciolte ($[S] \gg [C]$), e la relazione di equilibrio diventa:

$$K_{eq} = \frac{[CS]}{[C]}$$

oppure

$$[CS] = K_{eq} \cdot [C]$$

Questo è conosciuto come equilibrio lineare, perché la concentrazione della specie adsorbita può essere espressa come un multiplo della concentrazione della specie disciolta. Non c'è una limitazione al legame, non può essere raggiunto quindi un limite di saturazione. Questa approssimazione lineare è poco utile, sia in scala di laboratorio ma soprattutto in scala industriale. Per un funzionamento più efficiente, vengono considerati tutti i siti di adsorbimento. In questo caso la concentrazione dei siti di adsorbimento disponibili vuoti non può essere trascurata.

$$S_{tot} = [CS] + [S]$$

Questa concentrazione però non può essere facilmente misurata, ma il numero totale di siti risulta:

meglio conosciuta come isoterma di Langmuir.

Se $K_{eq}[C]$ è piccolo rispetto all'unità, il denominatore dell'equazione sarà 1 e la forma dell'equazione lineare viene nuovamente ricalcata. Quando invece $K_{eq}[C]$ è grande rispetto all'unità, $[CS]$ diventa uguale ad $Stot$ e ho quindi i siti di adsorbimento saturi.

L'isoterma di Langmuir è concava verso il basso e ha una pendenza lineare a basse concentrazioni. Le isoterme con questo tipo di configurazione, sono considerate favorevoli all'adsorbimento. L'adsorbimento di specie chimiche presenti in miscele complesse quindi è influenzato non solo dalla costante di equilibrio ma anche dalla capacità totale di legame del materiale adsorbente utilizzato ($Stot$).

Un'altra isoterma che si è dimostrata utile è l'isoterma empirica di Freundlich:

$$[CS] = K_{eq} \cdot [C]^{1/n}$$

Con $n > 1$ l'isoterma è concava verso il basso. Questa isoterma può essere spiegata come il risultato di una forte eterogeneità della superficie dell'adsorbente. ^[10]

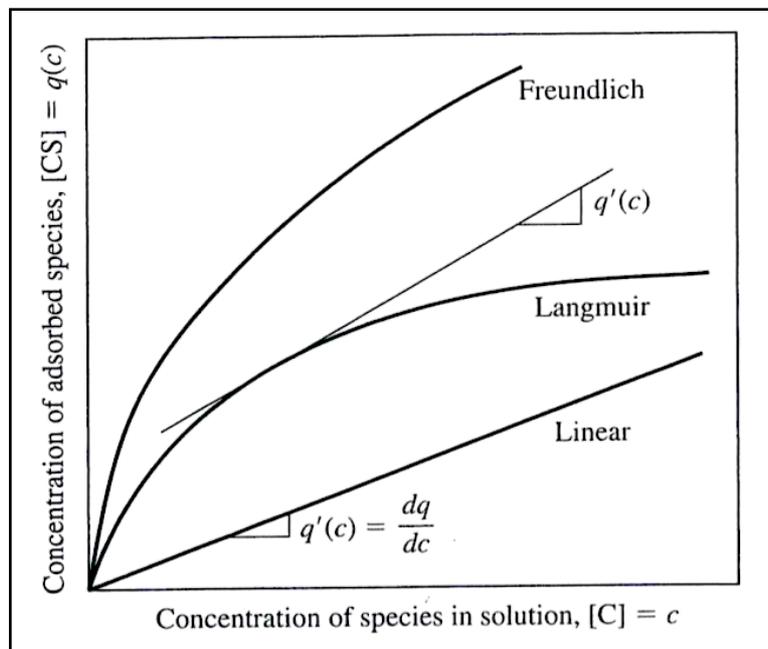


Figura 4: Isotherme di adsorbimento

1.9 Dinamiche dell'adsorbimento in colonna

Una conoscenza di base del comportamento dinamico dei processi di adsorbimento è essenziale per progettare ed ottimizzare un processo in larga scala. I tipi di apparecchiatura più importanti per quel che riguarda le operazioni di adsorbimento sono le colonne a letto fisso e le colonne a letto fluido. Noi ci concentreremo principalmente sulle prime.

1.9.1 Bilancio di massa per adsorbimento a letto fisso

Lo sviluppo di un bilancio di massa, è il punto di partenza per l'analisi di un adsorbimento a letto fisso. La semplificazione di questo bilancio di massa, porta a delle soluzioni analitiche che ci danno un'idea su quello che è il processo di adsorbimento.

Per capire le dinamiche, il bilancio di massa è eseguito considerando un disco di sezione trasversale con area equivalente a quella della colonna (A), ma differente spessore (Δx). Il flusso delle specie da separare, entra ed esce dalla sezione discoidale tramite convezione e gli effetti combinati di diffusione molecolare e dispersione meccanica. Possiamo notare che la velocità di convezione all'interno della sezione considerata è la velocità interstiziale, ovvero la velocità del fluido nella frazione di vuoto ϵ . Questa velocità di convezione è la velocità superficiale (la velocità di flusso divisa per la sezione trasversale della colonna) diviso la frazione di vuoto ($=Q/\epsilon A$).

Il bilancio di massa per le specie da separare può essere scritto come:

$$\begin{aligned} & A\epsilon\Delta t\left(\frac{v}{\epsilon}c_i - Deff\frac{\partial c_i}{\partial x}\right)\Bigg|_{x,t} - A\epsilon\Delta t\left(\frac{v}{\epsilon}c_i - Deff\frac{\partial c_i}{\partial x}\right)\Bigg|_{x+\Delta x,t} \\ & = A\epsilon\Delta t(c_i|_{t+\Delta t} - c_i|_t) + A(1-\epsilon)\Delta x(q_i|_{t+\Delta t} - q_i|_t) \end{aligned}$$

dove $c_i =$ concentrazione della specie da separare i nella fase mobile $= [C]_i$;

$q_i =$ concentrazione della specie da separare i nella fase stazionaria mediata su una particella di adsorbente $= [CS]_i$;

- ε = grado di vuoto (volume totale della fase mobile/volume totale della colonna), comunemente 0,3-0,4 nei letti fissi;
- v = velocità superficiale della fase mobile (velocità di flusso/sezione della colonna, Q/A);
- D_{eff} = dispersità effettiva della specie da separare;
- t = tempo;
- x = distanza longitudinale nella colonna; $x = 0$ al punto di ingresso della colonna;

Dividendo per $A\varepsilon\Delta x\Delta t$ e ponendo il limite di Δx e Δt a zero il bilancio diventa:

$$D_{eff} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - \frac{v}{\varepsilon} \frac{\partial c_i}{\partial x} = \frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{\partial q_i}{\partial t}$$

La parte destra dell'equazione, rappresenta l'accumulo del soluto in ogni sezione della colonna. La parte sinistra rappresenta il termine di "entrante meno uscente" del bilancio di massa; il soluto si muove attraverso la colonna per mezzo della convezione della fase mobile (secondo termine), o grazie alla diffusione o alla dispersione meccanica diretta verso un gradiente di concentrazione (primo termine).

Il termine $\partial q_i/\partial t$, rappresenta il gradiente di trasferimento di massa della specie da separare, rispetto ad una particella media, nella fase stazionaria e può essere rappresentato generalmente come:

$$\frac{\partial q_i}{\partial t} = f(c_i, c_j, \dots, q_i, q_j, \dots)$$

dove i pedici rappresentano le diverse specie i, j .

Questa espressione può essere considerata come la forza motrice, esprimibile nella forma:

$$\frac{\partial q_i}{\partial t} = Ka(c_i - c_i^*)$$

dove K_a è il coefficiente di trasferimento di materia, che include entrambe i termini di resistenza al trasferimento esterno e interno, e c_i^* è la concentrazione in fase liquida che si avrebbe all'equilibrio con q_i .^[10]

1.9.2 Equilibrio locale e dispersione trascurabile

Poiché il modello generale del trasferimento di massa è governato dalla relazione di equilibrio, le caratteristiche principali del comportamento dinamico possono essere comprese anche senza fare calcoli dettagliati. Questa prima analisi del bilancio di massa per l'adsorbimento, assume la presenza di un equilibrio di tipo locale e ignora la dispersione per semplicità. Usando relazione di equilibrio con forma $q_i=f(c_i)$ l'equazione del bilancio di massa diventa:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{v}{\varepsilon + (1-\varepsilon)q_i'(c_i)} \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0$$

dove $q_i'(c_i)$ è la pendenza dell'isoterma di equilibrio alla concentrazione c_i .

Se scriviamo:

$$u_i = \frac{v}{\varepsilon + (1-\varepsilon)q_i'(c_i)}$$

l'equazione diventa:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + u_i \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0$$

Possiamo vedere che quest'ultima equazione ha una forma identica all'equazione di continuità per un soluto i che si muove alla velocità u_i attraverso una colonna non impaccata. Così, l'espressione ricavata per u_i ci dà l'effettiva velocità del componente "i" attraverso il letto impaccato.

Quando l'equazione di equilibrio per il soluto è lineare, $q_i'(c_i)=K_{eq,i}$, la velocità effettiva del soluto è indipendente dalla concentrazione e inversamente proporzionale alla $K_{eq,i}$.

Per i processi di adsorbimento industriali o in scala maggiore di quella di laboratorio, dove è presente un alto carico adsorbente, l'equilibrio non è lineare e generalmente è applicabile l'isoterma di Langmuir. Come visto in precedenza nella figura 4, per l'isoterma di Langmuir $q_i'(c_i)$ cala con la concentrazione. Questo calo, in accordo con l'equazione della velocità, porta ad un aumento di u_i . Ciò porta a dei profili di concentrazione che, come vediamo dalla figura 5, possono sembrare irragionevoli.

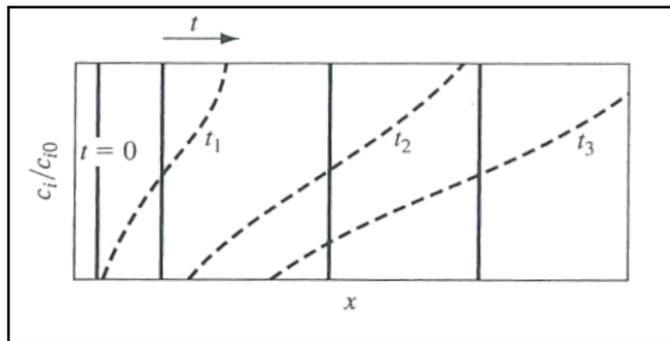


Figura 5: Forme di shock wave concentration

Tuttavia, per un soluto che avanza attraverso un letto fisso, la variazione di concentrazione non è continua, vengono quindi utilizzate le differenze finite anziché i differenziali per il cambiamento di q_i in funzione di c_i :

$$u_i = \frac{v}{\varepsilon + (1 - \varepsilon) \frac{\Delta q_i}{\Delta c_i}}$$

Questo valore ottenuto è detto shock wave velocity del fronte del soluto.

1.9.3 Isoterma lineare e dispersione trascurabile

Se l'isoterma è lineare e la dispersione è trascurabile, può essere ottenuta una soluzione del bilancio di massa per l'adsorbimento. Sebbene possano essere ottenute delle soluzioni numeriche per il bilancio di massa, le soluzioni analitiche sono utili perché ci

consentono di comprendere al meglio il comportamento del sistema. Le equazioni che seguono, descrivono il sistema considerando una isoterma di adsorbimento di tipo lineare, una forza motrice lineare per il trasferimento di massa, ed una dispersione trascurabile:

$$q_i = K_{eq,i} \cdot c_i$$

$$\frac{\partial q_i}{\partial t} = K_a(c_i - c_i^*)$$

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{\partial q_i}{\partial t} + \frac{v}{\varepsilon} \frac{\partial c_i}{\partial x} = 0$$

le condizioni iniziali e al contorno per una colonna inizialmente priva di soluto, soggetta a cambi di passo di concentrazione, all'ingresso e al tempo zero sono:

$$\begin{aligned} t < 0 \quad q_i(0,x) = c_i(0,x) = 0 \\ t \geq 0 \quad c_i(t,0) = c_{i0} \end{aligned}$$

Per la soluzione di questa equazione, è conveniente riscrivere in termini di variabili adimensionali:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \Phi}{\partial \xi} + \frac{\partial \Psi}{\partial \tau} &= 0 \\ \frac{\partial \Psi}{\partial \tau} &= \Phi - \Psi \end{aligned}$$

dove :

$$\phi = c_i/c_{i0};$$

$$\varphi = q_i/q_{i0};$$

$$q_{i0} = K_{eq,i} c_{i0};$$

$$k = K_a/K_{eq,i};$$

$$\tau = k(t - x\varepsilon/v);$$

La valutazione numerica richiede una lunga integrazione grafica. Dei risultati rappresentativi delle curve di breakthrough realizzate utilizzando le soluzioni delle integrazioni grafiche sono mostrati nella figura 6.

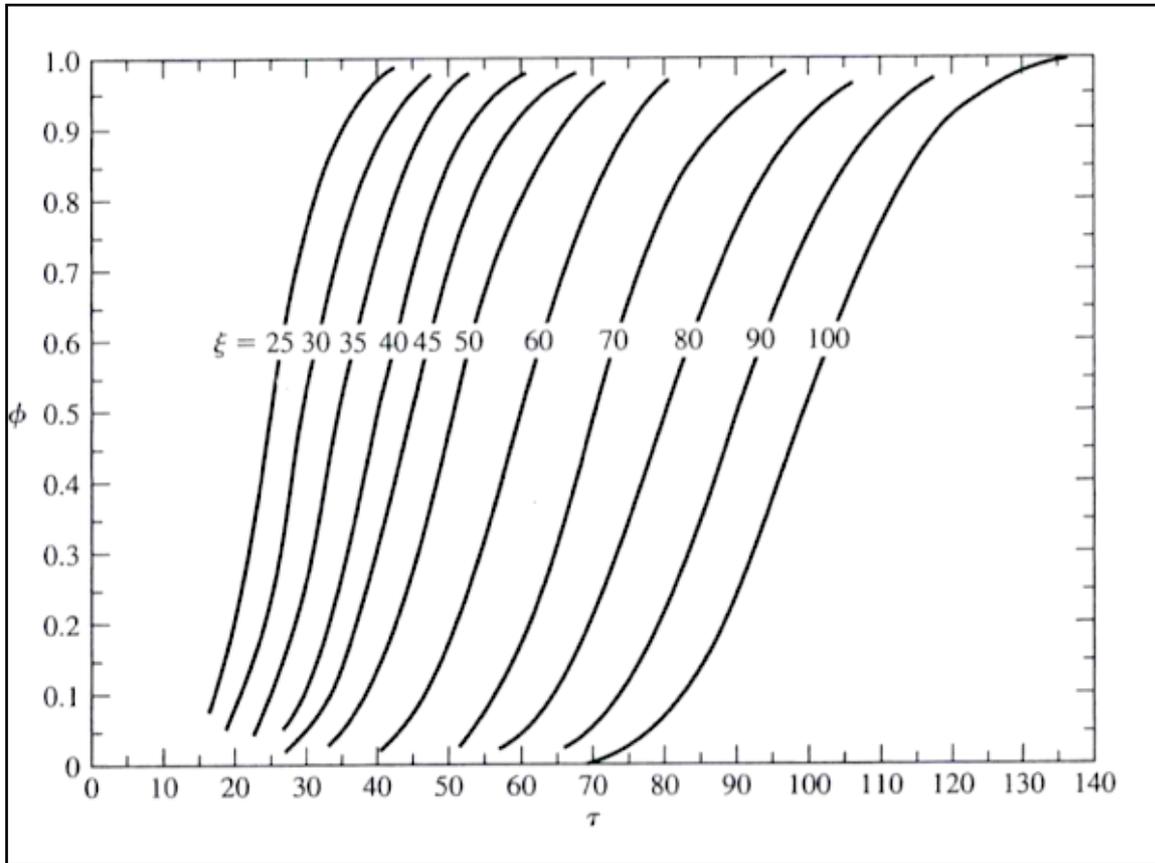


Figura 6: Curve di breakthrough basate su una soluzione analitica che assume una isoterma lineare

1.10 Tipi di adsorbenti

Un grandissimo quantitativo di resine adsorbenti sono state sviluppate per l'adsorbimento e per le separazioni cromatografiche. Tuttavia, sono utilizzate essenzialmente due tipi di resine, quelle polimeriche e la silice.

Tipicamente, le resine di silice hanno un rivestimento idrofobico e sono utilizzate prevalentemente per la cromatografia a fase inversa. Le resine polimeriche invece, sono usate in presenza di acqua e spesso sono accoppiate allo scambio ionico o funzionalizzate con leganti che possiedono particolari affinità con specifiche molecole.

La selezione del tipo di resina definisce quelle che sono le proprietà chimico-fisiche richieste e quindi le diverse interazioni tra fase stazionaria e fase mobile. La resina fornisce inoltre l'area superficiale necessaria per il processo di adsorbimento. L'area è generalmente tra 100 e 1500 m²/g e la maggior parte di questa è situata all'interno delle particelle che sono molto porose. Sarà quindi molto importante, oltre all'area superficiale interna, anche la lunghezza dei percorsi all'interno di queste particelle.

1.10.1 Resine polimeriche

Le resine polimeriche, sono usate molto frequentemente nelle applicazioni industriali per via della loro elevata stabilità e del basso costo. Queste resine sono realizzate tramite polimerizzazione per sospensione; è realizzata un'emulsione del polimero, utilizzando un solvente immiscibile con esso, e in seguito viene aggiunto un agente reticolante. La reazione è lasciata procedere fino a completezza e in seguito le particelle sono isolate dalla sospensione, lavate e spesso funzionalizzate. Frequentemente, sono aggiunti dei surfattanti nella sospensione di polimerizzazione, in modo tale da controllare le dimensioni delle particelle, che per le resine polimeriche sono maggiori (10 – 100 μm) rispetto a quelle in silice. Queste resine sono anche meno rigide e generalmente non molto adatte ad applicazioni che prevedono il raggiungimento di alte pressioni (> 4 bar). I due polimeri più utilizzati per realizzare questo tipo di resine sono lo stirene - divinilbenzene e la poliacrilammide.

1.10.2 Dimensioni delle particelle di resina e perdite di carico

Il diametro delle particelle influenza le perdite di carico nelle colonne a letto fisso. Le perdite di carico sono date dall'equazione di Ergun:

$$\frac{\Delta P}{L} = -150 \cdot \frac{v_s \cdot \mu}{\Phi_s^2 \cdot d_p^2} \cdot \frac{(1-\epsilon)^2}{\epsilon^3} + 1,75 \cdot \frac{v_s^2 \cdot \rho}{\Phi_s^2 \cdot d_p^2} \cdot \frac{1-\epsilon}{\epsilon^3}$$

dove

ΔP è la perdita di carico lungo la lunghezza della colonna L ;

v_s è la velocità superficiale (portata volumetrica/sezione del letto);

ε è il grado di vuoto;

d_p è il diametro delle particelle;

Φ_s è il fattore di sfericità;

μ è la viscosità della fase mobile;

ρ densità della fase mobile.

La scelta delle dimensioni delle particelle della resina è forse uno dei punti più cruciali per la realizzazione dei sistemi di adsorbimento e per il loro scale up. Il funzionamento della colonna, per quel che riguarda le separazioni o l'adsorbimento, è favorito da particelle di piccola dimensione; di contro queste, hanno il difetto di aumentare notevolmente le perdite di carico, come possiamo intuire dall'equazione di Ergun. L'aumento delle perdite di carico, comporta una maggior richiesta di potenza per quel che riguarda l'alimentazione della fase mobile e delle caratteristiche migliori nei materiali utilizzati per la costruzione della colonna.

1.11 Apparecchiature: le colonne

La maggior parte degli adsorbitori sono recipienti verticali di forma cilindrica attraverso i quali l'alimentazione e il flusso di rigenerante, passano giù per il letto di resina.

Per prevenire il movimento dell'adsorbente, nella parte superiore del letto è installata una griglia di ritenzione e sopra di essa è posizionato uno strato di sfere di supporto per tenere la griglia in posizione. Poiché il letto tende naturalmente ad espandersi o contrarsi durante il processo, la grata di ritenzione deve essere galleggiante e non fissata alle pareti della colonna.

Per colonne molto grandi, è inoltre necessario che il tubo d'ingresso sia forato in più punti e disposto trasversalmente, in modo tale da distribuire il liquido in maniera uniforme lungo tutta la sezione della colonna.

1.11.1 Tecniche di impaccamento delle colonne

L'impaccamento delle colonne è uno degli step più critici. Ci sono tre obiettivi da raggiungere nell'impaccare una colonna:

- avere le particelle di resina completamente bagnate;
- avere le particelle completamente dissociate le une dalle altre;
- raggiungere la densità di impaccamento più alta possibile.

Per raggiungere il primo scopo, la resina è impaccata realizzando uno slurry. Questo consente alla resina di rimanere in pieno contatto con un solvente per un tempo indefinito precedente all'impaccamento. E' fondamentale per il funzionamento della colonna, che i pori della resina siano pieni di solvente, in modo tale che siano accessibili alle molecole da separare nel processo. Spesso in piccola scala la resina è attivata degassando tramite ultrasuoni, calore o vuoto. Naturalmente in grande scala ciò non è possibile, quindi in questi casi si utilizza un solvente come l'etanolo, che ha una buona solubilità per l'ossigeno e può essere usato per bagnare le particelle.

Assicurarsi che le particelle non formino aggregati che possono causare segregazione durante l'impaccamento, è l'obiettivo numero due. Per questo, solventi come l'isopropanolo, sono aggiunti spesso allo slurry. Questo solvente diminuisce la tensione superficiale sufficientemente da impedire alle particelle di aggregarsi. Altri agenti, come sali, sono spesso usati per regolare le forze repulsive.

Infine, il raggiungimento della maggiore densità d'impaccamento è l'ultimo obiettivo da raggiungere. Le particelle devono trovarsi nelle condizioni di minor rigonfiamento possibile, poiché la possibile contrazione derivante dall'utilizzo di particelle gonfie, può portare ad un impaccamento non corretto ed alla formazione di spazi vuoti. Inoltre le particelle devono essere impaccate molto velocemente per togliere l'opportunità allo slurry di segregare.^[10]

1.12 Scale up di un letto fisso

Sono possibili diversi approcci per studiare lo scale up di una colonna di adsorbimento a letto fisso, tutti questi si focalizzano sullo studio della curva di breakthrough.

I due più utili sono:

- il concetto di lunghezza di letto inutilizzato (LUB), che consente di studiare lo scale up basandoci sui dati di laboratorio relativi alla colonna, mantenendo fissa la dimensione delle particelle e la velocità superficiale;
- il metodo delle simulazioni computazionali, che richiede anch'esso dati sperimentali e dimensione delle particelle costanti, ma non velocità superficiale costante.

1.12.1 Metodo LUB

Per trattare lo scale-up con il metodo LUB, è necessario definire il tempo di break-point (t_b) e il tempo di adsorbimento ideale (t^*) su di una curva di breakthrough, indicati in figura 7.

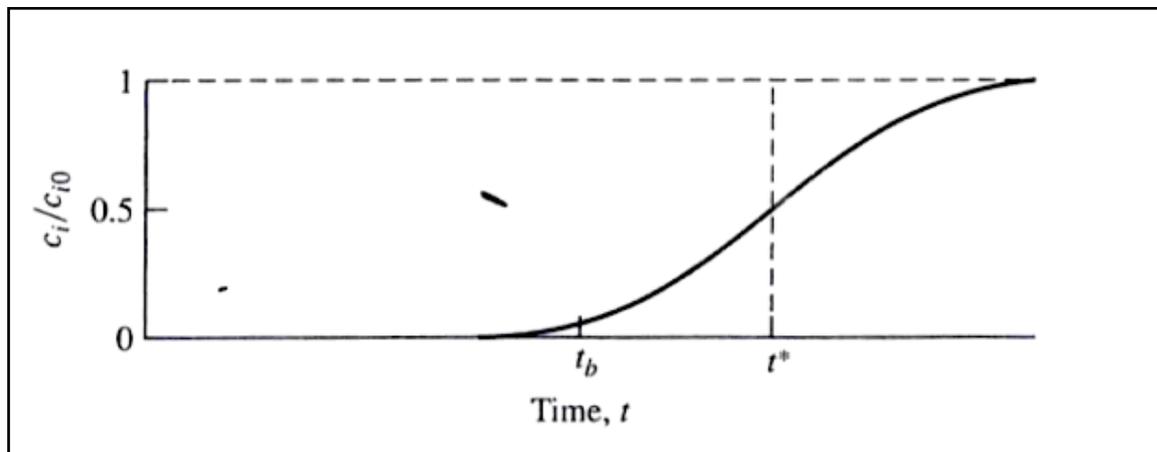


Figura 7: Curva di breakthrough per un letto fisso

Il tempo di break-point, è preso alla concentrazione relativa, (c_i/c_{i0} dove c_{i0} è la concentrazione dell'alimentazione) di 0,05 o 0,10. Poiché solo l'ultima frazione in uscita dalla colonna ha questa concentrazione, la frazione media di soluto rimosso dal momento d'inizio dell'alimentazione al tempo di break-point è 0,99 o superiore. Il tempo ideale di adsorbimento, è il tempo di breakthrough che sarebbe necessario se il soluto fosse in perfetto equilibrio con il letto dell'adsorbente, e darebbe una curva di breakthrough

verticale. Per una curva di breakthrough simmetrica, il tempo ideale di adsorbimento è il tempo in cui c_i/c_{i0} è 0,5. Al tempo ideale di adsorbimento per un letto inizialmente privo del soluto da adsorbire, considerando una unità di area della sezione trasversale della colonna:

$$vc_{i0}t^* = L\rho_b q_{i,sat}$$

dove:

- L = lunghezza del letto;
- $q_{i,sat}$ = concentrazione media del soluto nella fase adsorbente all'equilibrio con la concentrazione dell'alimentazione, considerando il peso dell'adsorbente (peso del soluto i su peso dell'adsorbente);
- v = velocità superficiale;
- c_{i0} = concentrazione di i nell'alimentazione;
- ρ_b = densità di bulk dell'adsorbente.

Il tempo ideale di adsorbimento è dato da:

$$t^* = \frac{L\rho_b q_{i,sat}}{vc_{i0}}$$

La quantità totale di soluto adsorbito al break point, può essere determinata integrando la curva di breakthrough fino al tempo t_b , come indicato in figura 8.

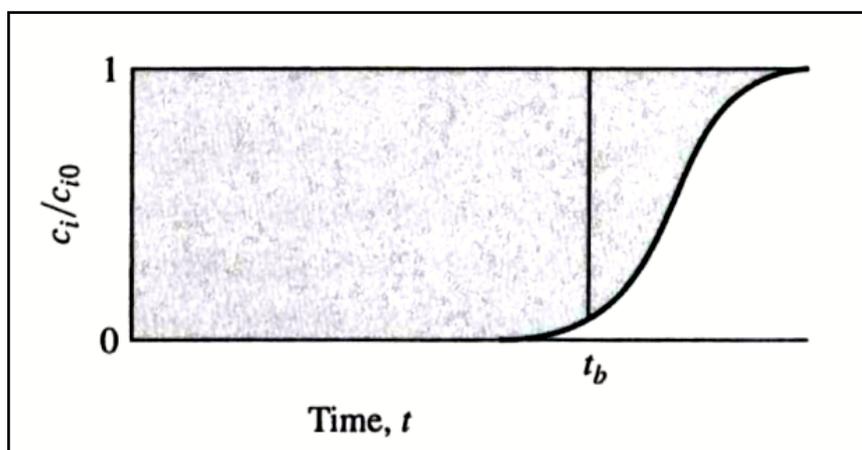


Figura 8: Integrazione della curva di breakthrough

L'area d'integrazione a sinistra della linea verticale al tempo t , è proporzionale al totale del soluto adsorbito fino a quel tempo.

Per un adsorbimento dove l'isoterma di equilibrio è favorevole, il profilo di concentrazione nella zona del trasferimento di massa assume una forma caratteristica che non varia, dal momento che questa zona si propaga attraverso lungo tutto il letto. Al tempo di break-point l'adsorbente, dal punto di ingresso del letto all'inizio della zona di trasferimento di massa, è completamente saturo (all'equilibrio con la concentrazione del soluto nell'alimentazione). Questo quindi, nella zona di trasferimento di massa, passa da una situazione di completa saturazione, ad una libera da soluto. In questa zona, possiamo considerare l'adsorbente come metà saturo e metà inutilizzato. Il principio di scale up afferma che la lunghezza di letto inutilizzata nella zona di trasferimento di massa (LUB), non cambia con la lunghezza del letto.

La lunghezza del letto non utilizzata (LUB) può essere determinata direttamente dalla curva di breakthrough ottenuta sperimentalmente:

$$LUB = \left(1 - \frac{q_{i,tb}}{q_{i,sat}}\right)L = \left(1 - \frac{t_b}{t^*}\right)L$$

dove t_b e t^* sono determinati tramite l'integrazione della curva di breakthrough:

$$t^* = \int_0^\infty \left(1 - \frac{c_i}{c_{i0}}\right) dt$$
$$t_b = \int_0^{t_b} \left(1 - \frac{c_i}{c_{i0}}\right) dt$$

Nel calcolo dello scale up la lunghezza della colonna richiesta può essere trovata facilmente aggiungendo il LUB alla lunghezza calcolata assumendo di arrivare all'equilibrio locale.

CAPITOLO 2

SCOPO

Nel corso del mio tirocinio, svolto presso il Dipartimento di Ingegneria Civile, Chimica, Ambientale e dei Materiali “DICAM”, ho contribuito allo sviluppo di un progetto di ricerca condotto nell’ambito del programma EU FP7 - *“Integrating biotreated wastewater reuse and valorization with enhanced water use efficiency to support the Green Economy in EU and India”* - Water4Crops.

Il programma è volto allo sviluppo di nuove strategie di bioraffineria che hanno lo scopo di trattare, valorizzare e riutilizzare le acque di scarto agroindustriali provenienti da processi di lavorazioni delle biomasse. In particolare, il progetto EU FP7 - Water4Crops, focalizza la sua attenzione sulle acque di vegetazione provenienti da oleifici (OMW).

I problemi ambientali legati alla tossicità delle OMW e l’impossibilità del loro utilizzo diretto come acque di irrigazione, a causa dell’elevato contenuto di composti fenolici, spingono verso lo sviluppo di un processo di separazione che permetta la decontaminazione e valorizzazione delle acque di scarto e il recupero dei composti fenolici ad alto valore aggiunto.

Lo scopo del mio lavoro è stato quello di studiare la fattibilità di un processo in continuo per il recupero dei composti fenolici contenuti nelle acque di vegetazione di due differenti oleifici, mediante adsorbimento in fase solida su una resina polimerica (Amberlite® Xad 16).

Lo studio di fattibilità è inizialmente consistito nello sviluppo di una metodica per la determinazione del contenuto dei fenoli totali, lo studio della cinetica di adsorbimento e la determinazione delle isoterme di adsorbimento. Il lavoro è poi proseguito con l’assemblaggio di un impianto continuo di filtrazione, adsorbimento e desorbimento in scala di laboratorio. Infine, sono stati condotti la caratterizzazione del comportamento fluidodinamico dell’impianto, lo studio delle curve di breakthrough su due diverse acque di vegetazione e uno studio preliminare del processo di desorbimento con recupero del solvente.

CAPITOLO 3

PARTE SPERIMENTALE

3.1 Reagenti utilizzati

- Acido cloridrico, HCl: Produttore Merck. Fumante al 37%. Stato liquido.
- Acido solforico, H₂SO₄: Produttore Baker. Purezza 95-98%, δ 1,84 g/ml, PM 98,08. Stato liquido. R:35, S:2-26-30.
- Folin & Ciocalteu's phenols reagent: Produttore Sigma Aldrich. Concentrazione 2N. Stato liquido.
- Cloruro di sodio, NaCl: Produttore Sigma Aldrich. Purezza > 99,8%, PM 58,44. Stato solido.
- Etanolo CH₃CH₂OH: Produttore Fluka. Purezza > 99,8%, δ 0,789 g/mL, PM 46,07. Stato Liquido.
- Acido gallico C₇H₆O₅: Produttore Sigma Aldrich. Purezza 97,5-99,9 %. Stato solido.
- Acetonitrile CH₃CN: Produttore Scharlan. Purezza > 99,85%, δ 0,786 g/mL, PM 41,05. Stato liquido
- Acido fosforico H₃PO₄: Produttore Carlo Erba. Purezza 85%, δ 1,689 g/mL, PM 97,955. Stato liquido. R:34, S:26-45.
- Sodio carbonato CNa₂O₃: Produttore Sigma Aldrich. Purezza >99,5% , PM 105,99. Stato solido.
- Quarzo sferico grigio: Produttore TES. Proprietà e caratteristiche chimico-fisiche: vedi tabella 2.
- Biomax®: supporto ceramico. Produttore: Askoll Due. Proprietà e caratteristiche chimico-fisiche: vedi tabella 3.
- Amberlite® XAD 16: resina polimerica. Produttore: R; Proprietà e caratteristiche chimico-fisiche: vedi tabella 4.

Tabella 2: Riassunto delle caratteristiche della sabbia

Caratteristiche chimico-fisiche quarzo sferico grigio	
Origine	Alluvionale
Colore	Grigio chiaro
Struttura del cristallo	Trigonale
Forma del granello	Spigoli arrotondati
Diametro (mm)	0,7-1,2
Durezza (secondo scala Mohs)	7
Densità reale (g/ml)	2,65
Densità apparente (g/ml)	1,5
SiO₂	99,80%
Al₂O₃	0,05%
Fe₂O₃	0,02%

Tabella 3: Riassunto delle caratteristiche del Biomax®

Proprietà chimico-fisiche Biomax®	
Densità (g/L)	581
Porosità	55-60 %
Volume medio dei pori (mm ³)	378
Porosità per litro (cm ³)	277
Superficie interfacciale (m ² /m ³)	1·10 ⁷
Diametro pori (µm)	50-500 (>70 %)
Dimensioni	
Altezza (mm)	1
Diametro (mm)	0,8
Composizione	
Argilla	44,6%
Caolino	26,8%
Composizione chimica	
SiO ₂	58%
Al ₂ O ₃	38%
K ₂ O	1,6%
TiO ₂	0,6%
Na ₂ O	0,6%
Altri	1,2%

Tabella 4: Riassunto delle caratteristiche della resina adsorbente

Proprietà Amberlite® XAD 16	
Matrice	Polimero alifatico reticolato
Stato fisico	Particelle bianche traslucide
Percentuale di umidità trattenuta	62-70 %
Densità (g/L)	720
Diametro (mm)	0,56-0,71
Coefficiente di uniformità	<2,0
Contenuto di fini	<0,350 mm : 2,0% max
Area superficiale	>800 m ² /g
Porosità	>0,55 ml/ml
pH range	0-14

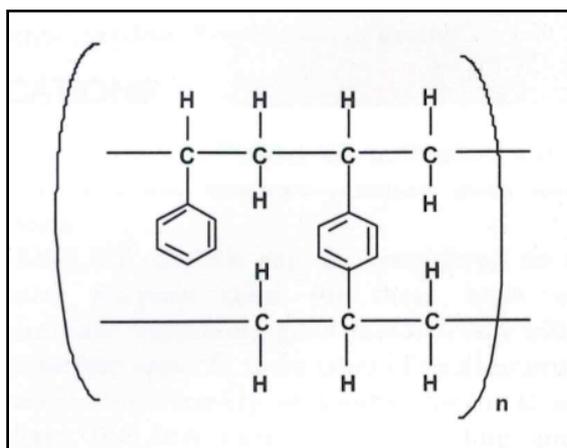


Figura 9: Struttura chimica dell'Amberlite® Xad 16

3.2 Strumentazione e attrezzature

Per la realizzazione dell'impianto sono state utilizzate due colonne in pyrex, realizzate su misura dalla ditta FAVS. Le specifiche sono riportate sotto in tabella 5. La prima è utilizzata come filtro meccanico, la seconda è colonna di adsorbimento vera e propria.

Tabella 5: Specifiche delle colonne

Specifiche della colonna filtrante	
Diametro (cm)	2
Area (cm²)	3,14
Altezza (cm)	52,5
Volume (cm³)	165
Specifiche della colonna adsorbente	
Diametro (cm)	2,44
Area (cm²)	4,68
Altezza (cm)	52,4
Volume (cm³)	245

Tutti i raccordi (raccordi a T, ad L, calzaturini) e rubinetti utilizzati, sono realizzati dalla STIMA, solo ed esclusivamente in acciaio inox e ottone. Oltre a questi, per realizzare punti di campionamento e collegamenti non rigidi, è stato utilizzato del tubo in teflon morbido (dint = 4mm; dest = 6mm).

Per alimentare l'impianto sono stata utilizzate due pompe peristaltiche, usate alternativamente a seconda della velocità di flusso desiderata:

- *Masterflex L/S della Cole Parmer (7553-89)*: 1-100 RPM; dimensioni: 203x102x127 mm. Collegata ad un controller, *Masterflex speed controller (7553-76)*: 230 VAC – 50/60 Hz, 1.6 A, output 180V;
- *Masterflex C/L della Cole Parmer (77120-03)*: 1-6 RPM; Min flow rate: 0,02 ml/min per canale; Max flow rate: 1,3 ml/min per canale; dimensioni: 190x89x89 mm; Potenza: 12 VDC.

Per la realizzazione del sistema di auto campionamento, sono state utilizzate 15 elettrovalvole *L321* ad azione diretta, adatte per l'intercettazione di fluidi e liquidi, della *Sirai*. Queste sono collegate ad altrettanti per regolare l'accensione e lo spegnimento delle stesse.

Per la realizzazione delle curve di calibrazione degli standard di acido gallico e per la determinazione della concentrazione dei fenoli totali, abbiamo utilizzato uno spettrofotometro UV-VIS modello *Cary UV 100* della *Varian inc.* interfacciato con un pc; questo per quel che riguarda il metodo dei fenoli totali di Folin & Ciocalteu.

Per il secondo metodo d'analisi all'HPLC abbiamo utilizzato una HPLC composta da:

- Due pompe *Jasco 880 PU – Intelligent HPLC Pump*, utilizzate per andare a prelevare le due diverse fasi mobili;
- Una camera di miscelazione delle fasi;
- Un degasatore *ERC 3312 –Erma*, per eliminare eventuali gas presenti all'interno delle fasi mobili;
- Un detector *Jasco 875 UV-VIS*;
- Una colonna per HPLC *Kinetex 2.6u C18 100A* della *Phenomenex*, con dimensioni *100 x 4.60 mm*.
- Una interfaccia *Agilent 35900E*, per mettere in comunicazione software e strumento.

Le acque di vegetazione e tutti i campioni prima di essere analizzati sono stati trattati con cicli di centrifugazione. La centrifuga utilizzata è il modello *SL 16R Centrifuge* della *Thermo Scientific*.

Per le prove fluidodinamiche, la conducibilità è stata misurata con un conduttimetro *PC 2700* della *Eutech Instruments*.

3.3 Preparazione delle soluzioni

3.3.1 Preparazione delle acque defenolizzate

Per preparare gli standard di acido gallico ci serviamo di acque defenolizzate con lo scopo di ricreare una matrice sempre più vicina a quella delle OMW reali. Queste si preparano eseguendo due cicli di adsorbimento in batch, utilizzando un rapporto di resina secca su OMW di circa 70 g/L.

Si pone la resina attiva all'interno di un becher, si aggiungono le acque e si pone il becher in uno shaker per 30 minuti a 140 RPM. Una volta finito il primo ciclo si recuperano le acque mediante filtrazione e si esegue un secondo identico ciclo di defenolizzazione alle stesse condizioni con dell'altra resina attiva.

3.3.2 Preparazione delle soluzioni per l'analisi dei fenoli con il metodo di Folin&Ciocalteu

Data la complessità della matrice, per realizzare degli standard di acido gallico più vicini possibili alle acque di vegetazione reali, è utilizzata dell'acqua defenolizzata. Le soluzioni standard sono preparate partendo da una soluzione madre di concentrazione 5 g/L, realizzata con acido gallico solubilizzato in 10 ml di etanolo al 96% e acque defenolizzate centrifugate a 10000 RPM per 15 min a 4°C.

Per diluizione dalla soluzione madre, sono preparate le soluzioni alle altre concentrazioni portando a volume sempre con acqua precedentemente defenolizzata. Si preparano soluzioni a 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 250 mg/L, 400 mg/L e 500 mg/L.

Gli standard sono poi utilizzati per preparare le soluzioni da utilizzare per realizzare la curva di calibrazione. Poniamo in matracci da 25 ml, 12,5 ml di acqua demineralizzata, 0,125 ml di standard di acido gallico alle diverse concentrazioni, 1,250 ml di reagente di Folin Ciocalteu, 3,75 ml di Carbonato di sodio (20% w/v) e poi portiamo a volume con acqua demineralizzata. Poniamo in stufa per 2h a 75°C e poi effettuiamo le misure spettrofotometriche leggendo l'assorbanza a 765 nm.

3.3.3 Preparazione delle soluzioni per l'analisi dei fenoli totali con in HPLC

Il campione di cui dobbiamo determinare il contenuto totale in fenoli viene dapprima centrifugato per 30 minuti a 14000 RPM, successivamente si pone una quantità del campione all'interno di un matraccio, di modo tale che il suo fattore di diluizione risulti 1:10. Si pone poi l'acido gallico all'interno del matraccio di modo tale che la sua concentrazione finale risulti 50 mg/L. Stavolta l'acido gallico viene utilizzato come standard interno. Una volta portato a volume il matraccio si prendono circa 2 ml della soluzione e si filtrano con i filtri a chiocciola per in PVDE per HPLC.

3.3.4 Preparazione dei campioni per l'analisi in HPLC dei fenoli totali provenienti dalle prove di desorbimento

Si prendono 1,7 ml di campione, si trasferiscono in una eppendorf e si fanno centrifugare a 14000 RPM per 30 min. Si pone il surnatante in un boccettino di vetro e si fa fluire azoto fino a quando tutto il solvente (etanolo) non è evaporato. Si solubilizza poi la frazione rimasta con 2 ml di acqua. Il campione viene posto in un matraccio insieme allo standard interno di acido gallico. La concentrazione del campione dovrà essere 10 volte minore di quella di partenza e la concentrazione dello standard interno 50 mg/L. Una volta portato a volume si prendono circa 2 ml della soluzione, si filtrano con un filtro a chiocciola in PVDE (20 µm) ed il campione è pronto per l'analisi.

3.4 Caratterizzazione delle acque

Le acque utilizzate per le due diverse prove, provengono da due oleifici situati in due regioni geografiche differenti, che utilizzano due diversi tipi di lavorazione per l'ottenimento dell'olio d'oliva. Le prime acque analizzate provengono da Imperia (Liguria) mentre le seconde da Gallipoli (Puglia).

3.4.1 Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti

Per la determinazione dei solidi totali contenuti nelle nostre acque di vegetazione, è stata presa un'aliquota di 2 ml di acqua, posta in una piastra petri e fatta evaporare in stufa per circa 8 ore.

Per la determinazione dei solidi sospesi invece la nostra aliquota di acque è stata filtrata con dei filtri in cellulosa (0,2 µm) e i solidi sono stati determinati pesando i filtri per differenza.

Infine i solidi disciolti sono stati determinati per differenza tra solidi totali e solidi sospesi.

Per misurare la densità delle acque di vegetazione utilizziamo il picnometro. Si pesa il picnometro prima pieno d'acqua e poi pieno del liquido di cui si vuole conoscere la densità, dal rapporto fra i due pesi si ha la densità incognita.

m_1 : massa picnometro vuoto;

m_2 : massa picnometro con acqua;

m_3 : massa picnometro + massa liquido in esame;

$d_{(H_2O)}$: densità dell'acqua alla temperatura t ;

$$d = \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) \cdot d_{(H_2O)}$$

3.4.2 Determinazione della concentrazione dei composti fenolici

Sono due i metodi utilizzati per la determinazione dei fenoli all'interno delle acque:

- metodo dei fenoli totali di Folin&Ciocalteu;
- metodo di analisi in HPLC.

3.4.2.1 Metodo dei fenoli totali di Folin&Ciocalteu

Questo è un metodo spettrofotometrico basato su una reazione di ossidazione. Il reagente di Folin&Ciocalteu è una miscela di ossidi di fosforo, vanadio e tungsteno che reagisce con le sostanze riducenti, come i fenoli contenuti nelle acque, dando origine a composti cromogeni la cui concentrazione può essere determinata spettrofotometricamente.

0,125 ml di campione sono posti all'interno di un matraccio da 25 ml in cui sono stati posti precedentemente 12,5 ml di acqua demineralizzata. Si aggiungono poi 1,25 ml di reagente di Folin Ciocalteu, 3,75 ml di Carbonato di sodio (20% w/v) e poi si porta a volume con acqua demineralizzata. Si pongono poi in stufa per 2h a 75°C e poi si effettua la misurazione spettrofotometrica leggendo l'assorbanza a 765 nm e confrontandola con la retta di calibrazione precedentemente realizzata. Tutti i risultati sono espressi come acido gallico equivalenti, poiché la retta di calibrazione è realizzata con questo unico fenolo.

3.4.2.2 Metodo dei fenoli totali tramite analisi HPLC

Il secondo metodo analitico è appunto l'analisi all'HPLC delle acque di vegetazione. È usato un gradiente di fase mobile in tre step, della durata di 15 minuti, con lo scopo di ottenere un unico grande picco la cui area ricalca la concentrazione totale dei fenoli. La fase mobile è acqua con 0,1% di acido ortofosforico all'85% (fase A), e acetonitrile (fase B).

Il gradiente è:

- Da 0 a 4 minuti 100% fase A;
- Da 4 a 6 minuti la fase mobile cambia e va da 100% a 70% di fase A e 30% di fase B;
- Da 6 minuti a 15 minuti 70 % fase A e 30% fase B

Anche in questo caso l'acido gallico è usato come standard e tutti i risultati sono riportati in acido gallico equivalente.

3.5. Procedure per l'attivazione della resina

Per prima cosa, si pesa la resina prima dell'attivazione, si pone all'interno di un becher e si esegue un primo lavaggio in etanolo acidificato (0.5%v/v con HCl 0.1N) ponendo il becher su uno shaker per 15 minuti a 140 RPM. Di seguito, si rimuove l'etanolo con una siringa cercando di non perdere della resina, e la si lascia in stufa per una notte a 105°C.

Il giorno successivo, si pesa la resina secca e si esegue nuovamente un lavaggio con etanolo acidificato (0.5%v/v con HCl 0.1N) per 5 minuti a 140 RPM. Si rimuove poi l'etanolo con una siringa, cercando ancora una volta di non perdere della resina.

Si eseguono due ulteriori lavaggi con acqua demineralizzata, sempre ponendo il becher per 5 minuti a 140 RPM su uno shaker, e si rimuove l'acqua con una siringa.

3.6 Procedura per la determinazione della cinetica di adsorbimento

Lo studio delle cinetiche di adsorbimento è utile per determinare il tempo necessario per il raggiungimento dell'equilibrio. La variazione di concentrazione dei fenoli nella fase

liquida in funzione del tempo è determinata ponendo un quantitativo noto di resina umida attivata (160 g) all'interno di un becher dove successivamente viene aggiunta una quantità nota di OMWW (1,5 L). Il tutto viene posto in uno shaker per 2 ore a 140 RPM. La concentrazione totale dei fenoli è misurata all'interno della fase liquida, ad intervalli regolari di 10 minuti per la prima ora di prova. La concentrazione in fase solida è determinata mediante la seguente relazione:

$$Q = \frac{(c_0 - c_i)V_l}{m_{res}}$$

3.7 Procedura per la determinazione delle isoterme di adsorbimento

Le isoterme di adsorbimento, descrivono la relazione di equilibrio, a specifiche temperature, tra il soluto adsorbito dalla resina e il soluto presente nella fase liquida. Ogni isoterma è ottenuta ponendo all'interno di 10 boccettini in vetro diversi volumi di acqua di vegetazione e aggiungendo il medesimo quantitativo di resina (5 g). Il tutto è posto ad agitare in uno shaker a 140 RPM fino al raggiungimento dell'equilibrio. La concentrazione dei fenoli totali presenti nella fase liquida al raggiungimento dell'equilibrio è determinata utilizzando il metodo di analisi in HPLC mentre la concentrazione in fase solida è ricavata per differenza tra quella iniziale delle acque e quella in soluzione.

3.8 Metodo di impaccamento della colonna

In testa e in coda è caratterizzata da un piccolo pre-filtro che ci è utile per evitare che la fase adsorbente, nel nostro caso la resina, possa fuoriuscire dalle estremità. Questo filtro è realizzato con un primo strato di Biomax® di circa 2-3 centimetri di altezza, e un successivo strato di sabbia di quarzo sferico grigio (d = 0,7-1,2 mm) di un centimetro di altezza.

Per prima cosa, è fatto cadere il primo strato di Biomax® dall'alto, questo si va a depositare sulla coda della colonna, viene poi aggiunto un piccolo quantitativo di acqua e

successivamente lo strato di sabbia. In seguito è realizzato uno slurry con resina precedentemente attivata. Lo slurry, è composto da parti uguali in volume di resina e di liquido. Come liquido è utilizzata una soluzione di acqua e etanolo al 10%. Si inizia quindi a riempire la colonna con lo slurry e contemporaneamente si favorisce l'impaccamento generando un piccolo vuoto tramite una pompa peristaltica collegata alla coda della colonna. Riempiamo con lo slurry fino ad ottenere una altezza del letto di circa 44 - 45 cm. A questo punto poniamo un altro strato di sabbia, sempre di un centimetro circa, ed infine un ultimo strato di Biomax® di altezza 2-3 centimetri.

3.9 Procedure per lo studio fluidodinamico

Il comportamento fluidodinamico della colonna viene studiato andando ad utilizzare come tracciante una soluzione 0,04 M di NaCl. Si fa entrare in colonna un flusso della soluzione tracciante e si va a misurare la variazione di conducibilità in funzione del tempo. Si ferma la prova quando il valore di conducibilità in uscita è identico alla conducibilità del tracciante. Sono effettuate una serie di prove a velocità superficiali differenti e su letti impaccati in momenti diversi. Poiché le misure sono state realizzate in continuo, la sonda del conduttimetro è stata posta all'interno di una celletta in vetro levigato, realizzata appositamente. Il flusso di soluzione di tracciante, tramite un tubo in teflon, è incanalato dall'uscita della colonna direttamente all'interno della celletta, in questo modo può arrivare alla sonda e fuoriuscire da un ulteriore tubo in teflon.

Questi test fluidodinamici a gradino ci restituiscono dei risultati utili per valutare la bontà dell'impaccamento del letto.

3.10 Procedure per la determinazione della curva di Breakthrough

Il primo passo per la realizzazione e lo studio delle curve di breakthrough è la preparazione delle acque. Queste sono filtrate meccanicamente, per eliminare i residui più grossolani, e poi centrifugate in aliquote da 200 ml per 30 minuti a 5000 RPM. Sono poi poste in una tanica accanto all'impianto e collegate tramite un tubo di teflon ad una pompa peristaltica collegata a sua volta alle due colonne. Prima di far passare il flusso

attraverso le colonne, si esegue un lavaggio e un condizionamento preliminare dei tubi dell'impianto, per eliminare i possibili residui derivanti da prove precedenti.

Si fa partire la prova facendo fluire le acque di vegetazione all'interno della colonna d'adsorbimento e campionando a tempi regolari all'uscita della colonna. La prova termina quando la concentrazione in uscita della colonna raggiunge lo 0,9 circa di quella di ingresso. Sono fatte numerose prove a diverse velocità superficiali utilizzando tutte e due le acque provenienti da oleifici differenti.

3.11 Metodo prove desorbimento

3.11.1 Procedura per le prove di solubilità e di recovery della frazione fenolica

Per studiare la solubilità della frazione fenolica presente nelle acque di vegetazione e andare ad ottimizzare il metodo di analisi dei campioni derivati dal desorbimento, sono state realizzate delle prove di solubilità con determinazione della concentrazione recuperata.

Si prendono 10 ml di acque di vegetazione, si centrifugano per 30 minuti a 5000 RPM. Si pongono poi le acque in un pallone precedentemente pesato e si fa evaporare il solvente utilizzando un rotavapor ($t = 20$ minuti circa; T bagno = 30°C ; RPM=100), fino ad ottenere un residuo molto viscoso. Si pesa il residuo e si risolubilizza con 10 ml di un solvente (Fase mobile HPLC, Acqua acidificata, Etanolo acidificato 0.5%v/v con HCl 0.1N, Tampone fosfato a pH 8).

3.11.2 Procedura per la realizzazione delle prove preliminari di desorbimento

Il desorbimento viene realizzato facendo fluire in equicorrente una soluzione di etanolo acidificato 0.5%v/v con HCl 0.1N. Si esegue per prima cosa un iniziale condizionamento dei tubi con la soluzione di etanolo, successivamente il liquido viene fatto passare attraverso la colonna, dalla testa alla coda, con una velocità superficiale di 0,76 cm/min, e vengono realizzati dei prelievi a tempi regolari all'uscita. Viene quindi

studiata la variazione di concentrazione in funzione del tempo come per il caso della curva di breakthrough. Il liquido desorbito viene poi raccolto in un unico contenitore per una successiva determinazione del quantitativo di fenoli totali.

CAPITOLO 4

RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Caratterizzazione delle acque di vegetazione

4.1.1 Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti.

Le prime prove realizzate sulle acque, ci hanno fornito dei dati molto importanti sul contenuto di solidi presenti all'interno delle stesse.

Sono state analizzate due acque provenienti da oleifici diversi, posti in due regioni d'Italia differenti. Le prime provengono da Gallipoli, mentre le seconde vengono da Imperia.

4.1.1.1 Acque della Puglia (Gallipoli)

Le acque provenienti dalla Puglia si presentano come un liquido di colore molto scuro tendente al nero. Le prove eseguite su di esse per quel che riguarda il contenuto di solidi sono riassunte nelle tre tabelle poste in basso.

La tabella 6 riporta i valori di tre prove differenti, eseguite su tre campioni prelevati da uno stesso contenitore, dai quali determiniamo il contenuto di solidi totali (TS) mediante l'evaporazione del solvente all'interno di una stufa.

Tabella 6: Solidi totali OMW della Puglia

C	V campione (L)	m contenitori vuoti (g)	m contenitori + solidi (g)	Solidi (g)	TS (g/L)
1	0,02	61,7934	63,3710	1,5776	78,88
2	0,02	48,8314	50,3963	1,5649	78,24
3	0,02	48,9113	50,3989	1,4876	74,38
					Media 77,17

Come possiamo vedere il valore di solidi totali risulta:

$$TS = (77,17 \pm 4,47) \text{ g/L}$$

La tabella 7 sottostante riporta invece i dati relativi alle prove per la determinazione dei solidi sospesi (TSS).

Tabella 7: Solidi sospesi OMW della Puglia

C	V campione (L)	m contenitori + filtri (g)	m contenitori + filtri + solidi (g)	Solidi (g)	TSS (g/L)
1	0,005	66,0473	66,2516	0,2043	40,86
2	0,005	54,5305	54,7356	0,2051	41,02
3	0,005	49,3375	49,5306	0,1931	38,62
					Media 40,17

Le tre aliquote utilizzate, sono le stesse prelevate per la prova precedente, i campioni sono i medesimi, in modo tale da andare a determinare successivamente i solidi disciolti per differenza.

$$TSS = (40,17 \pm 2,47) \text{ g/L}$$

Quest'ultima tabella mostra il valore dei solidi disciolti (TDS) presenti nelle acque della Puglia, determinati per differenza dai solidi totali e i solidi sospesi.

Tabella 8: Solidi disciolti nelle OMW della Puglia

C	TDS (g/L)
1	38,020
2	37,225
3	35,760
	Media 37,00

Il dato finale che otteniamo con relativo intervallo di fiducia è:

$$\text{TDS} = (37,00 \pm 2,11) \text{ g/L}$$

4.1.1.2 Acque della Liguria (Imperia)

Le acque provenienti dalla Liguria presentano un colore più chiaro rispetto alle acque analizzate in precedenza. Come per le altre, sono realizzate delle prove per la determinazione dei solidi.

Tabella 9: Solidi totali OMW della Liguria

C	V campione (L)	m contenitori vuoti (g)	m contenitori + solidi secchi (g)	Solidi (g)	TS (g/L)
1	0,005	9,0338	9,2075	0,1737	34,74
2	0,005	10,2944	10,4655	0,1711	34,22
3	0,005	10,4732	10,6424	0,1692	33,84
4	0,005	7,6014	7,7744	0,1730	34,60
5	0,005	7,5808	7,7401	0,1593	31,86
6	0,005	8,9501	9,1229	0,1728	34,56
					Media 34,27

In questo caso i campioni prelevati sono in numero maggiore. La tabella 9 riporta i dati riguardanti le prove per la determinazione dei solidi totali.

Notiamo subito che la concentrazione è nettamente inferiore rispetto alle acque provenienti dalla Puglia. Il valore ottenuto è il seguente:

$$TS = (34,27 \pm 1,08) \text{ g/L}$$

La tabella 10 invece mostra i dati relativi alle prove per la determinazione dei solidi sospesi.

Tabella 10: Solidi sospesi OMW della Liguria

C	V campione (L)	m contenitori Vuoti (g)	m contenitori + solidi (g)	Solidi (g)	TSS (g/L)
1	0,02	13,535	13,5542	0,0192	0,96
2	0,02	13,5268	13,5359	0,0091	0,46
3	0,02	13,6162	13,6303	0,0141	0,71
4	0,02	13,765	13,7818	0,0168	0,84
5	0,02	13,5569	13,5704	0,0135	0,67
6	0,02	13,5784	13,5912	0,0128	0,64
					Media 0,71

Anche qua notiamo subito che il valore è nettamente inferiore rispetto a quello ottenuto per le acque analizzate precedentemente.

$$TSS = (0,71 \pm 0,17) \text{ g/L}$$

Come mostra la tabella 11 la maggior parte dei solidi relativi alle acque di Imperia si trovano disciolti al loro interno.

Tabella 11: Solidi disciolti OMW della Liguria

C	TDS (g/L)
1	33,78
2	33,77
3	33,13
4	33,76
5	31,18
6	33,92
	Media 33,26

Il valore medio ottenuto per i solidi disciolti è:

$$\text{TDS} = (33,26 \pm 1,05) \text{ g/L}$$

Riepilogando tutti i dati raccolti in una tabella, notiamo che le acque della puglia hanno un contenuto in solidi nettamente superiore rispetto a quelle di Imperia; solidi che sono distribuiti in maniera più uniforme tra disciolti e sospesi.

Tabella 12: Contenuto dei solidi delle OMW di Puglia e Liguria

	TS (g/L)	TSS (g/L)	TDS (g/L)
Puglia	77,17 ± 4,47	40,17 ± 2,47	37,00 ± 2,11
Imperia	34,27 ± 1,08	0,71 ± 0,17	33,26 ± 1,05

Le acque di Imperia invece hanno una frazione solida che è prettamente disciolta nella fase liquida.

Questi valori ci danno un'idea di quelli che possono essere i trattamenti preliminari da effettuare sulle acque prima di realizzare il processo di adsorbimento in fase solida.

4.1.2 Determinazione della densità delle acque

La densità è determinata mediante l'utilizzo del picnometro utilizzando la relazione:

$$d = \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) \cdot d_{t(H_2O)}$$

m_1 : massa picnometro vuoto;

m_2 : massa picnometro con acqua;

m_3 : massa picnometro + massa liquido in esame;

$d_{t(H_2O)}$: densità dell'acqua alla temperatura t ;

Tabella 13: Densità delle OMW di Puglia e Liguria

	m_1 (g)	m_2 (g)	m_3 (g)	d_{OMWW} (g/ml)
Puglia	40,62691	145,77	143,52	1,02
Liguria	40,62691	145,03	143,54	1,01
$d_{H_2O} (25^\circ C)$ (g/ml)	0,997			

Come possiamo vedere dalla tabella le due densità sono pressoché identiche.

4.1.3 Determinazione della concentrazione dei composti fenolici

La determinazione della concentrazione dei polifenoli è uno degli step fondamentali della caratterizzazione delle nostre acque. Lo scopo del nostro progetto è recuperarli e quindi tutte le prove che servono per ottimizzare il processo sono legate alla determinazione del contenuto di polifenoli. Data la matrice inusuale e molto complessa da analizzare non esiste una metodica riportata in letteratura che corrisponde al nostro caso. Inoltre, una caratteristica del metodo da tenere in considerazione è quella della rapidità di analisi, cioè la possibilità di seguire l'andamento delle prove quasi in tempo reale. Sono utilizzati

due diversi metodi, che originariamente servivano per la determinazione di polifenoli in matrici diverse e meno complesse ma che sono stati adattati al nostro caso.

4.1.3.1 Metodo dei fenoli totali di Folin&Ciocalteu

Il metodo è molto utilizzato per la determinazione dei fenoli in matrici come il vino, l'olio o altre matrici più semplici. Questo si basa su una reazione di ossidazione realizzata tramite il reagente di Folin&Ciocalteu. La reazione di ossidazione fa variare lo stato di ossidazione dei metalli che compongono il reagente dando origine ad una colorazione blu più o meno marcata a seconda della concentrazione di fenoli presenti in soluzione.

Il metodo richiede la realizzazione di una retta di taratura che, per semplicità, si ricava utilizzando un fenolo semplice come l'acido gallico. Tutti i risultati sono poi riportati in "acido gallico" equivalenti.

La prima retta è realizzata a partire da una soluzione madre di acido gallico. Per diluizione con acqua demineralizzata sono ottenute tutte le altre concentrazioni.

Tabella 14: Valori di assorbimento per soluzioni di acido gallico in acqua demineralizzata

Concentrazione Acido Gallico (mg/L)	Assorbanza (765 nm)					Media
1	-0,017	-0,042	-0,016	-0,045	-0,037	-0,031
2	0,205	0,204	0,197	0,174		0,195
3	0,313	0,278	0,287	0,304		0,295
4	0,428	0,324	0,283	0,463		0,375
5	0,887	0,660	0,873	0,694		0,779

Le prove sono eseguite se possibile in quadruplo perché spesso, alcuni dei campioni risultavano essere illeggibili, per via della formazione di una torbidità probabilmente generata dalla formazione di un precipitato molto fine, quasi sicuramente un carbonato.

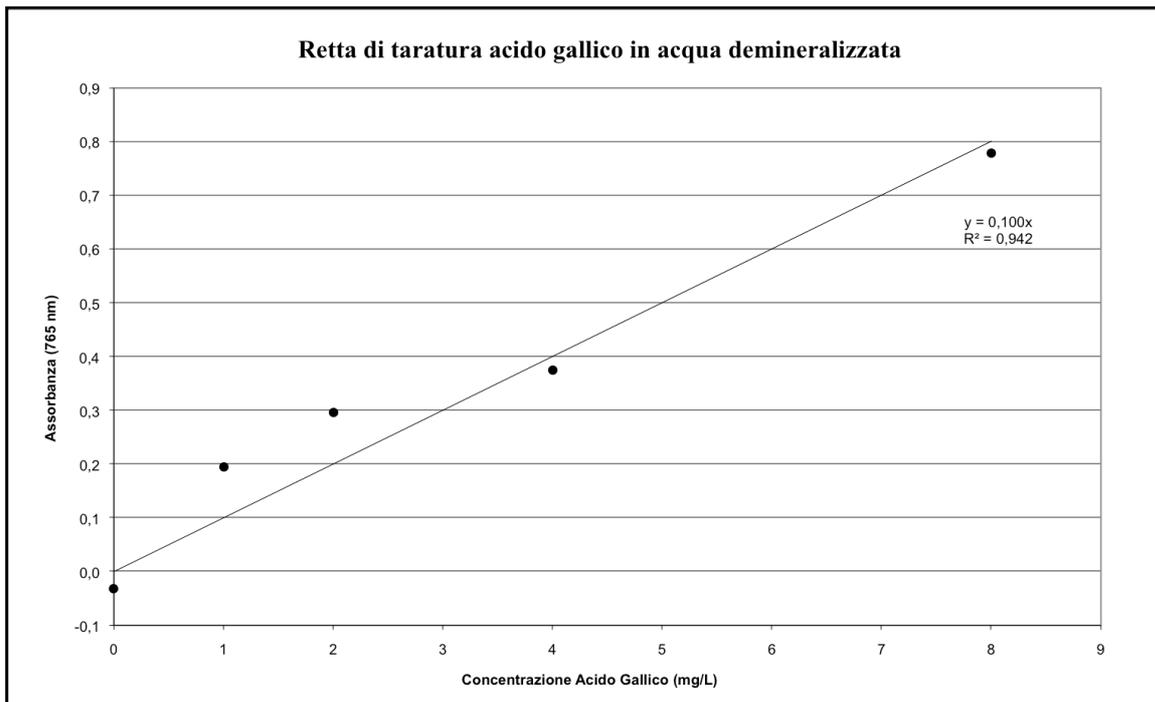


Figura 10: Retta di taratura dell'acido gallico in acqua demineralizzata

L'equazione di interpolazione ottenuta è:

$$y = 0,091 x + 0,046$$

con un fattore di correlazione di 0,96.

In realtà gli standard realizzati con acque demineralizzate non si avvicinano come composizione alla matrice reale. Per questo è stata realizzata una curva di calibrazione utilizzando delle acque defenolizzate al posto delle acque demineralizzate, cercando così di ricalcare il più possibile la composizione della matrice reale.

Tabella 15: Valori di assorbimento per soluzioni di acido gallico in acqua defenolizzata

Concentrazione Acido Gallico (mg/L)	Assorbanza (765 nm)			Media
0,0	-0,044	-0,058	0,000	-0,034
0,3	0,020		0,010	0,015
0,5	0,048	0,028	0,081	0,052
0,8		0,050	0,058	0,054
1,3	0,089		0,041	0,065
2,0	0,159	0,091	0,147	0,132
2,5	0,168			0,168

I dati mancanti all'interno della tabella sono quelli scartati per via della torbidità che ci fa ottenere dei valori molto discordanti da quelli attesi.

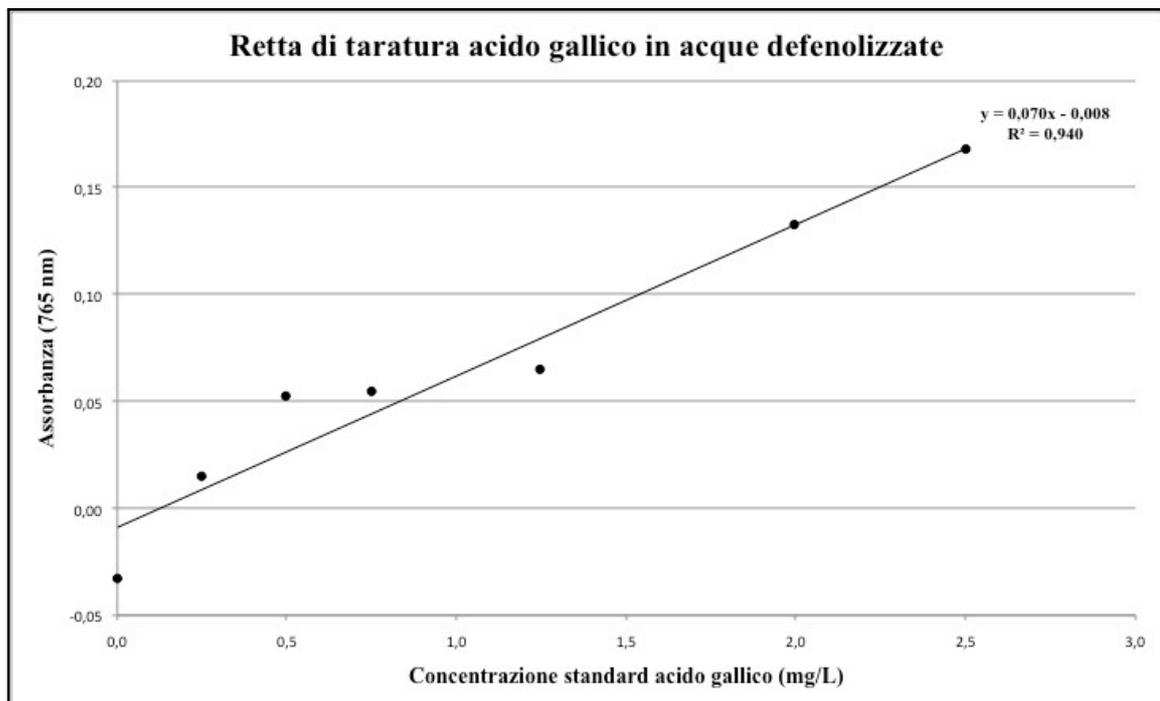


Figura 11: Retta di taratura acido gallico in acque defenolizzate - metodo Folin Ciocalteu

L'equazione di interpolazione ottenuta è:

$$y = 0,070 x - 0,008$$

con un fattore di correlazione di 0,94.

Le due rette sono molto simili, bisogna però sottolineare il fatto che in tutti e due i casi stiamo utilizzando dei valori medi. La deviazione standard per alcuni punti è molto alta, come mostrano i valori in tabella. La dispersione di questi valori supera a volte il 50%.

Inoltre c'è il problema riguardante i dati da scartare. Come possiamo vedere dalla tabella 15 dobbiamo scartare un buon numero di dati che ci costringe ad eseguire delle analisi in quadruplo allungando notevolmente i tempi. Per questo è stato necessario sviluppare un altro metodo che ci consente di avere delle analisi più precise e dei tempi più ristretti.

4.1.3.2 Metodo dei fenoli totali tramite analisi in HPLC

L'idea del metodo è di utilizzare l'HPLC non per andare a separare i diversi singoli fenoli, ma trovare un gradiente che li unisca sotto un unico grande picco la cui area può essere considerata proporzionale alla concentrazione dei fenoli totali. Si utilizza l'acido gallico come standard interno e l'area dei polifenoli sarà rapportata all'area dell'acido gallico ed il contenuto in polifenoli totali sarà espresso come "Acido gallico equivalente".

Il primo passo per lo sviluppo del metodo è stato quello di andare realizzare una retta di taratura con acido gallico in acque demineralizzate. Questo per vedere se c'è un rapporto di linearità tra concentrazione e area e per scegliere la concentrazione da utilizzare per lo standard interno.

Tabella 16: Variazione aree del picco di standard di acido gallico in funzione della concentrazione

Concentrazione Acido gallico (mg/L)	Area Picco (u.a)	Area Picco (u.a)	Media Picchi (u.a)
0	0	0	0
10	1.848	1792	1820
20	4.064	4098	4081
30	5.663	5102	5383
50	9.016	9067	9042
100	22.092	21892	21892

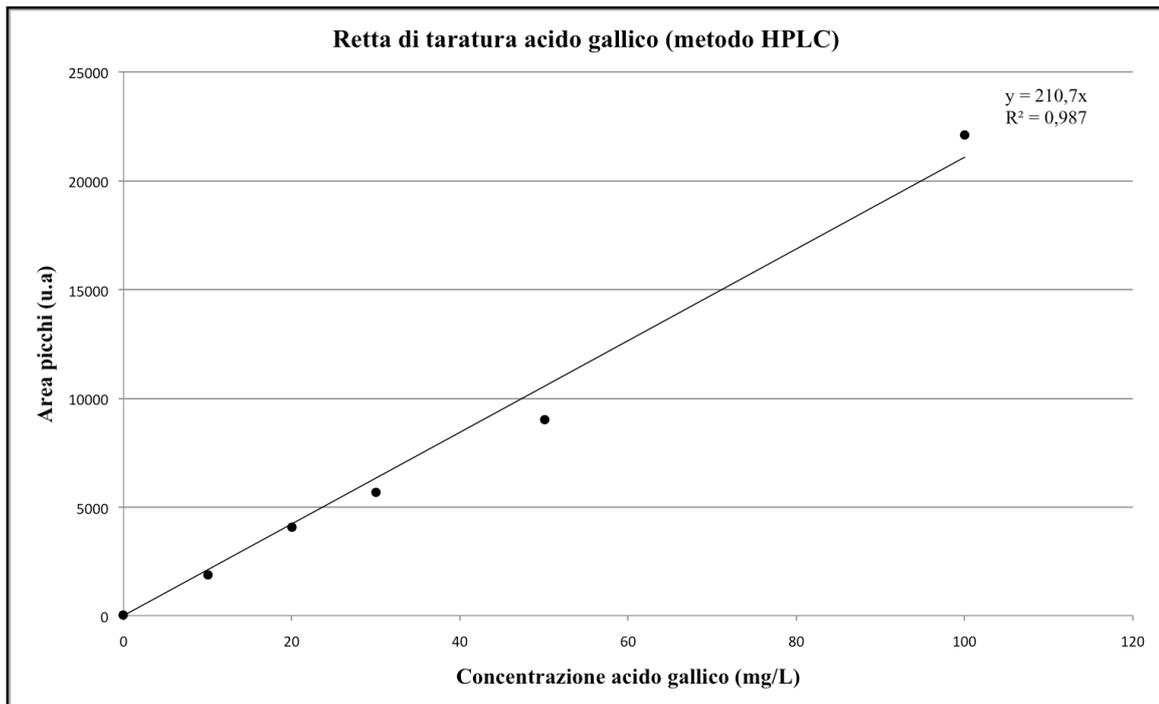


Figura 12: Retta di taratura acido gallico in acque defenolizzate – metodo di analisi in HPLC

Come possiamo vedere dal grafico la risposta delle aree alla variazione di concentrazione è lineare con un coefficiente di correlazione di 0,99.

Il passo successivo è stato quello di eseguire una taratura delle acque di vegetazione, andando a determinare l'area del picco a diverse diluizioni, per osservare anche in questo caso è presente di tipo lineare tra concentrazioni e aree.

Come possiamo notare dalla tabella 17 e dal relativo grafico in figura 13 anche l'andamento delle aree delle acque è lineare rispetto alla variazione di concentrazione, con un fattore di correlazione di 0,99.

Tabella 17: Variazione aree del picco di OMWW in funzione della diluizione

Fattore di diluizione delle OMWW	Area Picco (u.a.)	Area Picco (u.a.)	Media Aree (u.a.)
20	12636	12103	12369
10	25569	23722	14646
5	33053	31945	32499

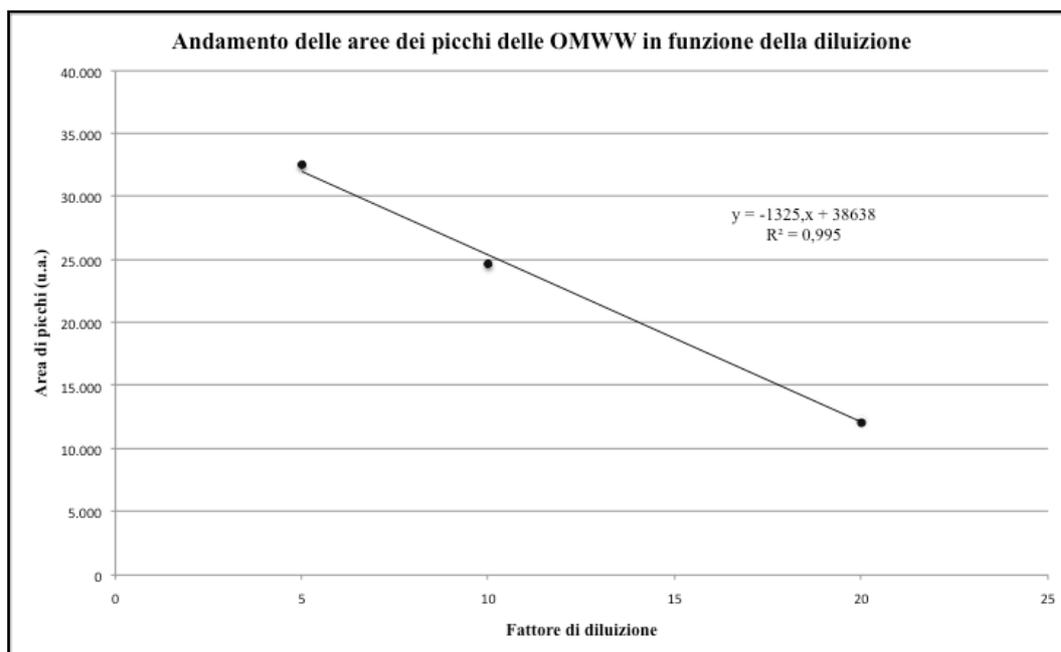


Figura 13: Variazione delle aree dei picchi delle OMW in funzione del fattore di diluizione

Guardando i grafici relativi agli standard di acido gallico e all'andamento delle aree dei picchi delle acque di vegetazione in funzione della diluizione, si decide per la preparazione dei campioni da analizzare con il metodo, di utilizzare uno standard interno di acido gallico alla concentrazione finale di 50 mg/L e di utilizzare un fattore di diluizione per le acque di 10.

Per la scelta del gradiente invece, quello che ci consente di ottenere un picco relativo ai fenoli delle acque più stretto possibile è:

Tabella 18: Gradiente selezionato per analisi all'HPLC

Tempo (min)	Fase mobile A %	Fase mobile B %
0	100	0
4	100	30
6	70	30
15	70	30

dove la fase A è acqua con 0,1 % di acido fosforico all'85% e la fase B è acetonitrile puro.

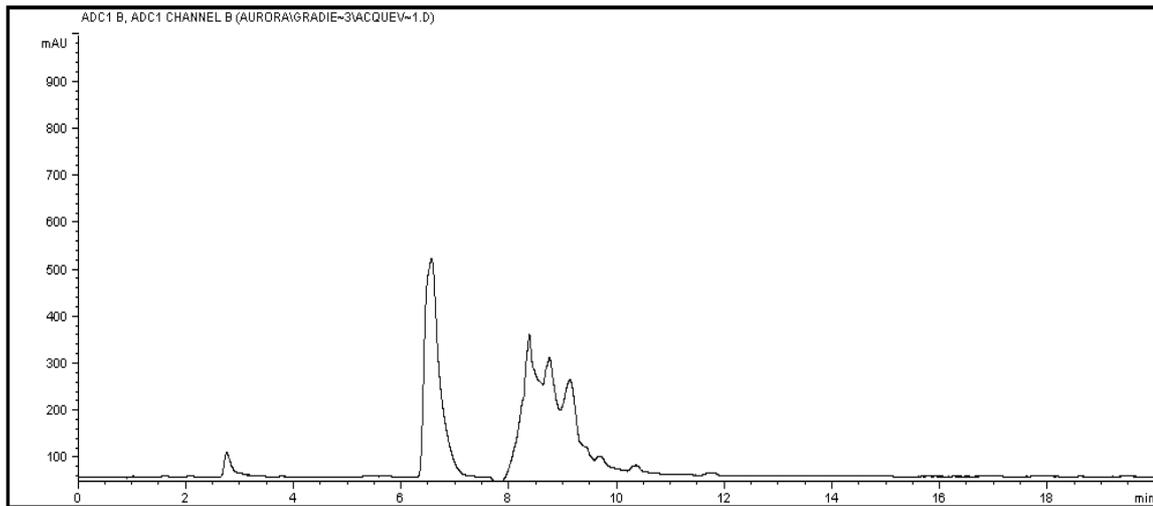


Figura 14: Cromatogramma delle OMW con lo standard interno di acido gallico

Il primo picco, circa a 7 minuti, è lo standard interno di acido gallico, mentre il secondo gruppo di picchi sono i fenoli. L'integrale dell'area ci fornisce la concentrazione.

La tabella 19 ci fornisce un quadro generale sulla caratterizzazione completa delle nostre due acque:

Tabella 19: Riassunto delle caratteristiche delle due acque

	Liguria (Imperia)	Puglia (Gallipoli)
Polifenoli totali (mg/L)	1600 ± 91	2900 ± 85
Solidi totali (g/L)	34,27 ± 1,08	77,17 ± 4,47
Solidi sospesi (g/L)	0,71 ± 0,17	40,17 ± 2,47
Solidi disciolti (g/L)	33,26 ± 1,05	37,00 ± 2,11
COD (g/L)	31,5	68,7
Carboidrati totali (g/L)	5,4	16,8
Densità (g/ml)	1,01	1,02
pH	4,60	4,62

4.2 Cinetiche di adsorbimento

La cinetica di adsorbimento ci è utile per determinare il tempo di raggiungimento dell'equilibrio. Sono stati condotti diversi test cinetici per determinare il tempo necessario per il raggiungimento dell'equilibrio per le due diverse acque.

Si va quindi a determinare la massa di polifenoli adsorbiti su massa di resina attiva (Q), e si ricava il tempo di raggiungimento di equilibrio quando questo valore diventa costante. Questa viene determinata mediante la relazione:

$$Q = \frac{(c_0 - c_i)V_l}{m_{res}}$$

Tabella 20: Dati riguardanti la determinazione dell'isoterma a 20° delle OMW della Puglia

c₀ (mg/L)	Tempo (min)	c_i (mg/L)	Q (mg/g_{res})
2750	0	2719	0
2460	10	1657	10
2948	20	1739	9
Media	30	1573	11
2719	40	1580	10
m resina	50	1470	11
163,07	60	1521	11
V	120	1459	12
1,5	150	1456	12

La tabella 20 e i grafici in figura 15 e 16 mostrano un esempio dell'andamento della concentrazione dei polifenoli in fase solida in funzione del tempo. Per le acque della puglia il tempo di raggiungimento dell'equilibrio è stato di 60 minuti, mentre per le acque della Liguria è risultato pari a 40 minuti.

Le prove sperimentali relative alle isoterme di adsorbimento sono, quindi, state effettuate assumendo un tempo di 60 minuti.

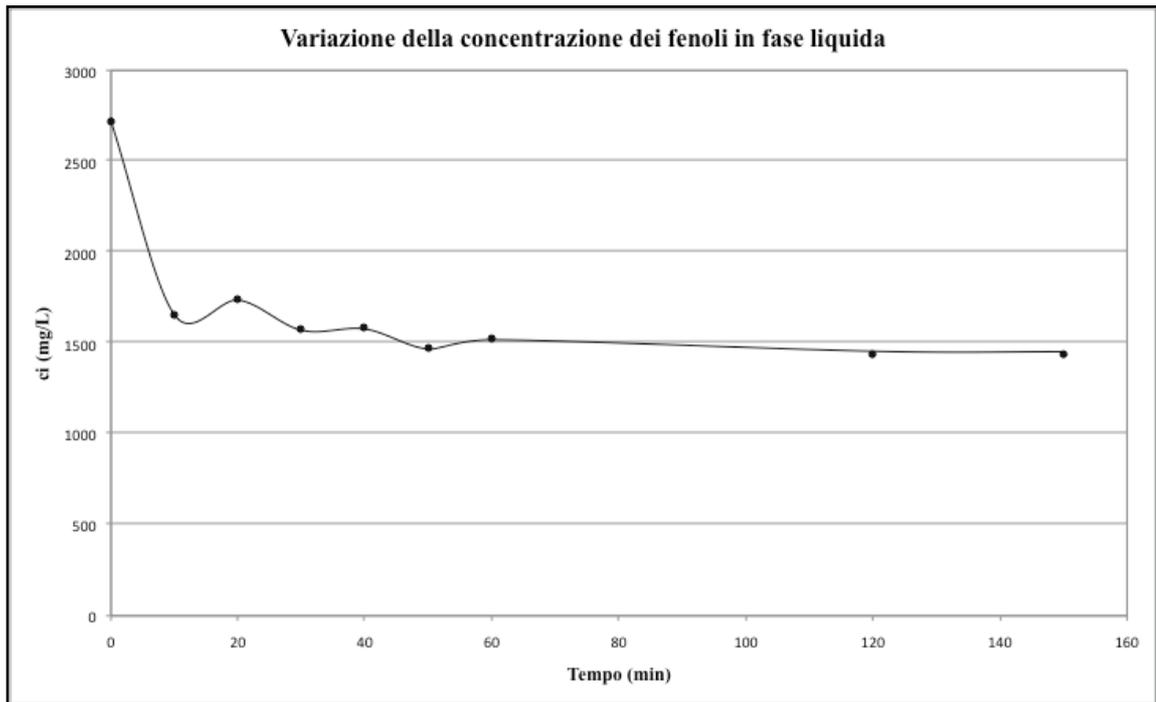


Figura 15: Variazione della concentrazione dei composti fenolici in fase liquida nella prova cinetica

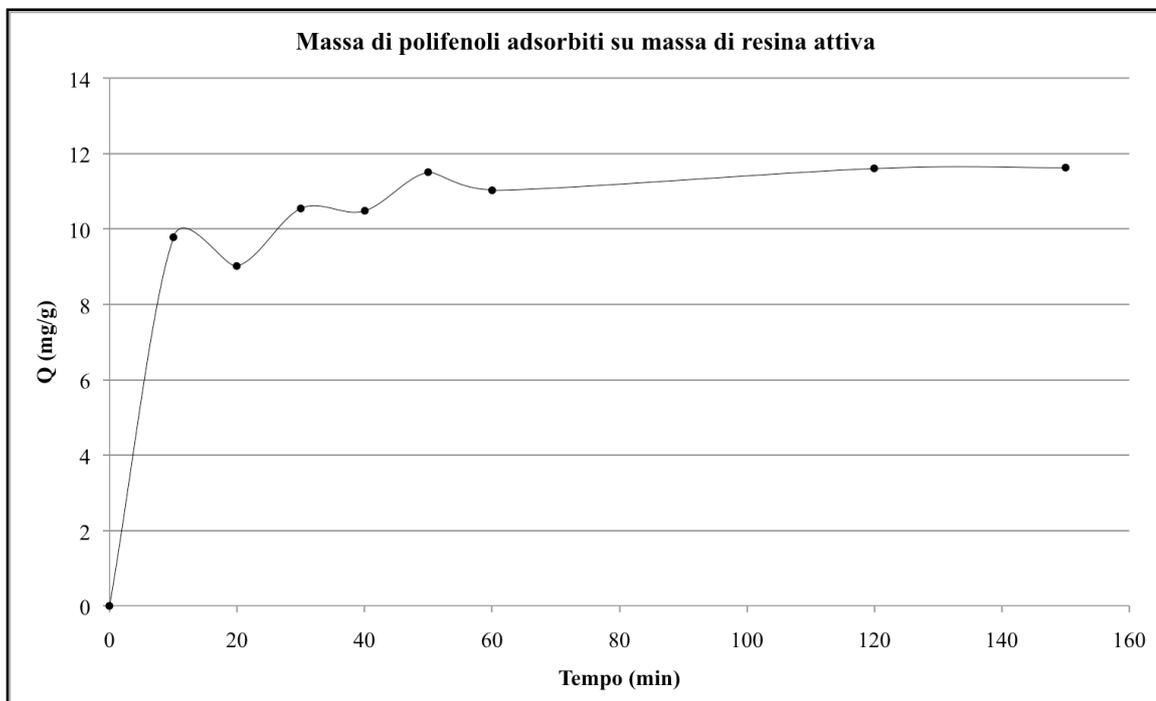


Figura 16: Variazione della massa dei composti fenolici adsorbiti sulla resina in funzione del tempo per la prova cinetica

4.3 Isotherme di adsorbimento

Le isoterme di adsorbimento descrivono la relazione di equilibrio che si instaura tra il soluto adsorbito e il soluto nella fase liquida ad una determinata temperatura. Come vediamo dalla tabella 20 ogni isoterma è ottenuta aggiungendo diversi volumi di acque di vegetazione a quantitativi fissi di resina.

Come per la cinetica si vanno a determinare c_i e Q e si pongono in grafico. La media del rapporto tra questi, e quindi anche la pendenza della curva ottenuta ci fornisce la K_{ads} .

Tabella 21: Dati relativi all'isoterma a 20°C delle OMW della Puglia

Campione	m resina (g)	V (L)	c_i (mg/L)	Q (mg/g)	K_{ads} (L/g)
1	17,1604	0,01	237	1	0,006
2	17,1363	0,025	295	4	0,012
3	17,0653	0,04	380	5	0,014
4	17,0796	0,06	464	8	0,017
5	17,0495	0,09	422	12	0,029
6	17,0504	0,13	510	17	0,033
7	17,0812	0,19	745	22	0,029
8	17,0664	0,28	1148	26	0,022
9	17,1034	0,48	1323	39	0,030
10	6,8296	0,45	1932	52	0,027
					Media 0,024

Le curve di equilibrio sono state studiate a due temperature, 20°C e 35°C, per entrambe le acque. In tutti i casi i dati sperimentali portano ad una curva di equilibrio costituita da una retta passante per l'origine (modello lineare). Una spiegazione di questo comportamento non usuale è che la resina possiede un'elevata capacità adsorbente, molto superiore rispetto al grado di saturazione dei siti attivi raggiunto nelle prove.

In figura xx è mostrata come esempio l'isoterma relativa alle acque della puglia a 20°C per la quale il coefficiente di ripartizione è risultato pari a 0.026 ± 0.004 . La costante di adsorbimento è risultata la medesima per entrambe le acque testate e scarsamente dipendente dalla temperatura nell'intervallo tra 20 e 35 °C.

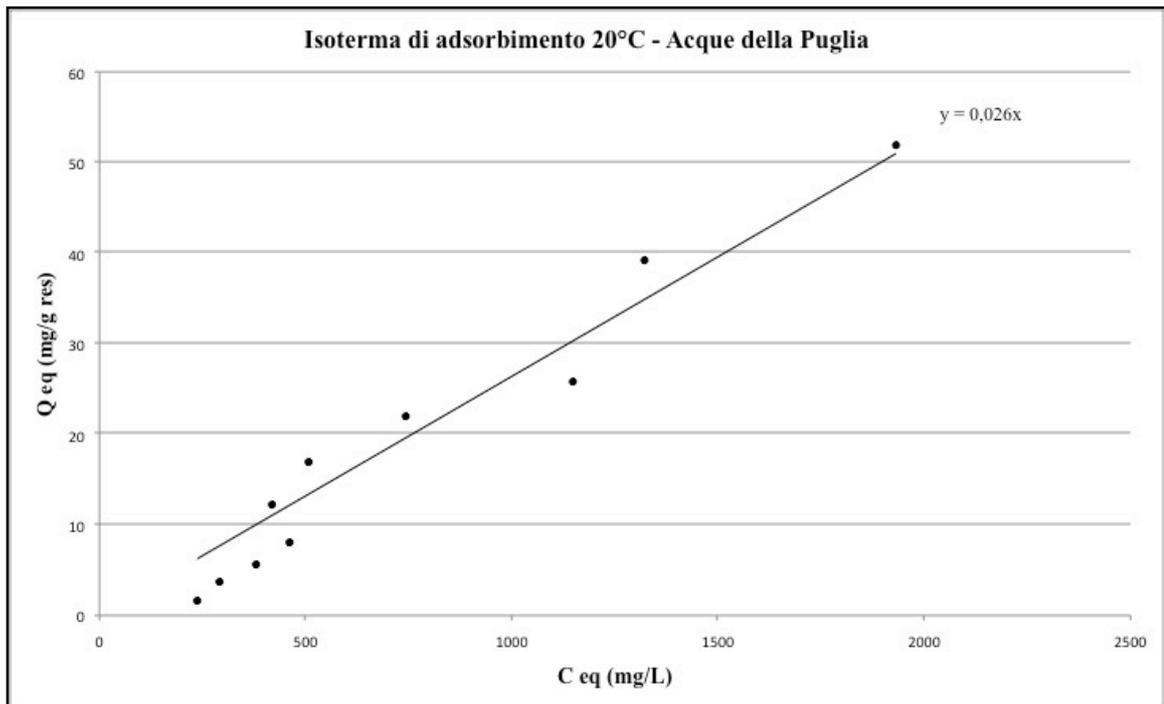


Figura 17: Isoterma di adsorbimento relativa alle OMW della Puglia a 20°C

4.4 Realizzazione dell'impianto

L'impianto, totalmente assemblato nei laboratori del DICMA, è composto da due colonne in pyrex di dimensioni differenti. Queste sono poste una affianco all'altra e sorrette da una struttura metallica anch'essa realizzata appositamente. La prima colonna, più lunga e con un diametro maggiore, ha funzione di filtro meccanico ed è riempita con uno strato di circa 10 cm di materiale ceramico (Biomax®) nella parte inferiore, e con del quarzo grigio di dimensioni simili alla resina utilizzata come adsorbente, che riempie circa i 2/3 della colonna. Questa prima colonna, ha la funzione di filtrare i possibili residui solidi di piccole e medie dimensioni che possono entrare all'interno della colonna di adsorbimento e andare a far aumentare le perdite di carico.

La vera e propria colonna di adsorbimento ha dimensioni minori ed è riempita anch'essa con uno strato di Biomax® e sabbia in testa e in coda, per evitare la fuoriuscita del materiale adsorbente vero e proprio, nel nostro caso la resina polimerica Amberlite® Xad 16.

Le due colonne sono poste in comunicazione tra loro da dei raccordi in acciaio e dei tubi flessibili in teflon. In condizioni normali, il flusso di liquido è alimentato da una pompa

peristaltica ed entra dalla coda della colonna filtrante e fuoriesce dalla testa, per poi rientrare dalla testa della colonna adsorbente in downflow. La presenza di un tubo in teflon al centro tra le due colonne e di un sistema di rubinetti permette però di escludere alternativamente l'una o l'altra colonna e di modificare il percorso del flusso di liquido consentendo qualsiasi tipo di configurazione.



Figura 18: Foto dell'impianto

A tutte le colonne in testa è stato collegato uno spurgo, che permette di eliminare l'eventuale presenza di aria all'interno delle stesse, aria che si può accumulare nelle operazioni di pulizia, impaccamento o semplicemente per la presenza di perdite nella raccorderia. All'ingresso di ciascuna delle due colonne sono stati posti due indicatori di pressione che consentono di andare a monitorare le perdite di carico e gli eventuali intasamenti durante le prove di breakthrough.

In testa e in coda a ciascuna delle due colonne sono stati realizzati dei punti di campionamento per consentire il prelievo di aliquote di liquido da mandare alle analisi e per la conduzione delle prove fluidodinamiche.

E' stato realizzato successivamente un sistema di autocampionamento per permettere il monitoraggio delle prove di breakthrough anche nelle ore notturne. Questo consiste in un sistema di 15 elettrovalvole montate in serie di cui è possibile regolare l'apertura e la

chiusura tramite una serie di 15 timer collegati a ciascuna elettrovalvola. Al di sotto di queste, sono poste delle falcon in plastica per raccogliere le aliquote di campione. Al tempo assegnato dal timer abbiamo l'apertura dell'elettrovalvola, il conseguente campionamento dell'aliquota nella falcon e la chiusura.

4.5 Caratterizzazione del comportamento fluidodinamico dell'impianto

Il comportamento fluidodinamico della colonna è studiato realizzando dei test stimolo/risposta convenzionali con disturbo a gradino utilizzando NaCl come tracciante. Sono effettuate prove a velocità superficiali differenti e su letti impaccati in momenti diversi. In figura 6 è riportata a titolo di esempio la curva di risposta ("curva F") per la prova a velocità superficiale 2,00 cm/min.

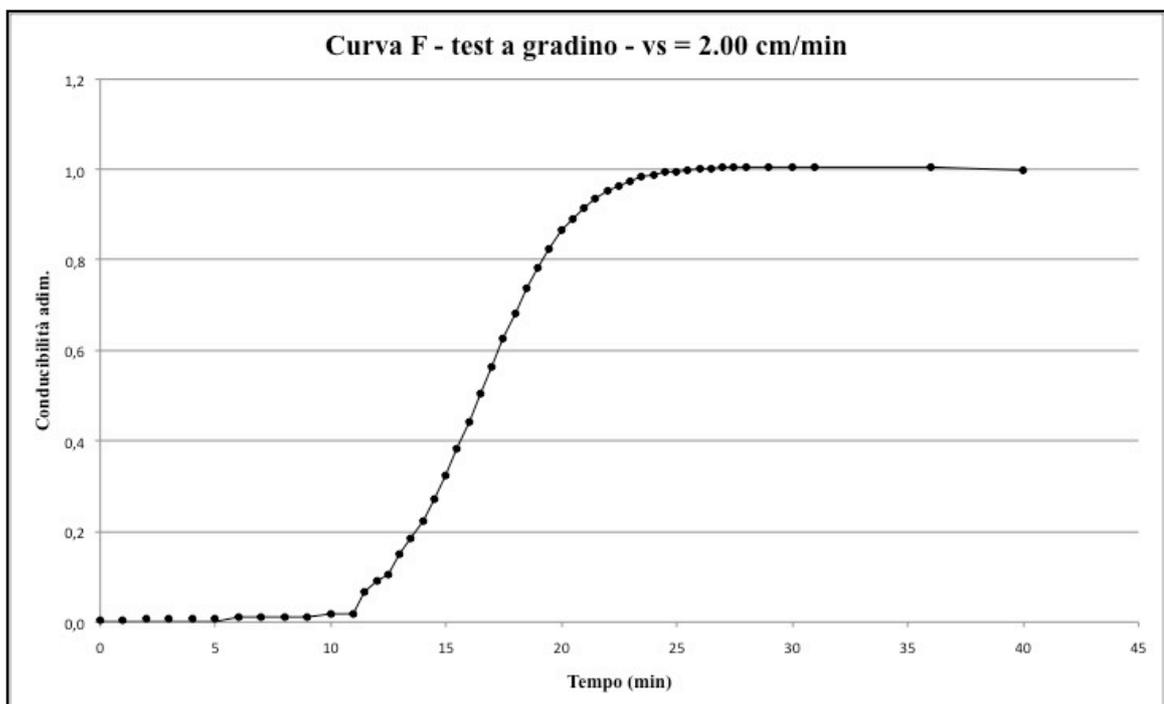


Figura 19: Curva F ottenuta dal test a gradino a velocità superficiale 2.0 cm/min

In tutti i casi studiati è stata ottenuta una "curva F" con forma sigmoide che indica una buona qualità dell'impaccamento. Dall'integrale della funzione (1-F) è possibile

calcolare il tempo di riempimento della colonna e, quindi, il grado di vuoto apparante del sistema, parametro necessario per simulare il processo. Nel caso in figura il tempo di riempimento è di 16,45 minuti.

Tabella 22: Dati e risultati della prova fluidodinamica

Specifiche colonna adsorbente	
d (cm)	2,44
A (cm²)	4,676
H (cm)	52,4
V (cm³)	245
Matrice adsorbente (Amberlite)	
d particelle (mm)	0,56-0,71
H riempimento (cm)	44,5
V riempimento (ml)	208
V liquido (ml)	136
porosità	65,4%
Specifiche prova e tempi di riempimento	
Q (ml/min)	9,35
v_s (cm/min)	2,00
τ colonna vuota (min)	26,2
τ prefiltro (min)	0,8
τ postfiltro (min)	1,1
τ resina (min)	14,6
τ colonna (min)	16,4

La tabella 22 riassume tutte le specifiche della colonna utilizzata, i dati della prova e ci fornisce tutti i risultati relativi ad essi. Tramite la curva F siamo in grado di ricavare il valore di τ della colonna. Calcoliamo il tempo di riempimento relativo al volume della colonna in cui è posta resina polimerica per sottrazione dai tempi di riempimento del prefiltro e postfiltro. In questo modo sono in grado di determinare il volume di liquido relativo a questa zona della colonna che se rapportato al volume della colonna relativo alla parte in cui è posta la resina mi dà la porosità, che in questo particolare caso è del 65%.

Sono state fatte diverse prove sullo stesso letto a velocità superficiali differenti e poi una prova impaccando nuovamente il letto. Possiamo vedere i risultati di queste prove nella tabella 23 che ci mostra come i dati siano ripetibili per lo stesso letto, anche variando le velocità superficiali.

Tabella 23: Porosità ottenute con diverse prove fluidodinamiche

Letto	v_s (cm/min)	Porosità
1	2,0	66 %
1	2,0	66 %
1	0,71	65 %
2	0,71	47 %

Impaccando nuovamente la colonna, abbiamo una sensibile variazione della porosità. Questo ci fa pensare che ogni volta che si ripete l'operazione di impaccamento è necessario eseguire lo studio fluidodinamico.

Dalla derivata della "curva F" è, infine, possibile ottenere la "curva E" ovvero la curva di distribuzione dei tempi di residenza.

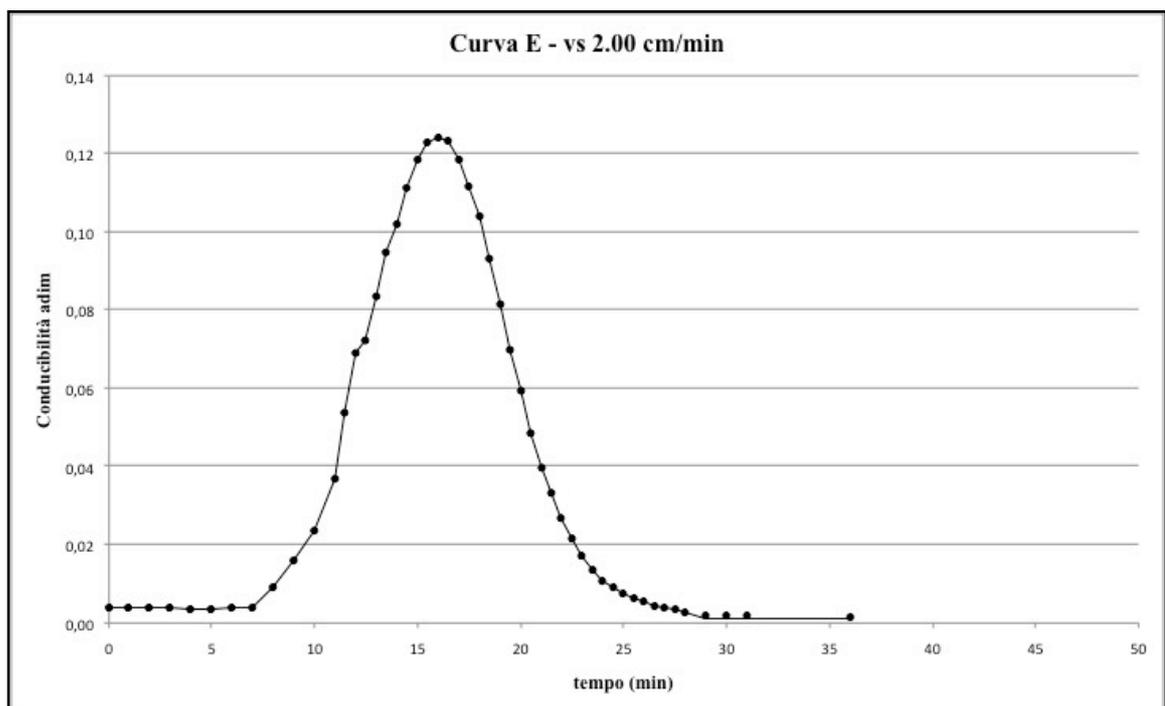


Figura 20: Curva E relativa al test fluidodinamico condotto a velocità superficiale 2.00 cm/min

Dalla curva E possiamo ottenere altri parametri che ci sono utili per definire il grado di impaccamento della nostra colonna, come il numero di piatti (N), l'altezza del piatto teorico (HEPT) e l'asimmetria (A_s). Il numero di piatti teorici in questo caso è 44,10,

circa un piatto per ogni un centimetro del letto impaccato. Il valore di asimmetria per la curva della distribuzione dei tempi di residenza si attesta sull'1,14 pienamente all'interno del range dei valori ottimali (0,8 – 1,4)^[11]

4.6 Curve di breakthrough

Una parte fondamentale per la progettazione e l'ottimizzazione di un processo di adsorbimento è lo studio della curva di breakthrough, ovvero delle curve di andamento nel tempo della concentrazione di soluto in uscita dalla colonna di adsorbimento.

Le prime due prove sono state realizzate sulle acque della Liguria a velocità superficiali di 0,8 e 2,4 cm/min. In entrambe i casi la concentrazione dei fenoli nella corrente uscente è diventata significativa dopo meno di 1 h di conduzione e, inoltre, alla fine dei test dopo 30-40 ore è stata ottenuta solo una parziale saturazione del letto (65-75%). I test successivi sono eseguiti sulle acque della Puglia con risultati simili. Un primo test è realizzato a una velocità superficiale di 0,8 cm/min, un secondo test è realizzato a una velocità superficiale molto inferiore, 0,04 cm/min per testare il sistema in condizioni drasticamente diverse.

Le curve sperimentali sono state elaborate e adimensionalizzate per poterle confrontare e ricavare delle indicazioni su quale sia il fenomeno fisico che determina la forma della curva di breakthrough e, quindi, poter ottimizzare il processo. A tale fine la concentrazione viene normalizzata rispetto alla concentrazione entrante e il tempo viene adimensionalizzato dividendolo per il tempo di riempimento. Nella figura 21 e 22 sono riportate sovrapposte tutte le curve adimensionalizzate per le due diverse acque.

Nel caso del flusso a pistone, in condizioni di equilibrio e con una isoterma lineare, ci si aspetterebbe un cambiamento molto netto della concentrazione in uscita dopo un numero di tempi di permanenza che dipende dal valore della costante di ripartizione^[12]. Al contrario, per entrambe le acque, le curve adimensionali hanno un andamento sigmoidale e i test a diverse velocità superficiali sono totalmente sovrapponibili. Questo ci porta a pensare che la dispersione legata al comportamento fluidodinamico del sistema sia il parametro chiave che condiziona la forma delle curve di breakthrough. Si è pertanto deciso di allestire un nuovo impianto aumentando di 4 volte la lunghezza del letto di resina. L'impianto è in fase di assemblaggio.

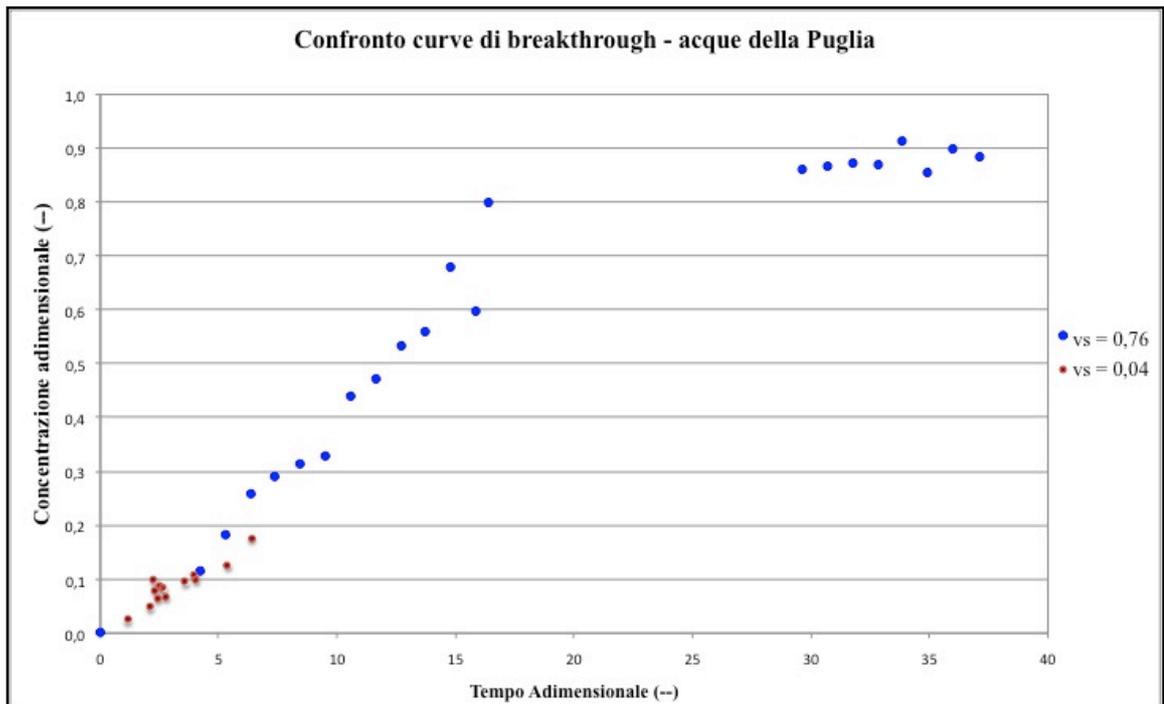


Figura 21: Confronto tra due curve di breakthrough per le OMW della Puglia ottenute da due prove a due velocità superficiali diverse

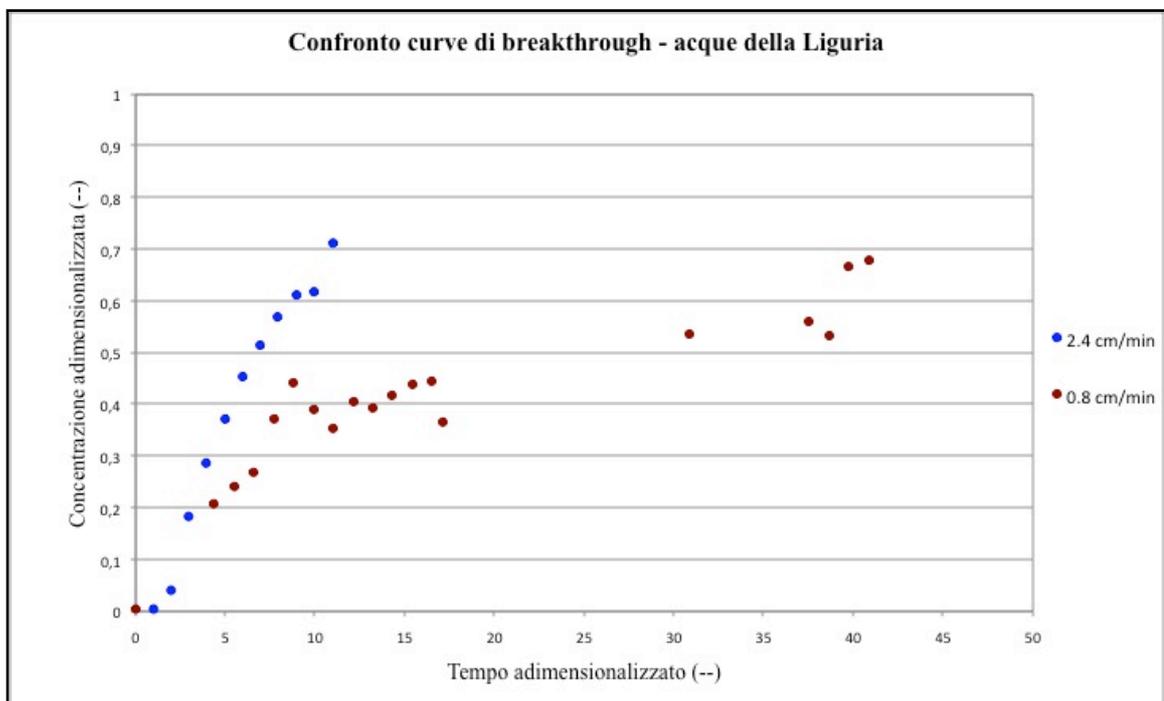


Figura 22: Confronto tra due curve di breakthrough per le OMW della Liguria ottenute da due prove a due velocità superficiali diverse

4.7 Prova di desorbimento

Un primo test di desorbimento è stato effettuato su di un letto di resina precedentemente usato per una prova di breakthrough. Il desorbimento avviene in tempi molto rapidi e dopo solo due tempi di residenza la concentrazione dei fenoli nel solvente era già calata drasticamente di un ordine di grandezza. Il recupero massimo di polifenoli avviene nella prima ora del test. In questa prova esplorativa non è stato effettuato una determinazione della percentuale di recupero dei fenoli adsorbiti.

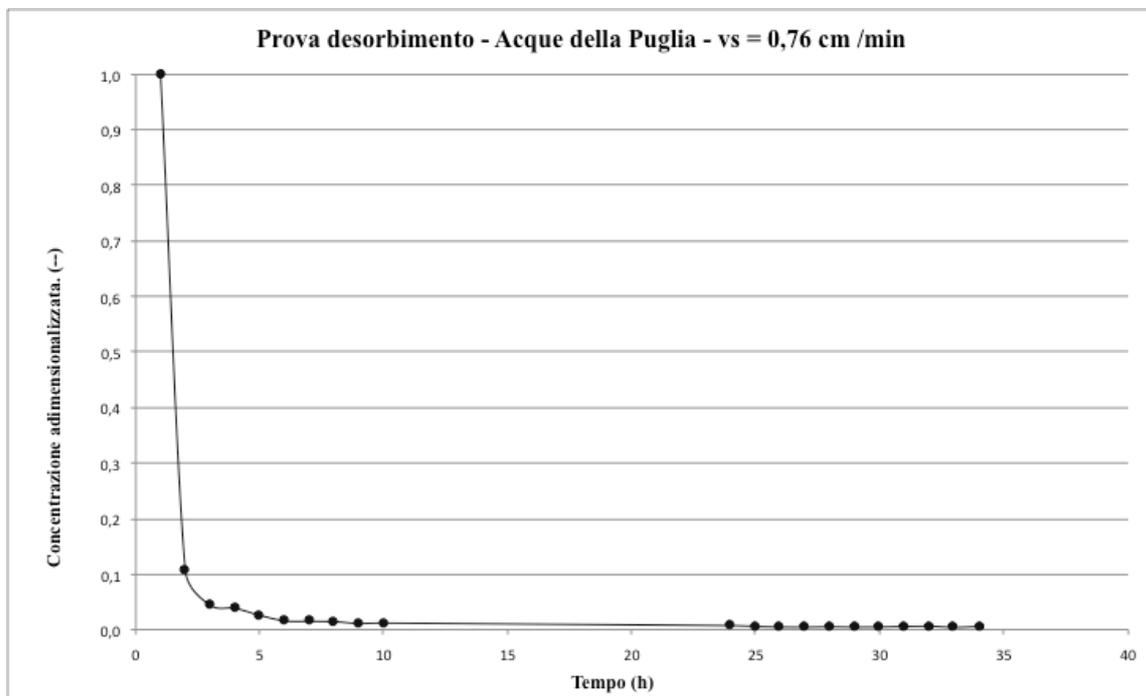


Figura 23: Variazione della concentrazione dei composti fenolici in funzione del tempo nella prova di desorbimento

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI

Il lavoro svolto ha portato al raggiungimento dei seguenti risultati:

- è stato sviluppato un metodo analitico affidabile per la caratterizzazione delle acque per quel che riguarda il contenuto in polifenoli;
- la caratterizzazione del processo di adsorbimento (cinetica, isoterme e comportamento fluidodinamico) è stata completata.
- È stato allestito un impianto che opera in continuo ed è stato testato con risultati positivi;
- sono state evidenziate le caratteristiche chiave per la descrizione del processo (velocità superficiale, lunghezza del letto) e le linee guida per l'ottimizzazione del processo sono state tracciate;
- un secondo impianto ottimizzato è in fase di collaudo;
- un primo tentativo di desorbimento ha dato risultati positivi.

Nel futuro saranno realizzati dei test di breakthrough con l'impianto ottimizzato in fase di avviamento e dotato di una colonna più lunga in modo tale da verificare che la dispersione fluidodinamica sia il parametro chiave ed ottimizzare il processo. Il processo di desorbimento sarà anch'esso ottimizzato e verrà realizzato un bilancio di massa completo di modo tale da quantificare il recupero totale dei fenoli nei cicli di adsorbimento/desorbimento.

REFERENZE BIBLIOGRAFICHE

- [1] Sesli M., Ygenoglu ED. RAPD-PCR analysis of cultured type olives in Turkey. *African J Biotechnol* 2009; 8: 3418-23;
- [2] International Olive Oil Council. www.internationaloliveoil.org. (17-01-2014)
- [3] Owen R.W., Giacosa A., Hull W.E., Haubner R., Spiegelhalder B., Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur J Cancer* 2000; 36: 1235-47;
- [4] Demerche S., Nadour M., Larroche C., Moulti-Mati F., Michaud P. Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorizations strategies. *Process Biochemistry* 2013; 48: 1532-1555
- [5] Bravo L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*. 1998; 56: 317-319;
- [6] Bianco A., Buiarelli F., Cartoni G., Coccioli F., Jasionowska R., Margherita P. Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters. Part 1. *J Separation Sci.* 2003; 26: 409-16;
- [7] Visioli F., Poli A., Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev.* 2002; 22(1): 65-75;
- [8] Bertin L., Ferri F., Scoma A., Marchetti L., Fava F. Recovery of high added value natural polyphenols from actual olive mill wastewater through solid phase extraction. *Chemical Engineering journal.* 2011; 171: 1278-1293;
- [9] Scoma A., Pintucci C., Bertin L., Carlozzi P., Fava F. Increasing the large scale flexibility of a solid phase extraction procedure for the recovery of natural antioxidants from olive mill wastewater. *Chemical Engineering journal.* 2012; 198-199: 103-109;
- [10] Harrison R., Todd P., Rudge S. R., Petrides D. P. *Bioseparation Science and Engineering.* 2002; 7: 191-236;
- [11] Rathore A.S., Kennedy R.M., O'Donnell K.J., Bemberis I., Kaltenbrunner O. Qualification of a chromatographic column. *BioPharm International* 2003; 3: 30-40;
- [12] Coulson & Richardson. "Chemical Reaction Engineering, Vol.6". 1998; 17: 1009-1015.

