

**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

**VALORIZZAZIONE DI ACQUE DI VEGETAZIONE  
PROVENIENTI DA OLEIFICI TRAMITE RECUPERO  
DI POLIFENOLI PER ADSORBIMENTO**

**CANDIDATO**

Lucio Donati

**RELATORE**

Prof. Davide Pinelli

**CORRELATORE**

Dott. Dario Frascari

**Sessione III**

---

**Anno Accademico 2013-2014**

# INDICE

ABSTRACT.....	6
CAPITOLO 1.....	7
INTRODUZIONE.....	7
1.1 Produzione di olio di oliva nel mondo.....	7
1.2 Come funziona la produzione dell'olio.....	7
1.2.1 Metodi di estrazione.....	11
1.3 I sottoprodotti dell'olio.....	12
1.2.2 Caratteristiche delle acque di vegetazione.....	13
1.3.2 Inquinamento delle acque di vegetazione.....	14
1.3.3 Smaltimento delle acque di vegetazione.....	14
1.3.4 Recupero delle acque di vegetazione.....	15
1.3 Idee alla base del progetto.....	16
1.4 Principali composti fenolici.....	16
1.5 Caratteristiche dei composti fenolici.....	17
1.6 Composti fenolici nelle OMW.....	18
1.6.1 Tirosolo e Idrossitirosolo.....	19
CAPITOLO 2.....	21
CONTENUTI TEORICI.....	21
2.1 Scopo del tirocinio.....	21
2.2 Adsorbimento in generale.....	22
2.2.1 Equilibrio di adsorbimento.....	22
2.2.2 Isotherme e cinetiche di adsorbimento del progetto.....	23
2.3 Adsorbimento in colonna.....	25
2.3.1 Bilancio di materia dell'adsorbimento in colonne a letto fisso.....	25
2.3.2 Caso particolare isoterma di adsorbimento lineare.....	27
2.4 Tipi di adsorbenti.....	28
2.4.1 Resine polimeriche.....	28
2.4.2 Perdite di carico nei letti fissi.....	29

2.5	<i>Apparecchiature le colonne</i> .....	29
2.5.1	<i>Tecniche di impaccamento delle colonne</i> .....	30
	<b>CAPITOLO 3</b> .....	31
	<b>PARTE SPERIMENTALE</b> .....	31
3.1	<i>Reagenti utilizzati</i> .....	31
3.2	<i>Strumentazione e attrezzature</i> .....	33
3.3	<i>Preparazione delle soluzioni</i> .....	36
3.3.1	<i>Preparazione delle soluzioni per analisi dei fenoli totali con HPLC</i> .....	36
3.3.2	<i>Preparazione delle soluzione per analisi dei fenoli singoli con HPLC</i> .....	37
3.3.3	<i>Preparazione degli standard esterni per lo sviluppo del metodo di analisi dei fenoli singoli con HPLC</i> .....	37
3.3.4	<i>Preparazione della miscela sintetica per lo sviluppo del metodo di analisi dei fenoli singoli con HPLC</i> .....	38
3.3.5	<i>Preparazione delle soluzione per le analisi del COD con kit</i> .....	38
3.4	<i>Caratterizzazione acque di vegetazione</i> .....	39
3.4.1	<i>Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti</i> .....	39
3.4.2	<i>Determinazione della densità</i> .....	39
3.4.3	<i>Determinazione del COD</i> .....	40
3.4.4	<i>Determinazione del pH</i> .....	40
3.5	<i>Determinazione del contenuto fenolico</i> .....	40
3.5.1	<i>Metodo HPLC per le analisi dei fenoli totali</i> .....	41
3.5.2	<i>Metodo HPLC per le analisi dei fenoli singoli</i> .....	41
3.6	<i>Procedura per l'attivazione della resina</i> .....	42
3.7	<i>Procedura per la determinazione delle isoterme di adsorbimento</i> .....	42
3.8	<i>Metodo di impaccamento delle colonne</i> .....	43
3.9	<i>Procedura per lo studio fluidodinamico</i> .....	44
3.10	<i>Procedure per la determinazione della curva di Breakthrough</i> .....	44
3.11	<i>Procedura di desorbimento</i> .....	45
	<b>CAPITOLO 4</b> .....	47
	<b>RISULTATI E DISCUSSIONE</b> .....	47
4.1	<i>Caratterizzazione delle acque di vegetazione</i> .....	47
4.1.1	<i>Determinazione dei solidi sospesi, disciolti, totali</i> .....	47
4.1.2	<i>Determinazione della densità delle acque</i> .....	49
4.1.3	<i>Determinazione della concentrazione dei composti fenolici totali</i> .....	50

<i>4.1.4 Riassunto caratterizzazione Imperia 2013</i> .....	51
<i>4.2 Isoterme di adsorbimento</i> .....	51
<i>4.3 Realizzazione dell'impianto di filtrazione e dell'impaccamento</i> .....	54
<i>4.4 Caratterizzazione del comportamento fluidodinamico dell'impianto</i> .....	55
<i>4.5 Curve di breakthrough e ripetibilità</i> .....	58
<i>4.6 Prove di desorbimento</i> .....	62
<i>4.6.1 Analisi sull'efficienza dell'adsorbimento e del desorbimento</i> .....	63
<i>4.7 Analisi sul COD</i> .....	65
<i>4.8 Sviluppo del metodo HPLC fenoli singoli</i> .....	66
<i>4.8.1 Standard esterni e miscela sintetica del metodo HPLC fenoli singoli</i> .....	67
<i>4.8.2 OMW con metodo HPLC fenoli singoli</i> .....	72
<i>CAPITOLO 5</i> .....	77
<i>CONCLUSIONI</i> .....	77
<i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	79



## **ABSTRACT**

The environmental problems associated to the disposal of the olive oil wastewater (OMW, Olive Mill Wastewaters), and the difficulty in the recycling because of their polyphenolic content, led to propose the separation of their polyphenols.

The recovery of polyphenols from olive mill wastewaters (OMWs) provides the double opportunity to obtain high-added value biomolecules and to reduce the phytotoxicity of the effluent.

The separation can be obtained by a continuous flow extraction process of adsorption and desorption, this process is characterized by the possibility to recycling the adsorbing phase and the extraction solvent.

The present work is part of a project aimed to the development of pilot scale process based on the use of the AMBERLITE XAD16 as 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 Produzione di olio di oliva nel mondo

L'olio d'oliva è forse l'unico prodotto consumato e scambiato a livello mondiale maggiormente legato al Mediterraneo; nel biennio 2004/05 i paesi non Mediterranei coprivano meno del 2,5% della produzione mondiale, ora coprono circa il 30%. Il mercato dell'olio d'oliva è molto complesso: la produzione è diffusa tra paesi sviluppati e in via di sviluppo, ed è realizzata attraverso sistemi produttivi molto differenti, anche nell'ambito dello stesso paese; l'olio d'oliva è prodotto su scala regionale ma è scambiato a livello mondiale; le attività di trasformazione sono disperse, mentre nell'imbottigliamento vi è la presenza di multinazionali.

L'Unione Europea è il maggiore produttore e consumatore di olio d'oliva:

Paese	Produzione in tonnellate (2010)	Produzione% (2010)
Mondo	3,269,248	100%
Spagna	1,487,000	45.5%
Italia	548,5	16.8%
Grecia	352,8	10.8%
Siria	177,4	5.4%
Marocco	169,9	5.2%
Tunisia	160,1	4.9%
Turchia	161,6	4.9%
Altri	111,749	3.5%
Portogallo	66,6	2.0%
Algeria	33,6	1.0%

La produzione di olio di oliva nel 2014 ha raggiunto le 3 270 500 tonnellate, 69% del quale è Europea, il consumo di olio ha raggiunto le 3 000 500 tonnellate, 60% del quale è Europeo. 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. <sup>[1]</sup>

### 1.2 Come funziona la produzione dell'olio

Il processo di produzione dell'olio è composto da cinque fasi:

1. La raccolta delle olive e il trasporto al frantoio
2. Il lavaggio delle olive e la frangitura/molitura
3. La gramolazione della pasta delle olive
4. L'estrazione dell'olio
5. Lo stoccaggio dell'olio

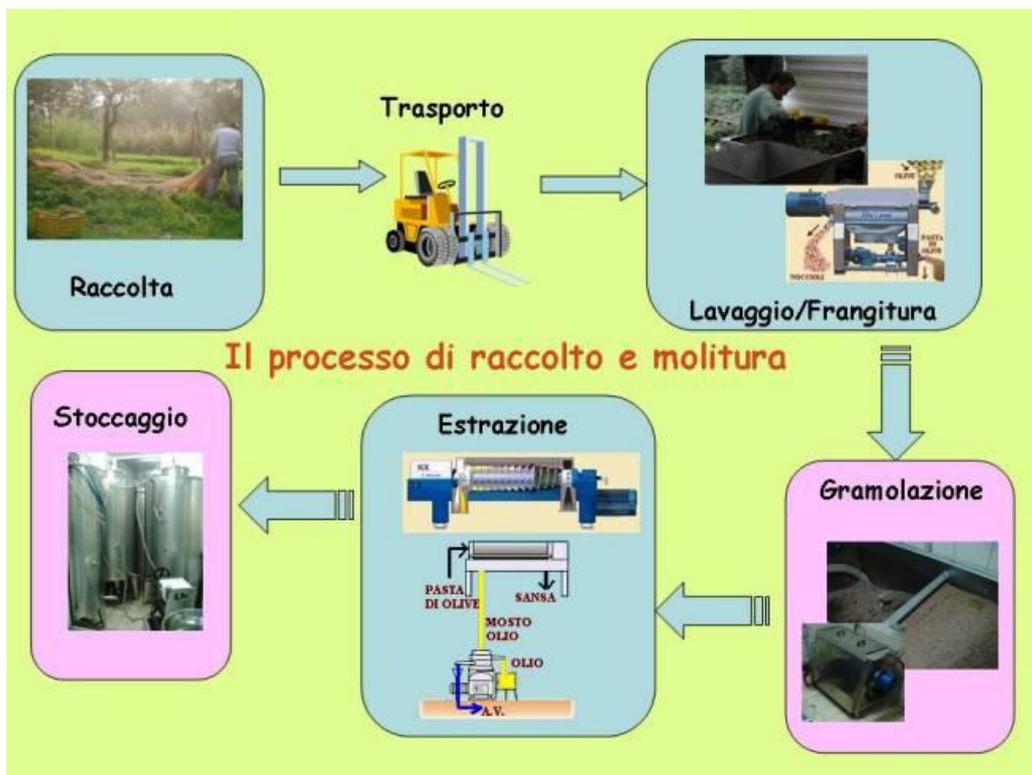


Figura 1. Processo di produzione dell'olio di oliva

Prima dell'estrazione vera e propria le olive subiscono una serie di operazioni preliminari:

- **La pesatura :** Viene effettuata nell'oleificio all'atto del conferimento. La pesatura pertanto è effettuata dopo lo scarico dal mezzo di trasporto in cassette, bin o sacchi.
- **Stoccaggio :** Con piccole partite raccolte integralmente a mano questa fase si svolge in parte nell'azienda olivicola allo scopo di raggiungere il quantitativo sufficiente da conferire per un ciclo di lavorazione. Con grandi partite, in genere ottenute con sistemi di meccanizzazione, le olive raccolte vengono direttamente conferite all'oleificio e stoccate in un'area o locale separati (l'olivaio) oppure direttamente in uno spazio antistante la linea di lavorazione. Attualmente si usano

le cassette forate o i bin' riducendo quanto più è possibile gli strati per migliorare l'aerazione delle olive e prevenire le fermentazioni. La qualità del prodotto finale dipende dalle operazioni finali in subordine allo stato di conservazione delle olive e ai tempi d'attesa. La conservazione in grandi cumuli, con insufficiente aerazione della massa di olive, e tempi d'attesa dell'ordine di diversi giorni determinano l'insorgenza di processi di fermentazione delle olive che si traducono in una peggiore qualità dell'olio.

- **Lavaggio** : Si effettua mediante immersione delle olive in una vasca d'acqua o, nei moderni impianti, in apposite lavatrici che mantengono una movimentazione forzata dell'acqua per migliorare il risultato dell'operazione. Allo scopo di ottenere un olio di qualità, in questa fase, è anche importante che l'acqua impiegata sia pulita ricambiandola frequentemente. Al termine dell'operazione le olive subiscono un'asciugatura per semplice sgrondo dell'acqua di lavaggio.<sup>[2]</sup>

Dopo le operazioni preliminari si passa all'estrazione vera e propria, composta da una serie di operazioni , la prima è la **Molitura**: le olive sono sottoposte ad azioni meccaniche che provocano la rottura della parete cellulare e delle membrane con la conseguente fuoriuscita dei succhi cellulari e dell'olio. Questa azione è affidata allo sfregamento dei frammenti del nocciolo sulle polpe oppure all'urto di dispositivi meccanici in rotazione ad alta velocità nella massa delle polpe. Il prodotto ottenuto da questa fase nella maggior parte degli impianti è la pasta d'olio, una massa semifluida composta da una frazione solida (frammenti di noccioli, bucce e polpa) e una liquida (emulsione di acqua e olio). In passato si usava la molazza, una pietra granitica circolare, che ruotando andava per sfregamento a far fuoriuscire i succhi dell'oliva, adesso si usa il frangitore a martelli ( da qui il termine **frangitura**) uno strumento che si integra perfettamente con un impianto in continuo. Con questo sistema la rottura della polpa è causata dagli urti dei dispositivi ruotanti ad alta velocità e solo in parte dall'azione meccanica dei frammenti di nocciolo. La lavorazione si svolge in tempi brevissimi, nell'ordine dei secondi, e lo spazio d'ingombro è dell'ordine di pochi metri quadri.

Subito dopo la molitura si ha la **gramolatura**, ha lo scopo di rompere l'emulsione fra acqua e olio e far confluire le micelle d'olio in gocce più grandi che tendono a separarsi spontaneamente dall'acqua. Si effettua in macchine dette gramole o gramolatrici.

La gramola è in sostanza una vasca in acciaio in cui ruotano pale elicoidali che, ruotando ad una velocità di 20-30 giri al minuto, mantengono in lento rimescolamento la pasta d'olio (flottazione). L'azione del rimescolamento rompe l'emulsione migliorando poi la resa in mosto d'olio nella successiva fase d'estrazione. Parametri tecnici di riferimento sono la temperatura e la durata dell'operazione. La temperatura è fondamentale per la resa nella successiva estrazione ed è strettamente correlata alla stabilità dell'emulsione acqua-olio. Con un basso grado di emulsione la gramolatura non è necessaria oppure si può svolgere a temperature di poco superiori a quella ambientale (da 22-24 °C a 27 °C); in questo caso si parla di gramolatura o estrazione a freddo. Con emulsioni più stabili è necessario procedere ad un riscaldamento più spinto della pasta, con temperature superiori ai 27 °C e inferiori a 30 °C. Il limite di 30 °C è considerato il punto critico: la resa dell'estrazione aumenta con la temperatura della gramolatura, ma raggiunto questo livello termico, la pasta subisce un decadimento qualitativo. Per questo motivo, il riscaldamento non deve raggiungere la soglia dei 30 °C. La gramolatura ha una durata in media di 20-40 minuti e non superiore ai 60 minuti. Il prolungamento dell'operazione non ha alcun effetto sulla resa in olio, pertanto è da evitare in quanto prolungherebbe il contatto della pasta d'olio con l'aria determinando una maggiore ossidazione.

La successiva ed ultima fase, detta **estrazione**, consiste nella separazione del mosto d'olio dalla sansa, la frazione solida costituita dai frammenti di nocciolo, dalle buccette e da frammenti di polpa. L'estrazione è attuata con sistemi alternativi che sfruttano principi meccanici concettualmente differenti. In ragione di queste differenze il mosto d'olio e la sansa hanno caratteristiche differenti secondo il metodo d'estrazione impiegato. I metodi d'estrazione si riconducono a tre tipi fondamentali:

- per pressione (metodo classico, discontinuo)
- per centrifugazione (metodo moderno, continuo)
- per percolamento mediante filtrazione selettiva (metodo moderno, continuo)

### 1.2.1 Metodi di estrazione

**Estrazione per pressione**, si tratta del metodo classico, che separa il mosto d'olio dalle sanse attraverso una filtrazione per effetto di una pressione. La pressione si attua in un pressa idraulica aperta disponendo la pasta d'olio su strati sottili alternati a diaframmi filtranti in una torre carrellata. L'intera operazione di carico di una pressa si effettuava a mano, ma attualmente si utilizzano apposite dosatrici, spesso integrate con la gramola. A questo punto la torre viene inserita nella pressa e sottoposta a pressioni medie dell'ordine di 400 atm. Per effetto della pressione il mosto d'olio si separa dalla frazione solida e dal sistema drenante fluisce lungo l'esterno e lungo la foratina e viene raccolto sul piatto. Terminata l'estrazione, la pila viene smontata e dai diaframmi viene rimossa la sansa utilizzando apposite macchine.

Questo mosto viene poi portato nelle centrifughe per ottenere una completa separazione delle due fasi, allontanando l'acqua di vegetazione l'olio così ottenuto dovrà subire una filtrazione finale per eliminare residui di polpa e tutte le sostanze che possono contaminarlo.<sup>[3]</sup>

**Estrazione per centrifugazione**, dopo la gramolatura la pasta di olive viene miscelata con un 30% di acqua (viene diluita, resa più liquida) ed entra in un estrattore centrifugo detto decanter, che può essere a tre vie (dal quale escono la sansa, l'olio e l'acqua di vegetazione) o a due vie (dal quale escono solamente l'olio e l'acqua di vegetazione).

L'estrattore centrifugo è costituito da una vite reciprocata fine che, ruotando, porta avanti la pasta di olive comprimendola; da un lato escono le sanse schiacciate, il liquido va sul fondo e, mentre scende, si ha anche la separazione dell'acqua (che esce dal basso) dall'olio (che esce dall'alto, perché meno denso).

La separazione, però, non è netta ed entrambi vengono immediatamente sottoposti a centrifugazione, per recuperare la piccola percentuale di olio presente nell'acqua da un lato, e per allontanare la piccola quota di acqua di vegetazione presente nell'olio dall'altra.

Il decanter a due fasi ha il vantaggio di ridurre i consumi di acqua e di conseguenza i reflui acquosi generati.

**Estrazione per percolamento**, è un metodo di nuova generazione, dopo la gramolatura si estrae l'olio per percolamento: la pasta di oliva viene messa su sistemi filtranti

costituiti da una griglia di acciaio o nichel, sulla quale poggiano tante lamelle di metallo mobili che penetrano nella pasta. Dal momento che tali lamelle sono costituite da metallo, l'olio di oliva aderisce ad esse molto meglio dell'acqua, quando si retraggono lasciano a sgocciolare l'olio trattenuto. Questa tecnica sfrutta la diversa tensione superficiale esistente tra metallo ed olio e tra metallo ed acqua. Su queste piastre scorre un pettine raschiatore in gomma, che spinge la pasta di oliva sul sistema filtrante. Le goccioline di olio rimangono quindi adese alle lamelle di metallo e scivolano giù, mentre l'acqua non si attacca e resta nella pasta di olive. Il risultato finale di questa tecnica filtrante è un'emulsione di piccolissime goccioline di acqua di vegetazione in olio, detta mosto, che viene sottoposta a centrifugazione per ottenere la definitiva separazione dell'olio dall'acqua. Anche la sansa viene sottoposta al medesimo processo, che permette di ottenere da un lato un corpo di fondo esaurito e dall'altro un mosto, che per successiva centrifugazione verrà ancora una volta separato in olio ed acqua di vegetazione.

### **1.3 I sottoprodotti dell'olio**

Il processo di estrazione dell'olio é di norma identificato come la fase della "Trasformazione", in questa fase, qualunque sia il metodo utilizzato (estrazione per pressione o per centrifugazione), si formano anche dei reflui e sottoprodotti in quantità non indifferente. I materiali suddetti prendono comunemente il nome di "Acque di vegetazione " e "Sansa".

Le sansa sono utilizzabili per un'ulteriore estrazione della frazione oleosa ancora presente in esse e successivamente il residuo secco può essere impiegato come combustibile ( potere calorifico inferiore 4400 kcal/kg). L' utilizzo della sansa é però condizionato dall'umidità presente nella sansa stessa, i sansifici, ovvero quegli stabilimenti che mediante l'uso di solventi chimici provvedono all'estrazione dell'olio residuo, trovano qualche difficoltà ad utilizzare sansa molto umide per le quali spesso non effettuano il ritiro. Può quindi verificarsi il caso in cui anche la sansa da sottoprodotto avente un certo valore commerciale,divenga un refluo da smaltire. I sansifici si sono dotati di mezzi e strutture capaci di utilizzare anche le sansa umide, estraendo l'olio previo un processo di essiccamento oppure impiegando macchine centrifughe che ripassano la sansa ancora ricche di olio. Tutto questo é chiaramente connesso al valore economico che l'olio di sansa assume nei diversi contesti.

Le acque di vegetazione sono costituite dalle acque di vegetazione delle olive stesse, dalle acque di diluizione delle paste aggiunte negli impianti in continuo e dalle sostanze solubili disciolte nella drupe (olive).

L'acqua di costituzione delle olive ammonta al 40-50% in peso della drupa, mentre l'acqua di lavaggio delle olive corrisponde a circa il 5% del peso delle olive lavorate e le acque di lavaggio degli impianti ne rappresentano il 5-10%. Nel caso dell'estrazione a ciclo continuo, si aggiunge l'acqua utilizzata per diluire la pasta di olive. Pertanto il refluo prodotto nel processo di estrazione tradizionale (discontinuo) dell'olio corrisponde al 40-65% del peso delle drupe lavorate; invece nel caso di processi continui tra il 90 ed il 110% del peso delle olive lavorate.<sup>[4]</sup>

### **1.2.2 Caratteristiche delle acque di vegetazione**

Le acque di vegetazione presentano una colorazione scura che può arrivare sino al nero e sono caratterizzate da un odore tipico, piuttosto intenso, che ricorda quello della drupa da cui derivano. Sono costituite sostanzialmente da una soluzione acquosa di sostanze organiche, in particolare zuccheri riduttori (principalmente glucosio e fruttosio), da acidi organici, polialcoli, polifenoli e minerali (potassio, fosforo, calcio). I valori delle sostanze contenute nelle acque è in funzione del tipo di oliva, dello stato di maturazione, dello stoccaggio e del degrado che le olive possono aver subito fra la raccolta e la spremitura, e della tecnologia estrattiva.

Le acque di vegetazione, a causa del contenuto di acidi organici presenti nelle olive (in particolare acido malico e citrico) presentano valori di pH compresi tra 4.5 e 5.9, tali oscillazioni sono da attribuire alla varietà, al periodo di maturazione ed alla durata dello stoccaggio delle olive, mentre in generale il pH risulta scarsamente influenzato dal sistema di estrazione prescelto.

I valori del COD (Chemical Oxygen Demand), così come pure quelli del BOD<sub>5</sub> (Biological Oxygen Demand), risultano comunque molto elevati, anche se decisamente maggiori per le acque di vegetazione residue dagli impianti tradizionali (150 grammi O<sub>2</sub> /L il COD e 90 grammi O<sub>2</sub> /L il BOD<sub>5</sub> contro 90 grammi O<sub>2</sub> /L il COD e 30 grammi O<sub>2</sub> /L il BOD<sub>5</sub> delle acque originate da impianti centrifughi). Bisogna tenere presente che, durante lo stoccaggio nelle vasche di raccolta, dove il refluo sosta per tempi più o meno lunghi, la concentrazione di alcuni componenti organici facilmente fermentabili può diminuire anche notevolmente, per l'azione dei microrganismi aerobi ed anaerobi in

grado di decomporli. Il pH generalmente aumenta, mentre il BOD<sub>5</sub> diminuisce, così come la quantità di solidi sospesi, che tendono a sedimentare.<sup>[5]</sup>

### **1.3.2 Inquinamento delle acque di vegetazione**

La produzione di reflui oleari (olive mill wastewater OMW) varia da 7 a 30 milioni di metri cubi all'anno, seppur inferiore ad altri tipi di inquinamento essa contribuisce in maniera elevata all'inquinamento ambientale (1 m<sup>3</sup> di OMW inquina come 150 m<sup>3</sup> di reflui urbani), a causa della sua composizione: un forte odore, un elevato contenuto di zuccheri riduttori, polifenoli, solidi sospesi ( residui della drupe) e un elevato carico organico difficilmente degradabile. Queste caratteristiche negative per l'aspetto ambientale sono amplificate da due altri elementi: la stagionalità della lavorazione delle olive che si concentra da novembre a marzo, e quindi dalla forte concentrazione del potenziale inquinante in un ristretto periodo dell'anno, e dalle piccole dimensioni degli oleifici, che non hanno strutture adatte a uno smaltimento economico e a norma del refluo.<sup>[6]</sup>

Lo sversamento nelle acque superficiali è vietato dalla legge a causa soprattutto dell'elevato BOD<sub>5</sub> che riduce il tenore di ossigeno nelle acque e di conseguenza riducendo la sopravvivenza della flora e la fauna marina.

L'inquinamento del terreno da parte delle OMW dipende dalla concentrazione di potassio contenuta al loro interno, se elevato può variare la capacità di scambio cationico del terreno, portando a un cambiamento delle condizioni dell'ambiente per i microrganismi e un conseguente impoverimento della fertilità del terreno, inoltre le OMW hanno proprietà fitotossiche e antimicrobiche principalmente attribuite alla presenza dei composti fenolici e degli acidi organici, questo porta a un'inibizione della crescita delle piante se non alla morte della pianta stessa.

### **1.3.3 Smaltimento delle acque di vegetazione**

A causa del carico organico molto elevato, costituito principalmente da fenoli e polifenoli difficilmente degradabili, lo smaltimento delle acque di vegetazione causa notevoli problemi. I reflui oleari, sono molto ricchi in elementi nutritivi minerali quali potassio e, in quantità più ridotte, azoto, fosforo e magnesio, possono sostituire parte degli elementi nutritivi apportati dalla fertilizzazione classica. Inoltre, essendo prevalentemente costituiti da sostanza organica essi sono un ottimo substrato per lo sviluppo della microflora che permette il miglioramento delle proprietà chimico-fisiche

del suolo. L'utilizzo agronomico delle OMW è fattibile solo nel caso in cui il carico inquinante sia basso e il suolo abbia determinate caratteristiche tale per cui non si contaminino, per esempio, le falde acquifere.

Le Aziende produttrici di olio d'oliva, nei Paesi dove non è previsto lo spargimento sui terreni, sono costrette ad inviare le acque di vegetazione in eccesso ad impianti di depurazione collettiva oppure a raccoglierle in proprie vasche di stoccaggio per farle evaporare naturalmente. Entrambe le soluzioni comportano elevati costi aggiuntivi.<sup>[7]</sup>

### **1.3.4 Recupero delle acque di vegetazione**

Le OMW possiedono una doppia natura: inquinante, ma anche risorsa economica a causa dei suoi componenti di alto valore come fenoli, polifenoli, flavonoidi, tracce di sostanze inorganiche ecc. che possono essere rimosse e vendute sul mercato.

Sono stati sviluppati vari processi per il recupero e l'abbattimento degli inquinanti:

**-Biologici**, che utilizzano batteri per abbattere i composti chimici nelle OMW, vi sono sia aerobici che anaerobici, tuttavia entrambi i processi sono svantaggiosi dal punto di vista economico, principalmente a causa della gran quantità di fango generata con i batteri aerobici e dalla difficoltà di abbattimento degli aromatici da parte degli anaerobici, il tutto si traduce in una elevata difficoltà nello scale-up.

**-Floculazione**, utilizzano agenti chimici per far aggregare i solidi colloidali delle OMW e rimuoverli facilmente, abbassando il COD e il BOD.

**-Termici**, ve ne sono svariati i più importanti sono evaporazione e distillazione, entrambi riducono il volume delle OMW, il problema è l'elevato carico organico rimanente che deve subire successivi trattamenti. Pirolisi e combustione sono processi termici distruttivi che degradano completamente le OMW precludendo qualsiasi utilizzo futuro, hanno elevati costi energetici per questo vengono utilizzati solo per OMW con un elevato carico inquinante.

**-Membrane**, hanno una alta efficienza di abbattimento degli inquinanti, tuttavia i costi sono estremamente elevati e a causa dei solidi le membrane si intasano facilmente.

Infine vi sono processi che mirano al recupero dei componenti delle OMW per trasformarli in altri prodotti:

**-Produzione di fertilizzanti**, come già detto in precedenza è possibile utilizzare le acque di vegetazione come fertilizzanti per i terreni previa decontaminazione, essa viene effettuata tramite processi aerobici in grado di produrre un biofertilizzante.

**-Recupero degli antiossidanti**, composti fenolici e polifenoli hanno un alto valore sul mercato e nelle OMW sono ottenibili a basso costo attraverso estrazioni liquido-liquido.

**-Produzione di biopolimeri**, i principali sono esopolisaccaridi e polidrossialcanoati, essi sono polimeri molto costosi a causa dei substrati utilizzati, l'uso delle OMW come substrato ne diminuisce il costo finale.

**-Produzione di biogas**, il biogas è una fonte energetica come il gas naturale ed è prodotto dalle OMW tramite processi di fermentazione anaerobica.<sup>[7]</sup>

### **1.3 Idee alla base del progetto**

Il progetto a cui ho partecipato si pone di trattare i reflui oleari attraverso la combinazione di decontaminazione e utilizzo per produrre composti ad alto valore aggiunto, in modo da compensare i costi per la decontaminazione<sup>[10]</sup>. Uno dei maggiori inquinanti di queste acque sono i fenoli che allo stesso tempo sono un prodotto ad alto valore aggiunto, quindi l'idea guida del progetto consiste nella separazione di questi composti dalle acque ed un successivo recupero per un ritorno economico, in modo da rendere vantaggioso un impianto su grande scala.

Per il recupero di fenoli dalle OMW, sono studiati per lo più i processi a membrana e ad estrazione liquido-liquido. 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 fenoli 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<sup>[11]</sup>.

### **1.4 Principali composti fenolici**

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, i fenoli sono costituiti almeno da un anello aromatico e uno o più gruppi ossidrilici legati ad esso, 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.

numero di atomi di carbonio	Scheletro base	Classe
6	$C_6$	Fenoli semplici e Benzochinoni
7	$C_6C(O)OH$	Acidi fenolici
8	$C_6C_2$	Acetofenoni e Acidi fenilacetici
9	$C_6C_3$	Acidi idrossicinnamici, Fenilpropeni, Cumarine, Isocumarine, Cromoni
10	$C_6C_4$	Naftochinoni
13	$C_6C_1C_6$	Xantoni
14	$C_6C_2C_6$	Stilbeni, Antrachinoni
15	$C_6C_3C_6$	Flavonoidi, Isoflavonoidi
18	$(C_6C_3)_2$	Lignani, Neolignani
30	$(C_6C_3C_6)_2$	Biflavonoidi
n	$(C_6C_3)_n$	Lignine
n	$(C_6)_n$	Catecol-melanine
n	$(C_6C_3C_6)_n$	Tannini condensati

**Tabella 1. Principali composti fenolici suddivisi per numero di atomi di carbonio**

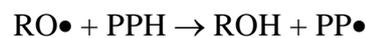
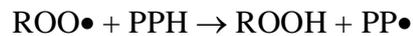
### 1.5 Caratteristiche dei composti fenolici

I composti fenolici possiedono un'elevata attività antiossidante, vengono usati in tantissime applicazioni farmacologiche, cosmetiche, alimentari ecc. ed è per questo che sono molto costosi. Gli antiossidanti sono molecole capaci di inibire l'inizio o la propagazione delle reazioni di ossidazione a catena.

Questi composti sono capaci di catturare i radicali e di donare idrogeno ed elettroni; possono inoltre chelare i metalli che catalizzano la formazione di radicali: ferro, rame e manganese.

La reattività dei fenoli è determinata principalmente dal carattere acido della funzione fenolica e dalla nucleofilicità dell'anello benzenico. Inoltre, grazie alla capacità del sistema aromatico di delocalizzare un elettrone spaiato, queste molecole possono facilmente donare a un radicale l'idrogeno del proprio gruppo fenolico, ed esercitare così un'azione antiossidante.<sup>[8]</sup>

Esempio di 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, la diminuzione delle specie ossidanti presenti nell'organismo protegge dal loro attacco le molecole bersaglio come i lipidi, le proteine e gli acidi nucleici.

### **1.6 Composti fenolici nelle OMW**

Il contenuto e la concentrazione dei composti fenolici nelle OMW è molto variabile e dipende dal tipo di estrazione usata, dal tipo di oliva, dalle tecniche di raccolta e dal periodo di fermentazione. I composti più comuni sono circa 20 e comprendono alcol fenolici ( tirosolo e idrossitirosolo), acidi fenolici ( vanillico, coumarico, caffeico,

siringico), flavonoidi ( luteolina e derivati), secoiridoidi ( oleuropeina) e lignani (pinoresinolo e 1-acetossipinoresinolo).<sup>[9]</sup>

La diversità di composizione fa sì che sia 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.

### **1.6.1 Tirosolo e Idrossitirosolo**

I composti fenolici nelle OMW, tirosolo e idrossitirosolo sono presenti in elevate concentrazioni, inoltre possiedono un elevato potere antiossidante e di conseguenza un elevato valore di mercato.

Dall'idrolisi dell'oleuropeina si ottengono il tirosolo e l'idrossitirosolo: due elementi base che vengono utilizzati nella fitocosmesi per rallentare i processi d'invecchiamento dell'epidermide.

Il tirosolo è una molecola dalle indiscusse proprietà benefiche per migliorare la qualità della vita dell'uomo. Si utilizza per scopi medici sia per le sue note proprietà antibiotiche sia per le proprietà immuno stimolanti che possiede. La molecola di tirosolo è ritenuta responsabile del gusto amarognolo dell'olio.

Questo composto fenolico ha ottime proprietà antiossidanti e agisce in maniera diretta sulle LDL (es. colesterolo) facendo diminuire vertiginosamente la percentuale di ossidazione per mezzo di un'azione sulle stesse LDL ottenuto attraverso meccanismi di legami. Inoltre dagli ultimi studi di laboratorio sembrerebbe che il tirosolo abbia il potere di opporsi in maniera considerevole alle conseguenze citotossiche ( effetti chimici, biologici, fisici, che danneggiano una cellula).

L'idrossitirosolo oltre ad esplicare un'azione diretta antiossidante, responsabile tra l'altro della corretta conservazione dell'olio nel tempo, agisce attivando la risposta antiossidante cellulare, promuovendo il ripristino del corretto equilibrio ossidativo e riducendo così i danni dovuti alla produzione eccessiva (o alla minor rimozione) dei radicali liberi. Recenti studi sembrano indicare per l'idrossitirosolo effetti diretti su due processi cellulari importantissimi: la respirazione cellulare e la mitocondriogenesi. Pertanto se gli studi preliminari venissero confermati da altre sperimentazioni, l'idrossitirosolo potrebbe risultare in grado di contrastare fenomeni come ipossia, problematiche mitocondriali e riduzione progressiva dell'efficienza energetica cellulare che rappresenta ad oggi una di quelle concause che sembrano implicate nei fenomeni di invecchiamento. I molti studi e

la posizione attuale della comunità scientifica confermano i benefici dell'idrossitirosolo nella prevenzione delle patologie cardiovascolari, di malattie legate alla senescenza e di arresto della crescita tumorale.

## CAPITOLO 2

### CONTENUTI TEORICI

#### **2.1 Scopo del tirocinio**

Nel corso del 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).

Mi sono unito al progetto un anno dopo il suo inizio, 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 un oleificio, mediante adsorbimento in fase solida su una resina polimerica (Amberlite® Xad 16).

L’impianto da laboratorio era già pronto e consisteva in quattro colonne impaccate di resina polimerica, erano già stati fatti studi sulla cinetica di adsorbimento e sulle isoterme di adsorbimento ed era già stato sviluppato un metodo HPLC per la misura dei fenoli totali con le acque di imperia 2012 e Gallipoli.

Il mio lavoro è cominciato con la caratterizzazione delle acque di vegetazione di Imperia 2013 (provenienti da sant’Agata d’Oneglia), per poi proseguire con l’assemblaggio di un impianto di filtrazione in scala laboratorio e l’impaccamento con nuova resina delle colonne. Sono stati condotti la caratterizzazione del comportamento fluidodinamico dell’impianto, lo studio della ripetibilità dell’adsorbimento e del desorbimento, lo studio sulla velocità ottimale di adsorbimento, analisi sul COD e sulla concentrazione dei fenoli totali, e lo studio delle isoterme di adsorbimento della nuova acqua. Infine è stato sviluppato un metodo HPLC per la misura dei composti fenolici singoli.

## 2.2 Adsorbimento in 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.

### 2.2.1 Equilibrio di adsorbimento

L'affinità di un adsorbente verso un particolare adsorbito dipende dall'interazione di tre proprietà: temperatura, la concentrazione dell'adsorbito in fase fluida, e la concentrazione dell'adsorbito in fase solida. Se una di queste tre viene mantenuta costante le altre due possono essere messe in grafico per rappresentare l'equilibrio, solitamente si tiene costante la temperatura e si studiano le isoterme di adsorbimento.

La capacità teorica di adsorbimento può essere valutata attraverso le isoterme di adsorbimento (relazione esistente tra il grado di ricoprimento di un solido e la concentrazione del soluto).

Per definire un equilibrio di adsorbimento è necessario fare cinque assunzioni:

- le specie sono adsorbite solo su un sito ben determinato e quindi occupano un solo sito
- l'energia di adsorbimento è uguale per tutti i siti e non dipende dalla presenza di altre specie già adsorbite ovvero stesso legame per tutte le molecole  $K_{eq}$  uguale per tutti
- l'adsorbimento è completamente reversibile
- l'attività può essere sostituita dalla concentrazione (condizioni di soluzione diluita)
- l'interazione adsorbito-adsorbito è trascurabile rispetto a quella adsorbito-adsorbente.

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 sarà:

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

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:

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

In questo caso si parla di assorbimento lineare o isoterma di Henry, pochi sistemi sono così semplici, in questo caso non si arriva mai alla saturazione dei siti disponibili.

Un modello più realistico è l'isoterma di Langmuir, il numero di siti è costante e all'aumentare dell'adsorbimento si arriva a saturazione dell'adsorbente.<sup>[12]</sup>

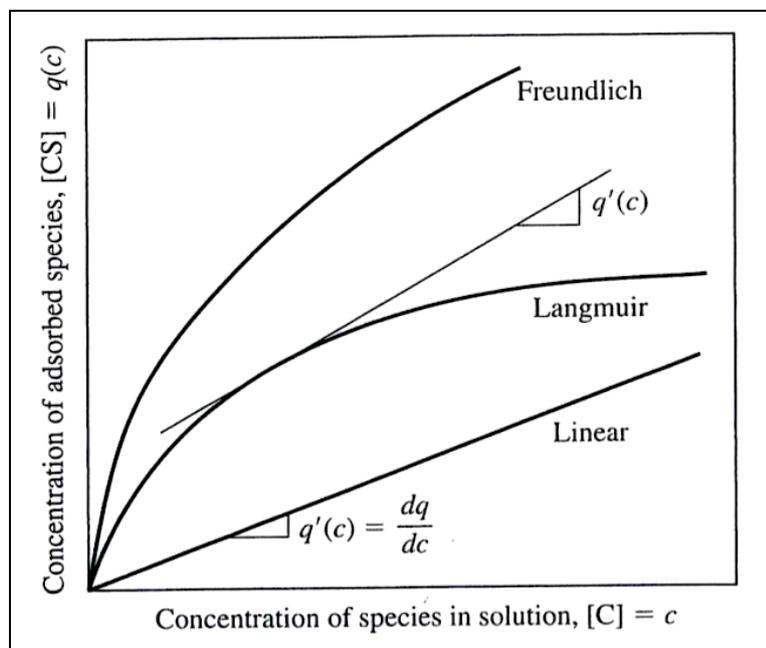
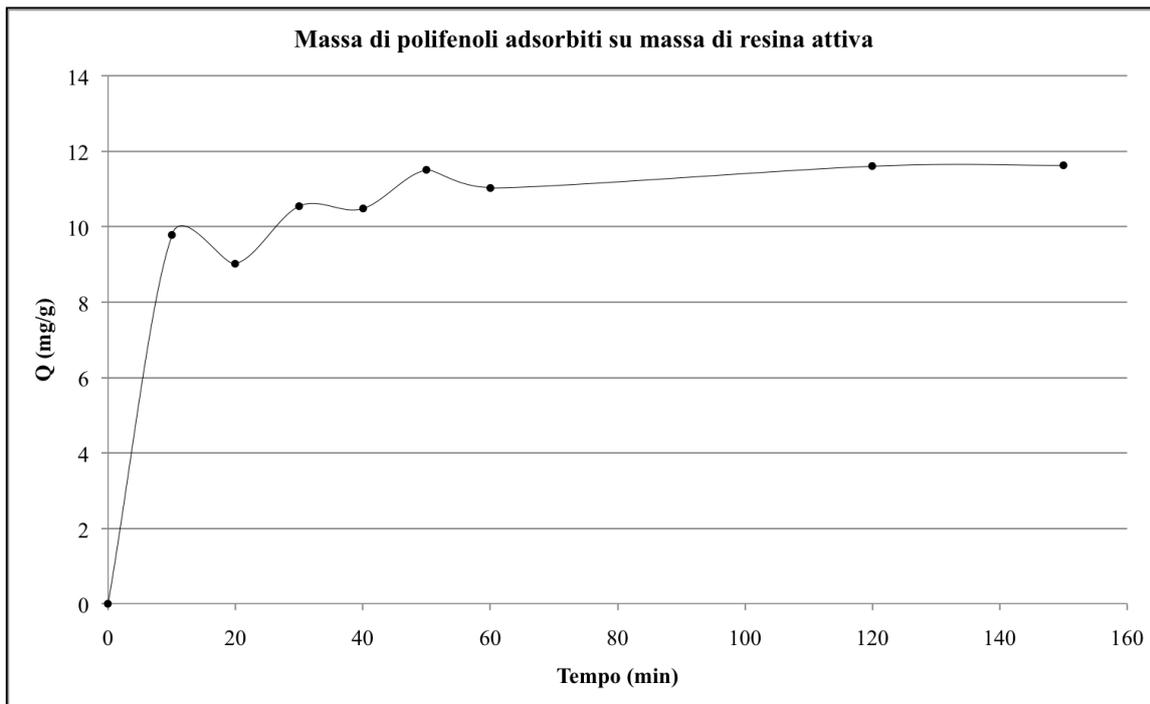


Figura 2. Principali tipi di isoterme

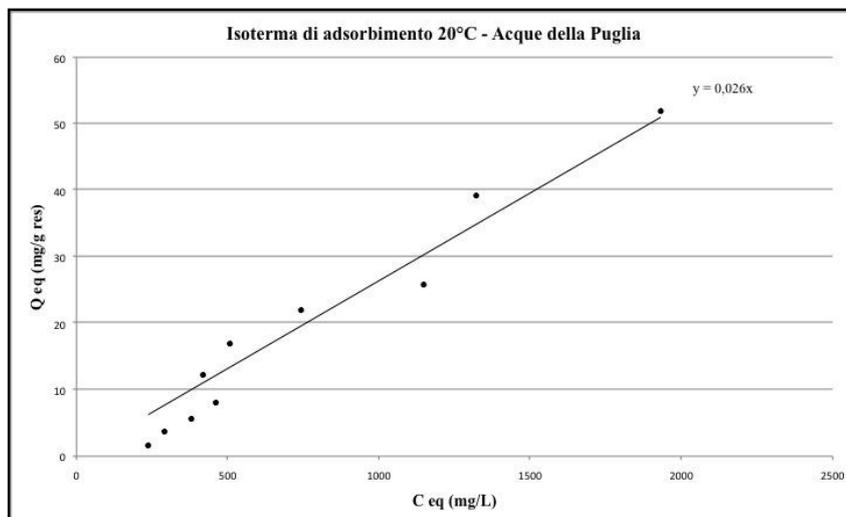
### 2.2.2 Isotherme e cinetiche di adsorbimento del progetto

Durante il primo anno di progetto è stata studiata la cinetica di adsorbimento e si è visto che il raggiungimento dell'equilibrio dell'adsorbimento giunge dopo circa un'ora di contatto fra OMW e resina.



**Figura 3. Esempio di cinetica di adsorbimento dove Q è il rapporto tra massa di fenoli adsorbiti e massa di resina attiva**

Nel corso del primo anno sono state fatte varie isoterme a  $T=20^{\circ}\text{C}$  e  $T=35^{\circ}\text{C}$ . 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. 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 4. Esempio di isoterma di adsorbimento lineare a 20°C**

## 2.3 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 apparecchiature più utilizzate per l'adsorbimento sono colonne a letto fisso o a letto fluido. In questo progetto sono state utilizzate le prime.

In generale un'equazione per il bilancio di massa di un processo di adsorbimento è:

$$\frac{\delta C}{\delta t} = \frac{\delta^2 C}{\delta^2 x} D_L - v_x \frac{\delta C}{\delta x} - \frac{B}{\varepsilon} \frac{\delta C^*}{\delta x} + \left( \frac{\delta C}{\delta t} \right)$$

Accumulo = dispersione – Convezione – adsorbimento + reazione

Dove:

C è la concentrazione di adsorbito nella fase mobile

$D_L$  è il coefficiente di dispersione longitudinale

x è la distanza longitudinale

t è il tempo

$v_x$  è la velocità superficiale della fase mobile ( $v=Q/\varepsilon A$ )

$\varepsilon$  è il grado di vuoto

B è la densità delle particelle di fase stazionaria

$C^*$  è la massa di soluto adsorbita su volume di fase stazionaria

### 2.3.1 Bilancio di materia dell'adsorbimento in colonne a letto fisso

Per poter analizzare un processo di adsorbimento a letto fisso, bisogna conoscere il bilancio di materia dell'adsorbimento in colonna. 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. In particolare se si considera la dispersione poco influente (solitamente è così nei liquidi tranne che per bassi numeri di Reynolds) e quindi trascurabile e che nei processi di separazione intervenga soltanto l'adsorbimento di tipo fisico, senza formazione di legami chimici e quindi senza reazione.

Si può scrivere un'equazione di bilancio di materia locale dell'adsorbito in fase fluida attraverso un incremento di spessore dz del letto fisso:

$$uA\varepsilon C - \left[ uA\varepsilon C + \frac{\delta(uA\varepsilon C)}{\delta z} \right] = \frac{\delta(uA\varepsilon C dz)}{\delta t} + \text{perdite}$$

ENTRATA – USCITA = ACCUMULO + PERDITE DA ADS.

Dove:

$u$  è la velocità effettiva nel fluido

$A$  è l'area della sezione della colonna

$\varepsilon$  è la porosità o grado di vuoto

$C$  è la concentrazione del adsorbito in fase liquida

Le perdite da adsorbimento corrispondono a ciò che è stato trasferito nella fase stazionaria:

$$\text{Perdite da ads.} = \frac{\delta[(1 - \varepsilon)AC' dz]}{\delta t}$$

Dove:

$C'$  è la concentrazione di adsorbito nella fase stazionaria (CS)

Le due equazione possono essere combinate insieme per ottenere:

$$\frac{\delta(uC)}{\delta z} + \frac{\delta C}{\delta t} = -\frac{1}{m} \frac{\delta C'}{\delta t}$$

Dove :  $m = \frac{\varepsilon}{1-\varepsilon}$

Quando la concentrazione di adsorbito nel flusso in ingresso è bassa, la velocità può essere considerata costante:

$$u \frac{\delta C}{\delta z} + \frac{\delta C}{\delta t} = -\frac{1}{m} \frac{\delta C'}{\delta t}$$

In cui il primo termine è la convezione che sposta la fase mobile lungo la colonna, il secondo termine è l'accumulo ed il terzo termine rappresenta la forza motrice del trasferimento di massa data dalla ripartizione dell'adsorbito tra fase mobile e fase stazionaria:

$$\frac{\delta C'}{\delta t} = K_{La}(C - C^*)$$

dove  $K_{La}$  è il coefficiente di trasferimento di materia, che include entrambe i termini di resistenza al trasferimento esterno e interno,  $C^*$  è la concentrazione in fase liquida che si avrebbe all'equilibrio con  $C'$ .

Se non si può escludere la dispersione, bisogna aggiungere a sinistra dell'equazione

$$\frac{\delta^2 C}{\delta^2 x} D_L \quad [13]$$

### 2.3.2 Caso particolare isoterma di adsorbimento lineare

Come già detto in precedenza l'isoterme di adsorbimento ottenute durante il primo anno di analisi sono tutte lineari. 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.

Se l'isoterma di adsorbimento è lineare :

$$[C'] = Keq \times [C]$$

Andando a riscrivere l'equazione del bilancio di massa dell'adsorbimento:

$$u \frac{\delta(C)}{\delta z} + \frac{\delta C}{\delta t} = -\frac{1}{m} \frac{\delta C'}{\delta C} \frac{\delta C}{\delta t}$$

Sostituendo e risolvendo la derivata si ottiene la seguente equazione:

$$u \frac{\delta(C)}{\delta z} + \frac{\delta C}{\delta t} = -\frac{1}{m} Keq \frac{\delta C}{\delta t}$$

Inoltre:

$$\frac{\delta C}{\delta t} Keq = \frac{\delta C'}{\delta z} \frac{\delta z}{\delta t}$$

E:

$$\left[ u + \left( 1 + \frac{1}{m} Keq \right) \frac{\delta z}{\delta t} \right] \frac{\delta C}{\delta z} = 0$$

Da tutto ciò si ottiene:

$$\frac{\delta z}{\delta t} = \frac{u}{1 + \frac{1}{m} Keq}$$

Infine integrando quest'ultima equazione:

$$\frac{ut}{1 + \frac{1}{m}Keq} = z$$

Dove z è l'altezza della colonna.

È importante notare come la velocità sia indipendente dalla concentrazione del soluto.<sup>[13]</sup>

## 2.4 Tipi di adsorbenti

Gli adsorbenti possono trovarsi sotto forma di pellet, sfere o grani irregolari. Vengono principalmente utilizzati in cromatografia o adsorbimento, i principali tipi di adsorbenti sono polimerici o in silice.

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 m<sup>2</sup>/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.

### 2.4.1 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.

### 2.4.2 Perdite di carico nei letti fissi

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

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{G}{\rho g_c D_p} \left( \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon^3} \right) \left[ \frac{150(1 - \varepsilon)u}{D_p} + 1,75G \right]$$

Dove :

P è la pressione

t è il tempo

G=  $\rho u$  è la velocità superficiale massica ( Kg/m<sup>2</sup>s)

$\rho$  è la densità del fluido

$g_c$  è un fattore di conversione

$D_p$  è il diametro delle particelle nel letto fisso

$\varepsilon$  è il grado di vuoto

u è la viscosità dinamica del fluido ( Kg/ms)

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.

### 2.5 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.

### **2.5.1 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.

## CAPITOLO 3

### PARTE SPERIMENTALE

#### 3.1 Reagenti utilizzati

- Cloruro di sodio, NaCl: Produttore Sigma Aldrich. Purezza > 99,8%, PM 58,44. Stato solido.
- Etanolo CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH: Produttore Fluka. Purezza > 99,8%,  $\delta$  0,789 g/mL, PM 46,07. Stato Liquido.
- Acido gallico C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>: Produttore Sigma Aldrich. Purezza 97,5-99,9 %. Stato solido.
- Acetonitrile CH<sub>3</sub>CN: Produttore Scharlan. Purezza > 99,85%,  $\delta$  0,786 g/mL, PM 41,05. Stato liquido
- Acido fosforico H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>: Produttore Carlo Erba. Purezza 85%,  $\delta$  1,689 g/mL, PM 97,955. Stato liquido. R:34, S:26-45.
- Sodio carbonato CNa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Produttore Sigma Aldrich. Purezza >99,5% , PM 105,99. Stato solido.
- Acido acetico C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> : Produttore Sigma Aldrich. Purezza >99,7%,  $\delta$  1,05 g/mL, PM 60,05. Stato liquido.
- Ammonio acetato NH<sub>4</sub><sup>+</sup> C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup> : Produttore Sigma Aldrich. Purezza >98%, PM 77,08. 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 1: Riassunto delle caratteristiche della sabbia**

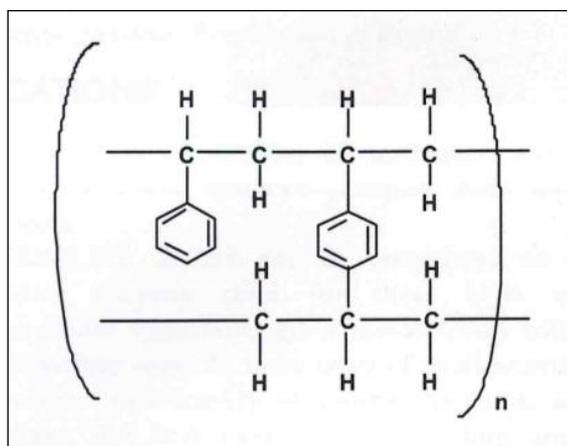
<b>Caratteristiche chimico-fisiche quarzo sferico grigio</b>	
<b>Origine</b>	Alluvionale
<b>Colore</b>	Grigio chiaro
<b>Struttura del cristallo</b>	Trigonale
<b>Forma del granello</b>	Spigoli arrotondati
<b>Diametro (mm)</b>	0,7-1,2
<b>Durezza (secondo scala Mohs)</b>	7
<b>Densità reale (g/ml)</b>	2,65
<b>Densità apparente (g/ml)</b>	1,5
<b>SiO<sub>2</sub></b>	99,80%
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0,05%
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0,02%

**Tabella 2: Riassunto delle caratteristiche del Biomax®**

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

**Tabella 3: Riassunto delle caratteristiche della resina adsorbente**

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



**Figura4: Struttura chimica dell'Amberlite® Xad 16 ,  
Resina stirene divinilbenzene**

### **3.2 Strumentazione e attrezzature**

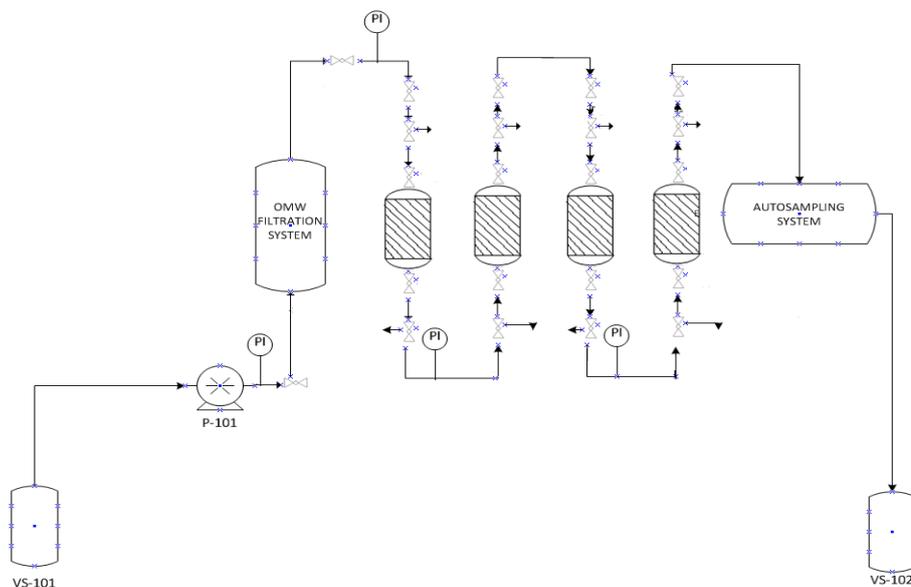
L'impianto su cui ho lavorato è formato da un sistema microfiltrante costituito da due porta filtri in parallelo, in modo che quando uno filtra si può sostituire il filtro saturo dell'altra così da avere una filtrazione in continuo, il filtro è collegato al sistema adsorbente costituito da quattro colonne in pyrex, realizzate su misura dalla ditta FAVS, in cui avviene l'adsorbimento, le colonne sono poste in comunicazione tra loro da dei raccordi in acciaio e dei tubi flessibili in teflon. 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 della prima

colonna, della seconda e della quarta, sono stati posti degli 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 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.

Infine si ha un sistema di auto campionamento costituito da 15 elettrovalvole L321, della sirai, programmabili collegate a delle vial per il campionamento in modo da campionare anche la notte. Le specifiche delle colonne sono riportate sotto in tabella 5.



**Figura 5.** A sinistra l'impianto di filtrazione a destra le quattro colonne adsorbenti e il sistema di auto campionamento



**Figura 6.** Schema impianto di adsorbimento

**Tabella 4: Specifiche delle colonne**

<b>Specifiche della colonna adsorbente</b>	
<b>Diametro (cm)</b>	2,44
<b>Area (cm<sup>2</sup>)</b>	4,68
<b>Altezza (cm)</b>	52,4
<b>Volume (cm<sup>3</sup>)</b>	245

I porta filtri utilizzati sono della FAVS in PP, diametro 47 mm, O-ring in Silicone, pressione in ingresso massima 5 bar, con due attacchi da ¼ di pollice.

I filtri utilizzati sono in cellulosa con un diametro dei pori di 25 µm e 11 µm.

Tutti i raccordi (raccordi a T, ad L, calzatubi) 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 è stata utilizzata una pompa peristaltica:

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. I tubi utilizzati nella pompa sono masterflex 06419-16 Tygon (materiale) diametro interno 3,1 mm.

Per tutte le analisi dei fenoli totali è stato utilizzato un 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.

Per lo sviluppo del metodo HPLC per le analisi sui fenoli singoli, è stata utilizzata un HPLC composta da:

- autocampionatore: agilent 1200 infinity G1329B – 1260 ALS
- rivelatore UV-visibile: agilent 1200 infinity G4212B – 1260 DAD (lavora da 290 nm a 600 nm)
- pompa: agilent 1200 infinity G1311B – 1260 Quaternary pump
- porta colonna termostata: agilent 1200 infinity G1316B – 1260 TCC (lavora da -5°C a 80°C)
- Colonna Kinetex 2.6 um bifenilica 100 A, LC column 50 x 2.1 mm

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.

Per le analisi del COD sono stati utilizzati kit Aqualytic, COD 150 ( 228.420710 ) senza Mercurio, Tubi, 0-150 mg/l.

Come fornello per i tubi del COD è stato usato il Termoreattore ECO 16 della VELP Scientifica ( F10100126 ), 168x110x269 mm, potenza 550 W, massima temperatura 160°C.

Gli strumenti utilizzati per preparare le soluzioni per le analisi sono eppendorf, matracci tarati da 5 mL e 2 mL a seconda della diluizione da effettuare, due pipette della sigma aldrich, una 50-1000 ul e una 20-200 ul, entrambe con precisione dello 0,2%, accuratezza 0,6%. Per filtrare la soluzione da iniettare nell'HPLC sono state usate delle trottole con membrana PVDF ( polivinildenflururo) da 0,20 um.

### **3.3 Preparazione delle soluzioni**

#### **3.3.1 Preparazione delle soluzioni per analisi dei fenoli totali con HPLC**

Il campione di cui dobbiamo determinare il contenuto totale in fenoli viene dapprima centrifugato per 10 minuti a 14000 rpm in un eppendorf si trasferisce il surnatante in un'altra eppendorf, poi si pone una precisa quantità del campione all'interno di un matraccio tarato, di modo tale che la sua diluizione porti ad avere un contenuto di fenoli compresi nel range di taratura dell'HPLC (da 10 mg/L a 400 mg/L). Si pone poi l'acido gallico all'interno del matraccio di modo tale che la sua concentrazione finale risulti 50 mg/L. L'acido gallico viene utilizzato come standard interno ovvero le concentrazioni dei fenoli totali ottenute sono espresse in mg/L di acido gallico equivalente. Una volta

portato a volume nel matraccio si prende circa 1 ml della soluzione e si filtra per due volte con due trottolo in PVDF il filtrato si pone in un eppendorf e poi è pronto per essere iniettato in HPLC.

### **3.3.2 Preparazione delle soluzione per analisi dei fenoli singoli con HPLC**

Si prendono 2 mL di campione, il campione può essere acqua di vegetazione tal quale, acqua defenolizzata, etanolo desorbito; si trasferiscono in una eppendorf e si fanno centrifugare a 14000 rpm per 30 min. Il surnatante viene preso e posto in un'altra eppendorf, da qui si preleva 1 mL per acque di vegetazione/defenolizzate o 0,4 mL per etanolo desorbito, questo perché le acque di vegetazione vengono diluite 1:2 mentre il desorbito 1:5 a causa della concentrazione maggiore di fenoli, lo si pone in un'altra eppendorf, si aggiungono 10 uL di una soluzione standard madre di acido gallico 10g/L (in modo da ottenere una concentrazione finale dello standard interno nella soluzione da iniettare di 50 mg/L), infine si porta a volume con una pipetta con acqua demi fino a 2mL, si preleva la soluzione con una siringa e con due trottolo in PVDF (0,20 µm) si filtra per due volte e poi si passa nella vial per l'autocampionatore ed il campione è pronto per l'analisi HPLC.

### **3.3.3 Preparazione degli standard esterni per lo sviluppo del metodo di analisi dei fenoli singoli con HPLC**

Sono stati preparati 13 standard dei fenoli ricercati nello sviluppo del metodo ( vedi capitolo 4), per poter ottenere il tempo di ritenzione, lo spettro di assorbimento e il fattore di risposta di ogni singolo polifenolo in modo da identificarli successivamente nei cromatogrammi delle OMW. Per prepararli si è pesato in un matraccio tarato sulla bilancia analitica il solido del rispettivo standard e poi si è portato a con acqua demi sempre nel matraccio tarato, pesando sulla bilancia analitica il quantitativo di acqua per portare a volume per essere il più possibile accurati, in modo da ottenere la concentrazione desiderata, circa 400 mg/L per tirosolo, idrossitirosolo, oleuropeina, circa 100 mg/L tutti gli altri, perché dalla caratterizzazione delle OMW fatta da altri gruppi in passato nel dipartimento, questi erano i valori medi dei fenoli singoli nelle acque, infine si preleva la soluzione con una siringa e con un filtro a trottola in PVDF (0,20 µm) si filtra per due volte e poi si passa nella vial per l'autocampionatore ed il campione è pronto per l'analisi HPLC.

<b>Fenoli</b>	<b>massa pesata del polifenolo solido (mg)</b>	<b>Volume di acqua pesato sulla bilancia analitica (g)</b>	<b>Concentrazione (mg/L)</b>
didrossibenzoico	2,6	25,0171	103,9
idrossitiroso	2,3	5,0127	458,8
idrossibenzoico	2,6	25,0094	104,0
tiroso	3,0	5,0250	597,0
idrossifenilacetico	3,0	25,0105	119,9
vanilico	3,3	25,0510	131,7
siringico	2,6	24,9903	104,0
coumarico	2,5	24,9992	100,0
ferullico	2,5	25,0171	99,9
dimetossibenzoico	3,3	24,9954	132,0
trimetossibenzoico	2,4	25,0898	95,7
transcinnamico	3,1	25,0066	124,0
oleuropeina	2,0	5,0191	398,5

**Tabella 6. Pesì e volumi misurati durante la preparazione degli standard esterni e loro concentrazione calcolata**

### **3.3.4 Preparazione della miscela sintetica per lo sviluppo del metodo di analisi dei fenoli singoli con HPLC**

Dei 13 standard sopra preparati, è stato preso 1 mL di ognuno e si è fatto una soluzione contenente tutti gli standard, più lo standard interno di acido gallico 50 mg/L, in questo modo ogni standard è stato diluito di 14 volte e quindi la concentrazione di ogni standard in miscela sarà un quattordicesimo rispetto la concentrazione calcolata in tabella 6. Questa miscela è stata utilizzata per studiare gli spettri di assorbimento dei singoli fenoli. Infine si preleva la soluzione con una siringa e con due filtri in PVDF (0,20 µm) si filtra per due volte e poi si passa nella vial per l'autocampionatore ed il campione è pronto per l'analisi.

### **3.3.5 Preparazione delle soluzioni per le analisi del COD con kit**

Le analisi sul COD sono state fatte sul OMW tal quale dopo la centrifugazione e sulle OMW durante l'adsorbimento, per vedere come varia la concentrazione, la retta di calibrazione del COD è stata fatta da un altro gruppo, quindi è stato utilizzato il loro fattore di risposta per il calcolo della concentrazione del COD dall'assorbanza ( 0,0004 u.a. x L/mg).

La preparazione consiste nel prelievo di 1 / 2 mL di campione lo si pone in un eppendorf, si centrifuga per 10 minuti a 14000 rpm, si preleva il surnatante e lo si pone in un'altra eppendorf, si preleva con una pipetta un certo quantitativo di volume e lo si pone in una falcon da 15 mL, tale da avere una diluizione che rientri nel range di calibrazione del COD ( 0-1500 mg/L) di solito si usano diluizioni 1:5 o 1:10 per i campioni più concentrati, si porta a volume a 3 ml con una pipetta 1000 ul e acqua demi, il campione è pronto per essere trasferito nel kit del COD.

### **3.4 Caratterizzazione acque di vegetazione**

Le acque utilizzate per tutte le prove effettuate, provengono da Imperia (Liguria).

#### **3.4.1 Determinazione dei solidi totali, solidi sospesi e solidi disciolti**

L'insieme delle analisi effettuate per la determinazione dei solidi sono state fatte sull'acqua tal quale non centrifugata, e la determinazione dei solidi finale è stata fatta su bilancia analitica.

Per la determinazione dei solidi totali contenuti nelle nostre acque di vegetazione, è stata presa un'aliquota di 50 ml di acqua con una pipetta graduata, posta in una piastra petri e fatta evaporare in stufa a 105°C per circa 24 ore.

Per la determinazione dei solidi sospesi è stata presa un'aliquota di 50 ml di acque con una pipetta graduata, ed è stata filtrata con dei filtri in cellulosa (0,45 µm) applicando il vuoto con una pompa, 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.

#### **3.4.2 Determinazione della densità**

Per misurare la densità delle acque di vegetazione è stato utilizzato un 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. La densità è stata misurata sia per OMW centrifugata che per OMW non centrifugata per vedere se cambiava. Le pesate sono state fatte su bilancia analitica.

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} d_{H_2O}$$

$m_1$ : massa picnometro vuoto;  
 $m_2$ : massa picnometro + massa acqua;  
 $m_3$ : massa picnometro + massa liquido in esame;  
 $d_{t(H_2O)}$ : densità dell'acqua alla temperatura  $t$ ;

### **3.4.3 Determinazione del COD**

Una volta preparate le soluzioni con il metodo illustrato a paragrafo 3.3.5 si procede con la determinazione del COD, in ogni tubo del kit vengono aggiunti 2mL del campione pronto, poi si chiude il tubo, si mescola capovolgendo con cautela. Si fa decomporre il contenuto del tubo per 120 minuti a 150°C nel termoreattore preriscaldato. Si prelevano i tubi del termoreattore e si lasciano raffreddare almeno a 60°C. Mescolare i tubi ancora caldi. Quando i tubi sono più o meno a temperatura ambiente il contenuto si legge nello spettrofotometro a 610 nm. Una volta misurata l'assorbanza, si divide il risultato per il fattore di risposta 0,0004 u.a./mg/L e si ottiene la concentrazione.

### **3.4.4 Determinazione del pH**

La determinazione del pH è stata fatta utilizzando un piaccametro dopo opportuna calibrazione.

### **3.5 Determinazione del contenuto fenolico**

La determinazione del contenuto di fenoli totali è stata utilizzata per tracciare le curve di breakthrough e l'andamento del desorbimento di ogni prova, per l'analisi delle isoterme di adsorbimento. I campioni vengono preparati secondo il metodo illustrato a paragrafo 3.3.1 e poi vengono iniettati in HPLC con una siringa da 100 ul per HPLC. Il metodo era già stato ultimato al mio arrivo e questo mi ha permesso di utilizzare il fattore di risposta ottenuto nell'anno precedente.

Mentre il metodo per l'analisi sui fenoli singoli è stato sviluppato durante il mio tirocinio, ed è stato utilizzato per vedere quali fenoli sono riconoscibili e quantificabili, e quant'è il loro grado di recupero dopo l'adsorbimento.

### **3.5.1 Metodo HPLC per le analisi dei fenoli totali**

È stato utilizzato 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

La lunghezza d'onda a cui avviene l'analisi è: 264 nm

Portata : 1 mL/min

Concentrazione standard interno: 50 mg/L

L'acido gallico è usato come standard interno e tutti i risultati sono riportati in acido gallico equivalente.

### **3.5.2 Metodo HPLC per le analisi dei fenoli singoli**

In questo metodo vengono utilizzate tre fasi mobili al contrario dei precedenti, che avevano due sole fasi mobili, usando il gradiente trovato in letteratura<sup>[14]</sup> per poter separare i picchi del cromatogramma al meglio.

#### **Fase mobile:**

**-Fase A:** 5mM ammonio acetato in acqua / 0,5% in volume di acido acetico

**-Fase B:** 5mM ammonio acetato in ACN / 0,5% in volume di acido acetico

**-Fase C:** 5mM ammonio acetato in metanolo/ 0,5% in volume di acido acetico

**Durata run :** 35 minuti

**Post run :** 5 minuti

**Lunghezze d'onda analizzate:** 254 nm, 280 nm, 310 nm

**Volume prelevato campione:** 20 uL

**Temperatura colonna:** 40 °C

**Portata:** 1,25 mL/min

## Gradiente

Tempo (min)	Fase A (%)	Fase B (%)	Fase C (%)
0	96	3	1
4	85	10	5
6	82.5	11.5	6
8	80	12	8
15	65	24	11
21	0	85	15
26	0	85	15
30	96	3	1
35	96	3	1

### 3.6 Procedura per l'attivazione della resina

Per prima cosa, si pesa la resina XAD16 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 (avrà un peso di circa un terzo rispetto al giorno precedente) 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. Infine si pesa la resina umida e si calcola il rapporto tra il peso della resina attiva su peso resina secca.

### 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.

Anche per Imperia 2013 sono state fatte isoterme a 10°C e 25°C per verificare se, come visto nell'anno precedente, sono isoterme lineari o no.

Ogni isoterma è ottenuta ponendo all'interno di 9 boccettini in vetro o becher 17,5 grammi di resina mentre in 2 boccettini 2,5 grammi di resina. Il tutto pesato su bilancia analitica.

Poi si aggiungono diversi volumi di acqua di vegetazione, rispettivamente 10, 25, 40, 60, 90, 125, 180, 270, 450 mL e negli ultimi due bocchettini ( con 2,5 grammi) si mette acqua di imperia concentrata al rotavapor nel primo acqua concentrata di circa 1/3, nel secondo concentrata di circa 2/3, questo viene fatto per poter raggiungere valori di concentrazione maggiore nella resina senza usare un quantitativo di OMW esagerato, e per verificare se a elevati valori di concentrazioni si raggiunge l'asintoto dell'isoterma.

Il tutto è posto ad agitare in uno shaker a 140 rpm fino al raggiungimento dell'equilibrio ( 2 ore). La concentrazione dei fenoli totali presenti nella fase liquida al raggiungimento dell'equilibrio è determinata utilizzando il metodo di analisi in HPLC ( vedi paragrafo 3.5.1) mentre la concentrazione in fase solida è ricavata per differenza tra quella iniziale delle acque e quella in soluzione.

### **3.8 Metodo di impaccamento delle colonne**

In testa e in coda la colonna è caratterizzata da un pre-filtro che serve ad 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 1 centimetro di altezza, e un successivo strato di sabbia di quarzo sferico grigio di 2 cm di altezza.

Per prima cosa, viene 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 viene realizzato uno slurry con resina precedentemente attivata (vedi paragrafo 3.6). Il primo slurry, è composto da un rapporto del 30% in volume di resina/liquido. Come liquido è utilizzata una soluzione di acqua demineralizzata, si sonica lo slurry per 5 minuti per rimuovere l'aria, poi si inizia a riempire la colonna con lo slurry si lascia depositare per un ora, poi si favorisce l'impaccamento generando un piccolo vuoto tramite una pompa peristaltica collegata alla coda della colonna, in questo modo si impacca la prima sezione di colonna, il resto delle sezioni si impaccano usando uno slurry con un rapporto in volume resina/liquido del 70%, il resto della procedura è la stessa usata per il primo impaccamento. Si riempie con lo slurry fino ad ottenere una altezza del letto di circa 40 cm. A questo punto si pone un altro strato di sabbia, sempre di 2 cm circa, ed infine un ultimo strato di Biomax® di altezza 0,5-1 cm centimetri e si riempie con acqua fino a farla fuoriuscire dalla colonna in modo da non avere aria all'interno che mi possa modificare l'impaccamento durante l'adsorbimento.

### **3.9 Procedura per lo studio fluidodinamico**

Il comportamento fluidodinamico della colonna viene studiato andando ad utilizzare come tracciante una soluzione acquosa 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 (circa 3000 uS). 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). Il flusso della soluzione tracciante è uguale a 5cm/min.

Sono stati effettuati test fluidodinamici prima e dopo ogni ciclo di adsorbimento per valutare la variazione dell'impaccamento del letto, ovvero come varia tempo di riempimento della colonna e di conseguenza la porosità 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 centrifugate in aliquote da 200 ml per 30 minuti a 5000 rpm. Poi vengono filtrate in continuo attraverso l'impianto di filtrazione con filtri da 25 um. Sono poi poste in una tanica accanto all'impianto e collegate tramite un tubo di teflon ad una pompa peristaltica collegata a sua volta all'impianto di filtrazione e alle quattro colonne.

Si fa partire la prova facendo flussare le acque di vegetazione all'interno dell'impianto d'adsorbimento, i due filtri usati ora sono di 11 um e ogni volta che la pressione aumenta si apre il porta filtro parallelo e si chiude quello in funzione per sostituire il filtro con uno nuovo, in questo modo si può lavorare in continuo. Si campiona a tempi regolari (20 minuti) all'uscita della quarta colonna. Ogni ora si campiona anche dalla testa di entrata delle colonne per poter sapere la concentrazione delle acque prima di entrare nell'adsorbimento. Le acque defenolizzate vengono raccolte in una tanica all'uscita, da cui si potrà prendere un campione per misurare la concentrazione dei fenoli nell'acqua defenolizzata. La prova termina quando la concentrazione in uscita della colonna raggiunge circa lo 0,20 di quella in entrata.

Sono state fatte quattro prove a velocità superficiale costante di circa 5 cm/min per verificare come variano le caratteristiche dell'adsorbimento dopo vari cicli di lavoro, e

due prove a diversa velocità superficiale 7,64 cm/min e 2,22 cm/min per verificare come varia l'efficienza della colonna al variare della velocità.

Infine i campioni presi ogni venti minuti vengono preparati come descritto nel paragrafo 3.3.1 analizzati all' HPLC con il metodo dei fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1), in questo modo si ottiene il breakthrough di adsorbimento della prova.

### **3.11 Procedura di desorbimento**

Una volta completato l'adsorbimento si ferma la pompa e si sostituisce la tanica dell'OMW con una tanica di etanolo acidificato ( 0,5% HCl 0,1 N), e si avvia la pompa, si lavora a portate basse in quanto la parte adsorbita sulle colonne di OMW è molto viscosa e di conseguenza le perdite di carico sono molto elevate, si campiona una volta all'ora dall'uscita della quarta colonna, e si raccoglie il desorbito in due taniche, i primi 0,8  $\tau$  in una e sono praticamente acqua, e la parte successiva nell'altra ed è costituita da etanolo e il desorbito, l'etanolo viene separato e recuperato del desorbito tramite evaporazione in rotavapor a 35°C, 80 rpm, e conseguente condensazione.

Quando il desorbimento in etanolo è concluso ( si ha etanolo in uscita di colore giallo chiaro), si procede al lavaggio delle colonne con acqua demineralizzata dopodiché le colonne sono pronte per un nuovo ciclo di lavoro.

I campioni raccolti durante il desorbimento vengono preparati come descritto nel paragrafo 3.3.1 e analizzati all'HPLC con il metodo dei fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1), in questo modo si ottiene il profilo di desorbimento nel tempo.



## CAPITOLO 4

### RISULTATI E DISCUSSIONE

#### 4.1 Caratterizzazione delle acque di vegetazione

La caratterizzazione delle acque di vegetazione è stata fatta per conoscere le caratteristiche macroscopiche dell'acqua di Imperia 2013.

##### 4.1.1 Determinazione dei solidi sospesi, disciolti, totali

Durante la caratterizzazione dell'acqua di Imperia 2013 sono stati determinati i contenuti di solidi sospesi, disciolti e totali tramite la procedura illustrata a paragrafo 3.4.1.

Per i solidi totali sono state fatte tre prove e se ne è fatta la media, i risultati possono essere visti in tabella 7.

**Tabella 7. Solidi totali in Imperia 2013**

Campione	Peso Contenitori Vuoti (g)	Peso Contenitori + solidi secchi (g)	Solidi Totali (g)	TS (g/L)
1	61,1444	61,7932	0,6488	12,976
2	48,17941	48,8302	0,6508	13,0158
3	87,3051	87,936	0,6309	12,618
				<b>Media</b>
				<b>12,870</b>

Il risultato ottenuto con intervallo di fiducia al 95% ( calcolato con t di student) per i solidi totali è:

$$TS = ( 12,870 \pm 0,544 ) \text{ g/L}$$

Per i solidi sospesi sono state fatte tre prove e se ne è fatta la media, i risultati possono essere visti in tabella 8.

**Tabella 8. Solidi sospesi totali in Imperia 2013**

Campione	Peso Contenitori Vuoti (g)	Peso Contenitori + filtri di cellulosa (g)	Peso Contenitori + filtri di cellulosa+ solidi (g)	Solidi Sospesi (g)	TSS (g/L)
1	54,4182	54,502	54,7171	0,2151	4,302
2	49,226	49,3121	49,5295	0,2174	4,348
3	59,5116	59,5973	59,8348	0,2375	4,75
					<b>Media</b>
					<b>4,467</b>

Il risultato ottenuto con intervallo di fiducia al 95% ( calcolato con t di student) per i solidi sospesi totali è:

$$\text{TSS} = ( 4,467 \pm 0,612 ) \text{ g/L}$$

Le tre aliquote utilizzate, sono state prelevate dalla stessa tanica da cui sono state prese le OMW per la prova precedente, in modo tale da andare a determinare successivamente i solidi disciolti per differenza.

La tabella 9 mostra il valore dei solidi disciolti totali (TDS) presenti nelle acque di Imperia 2013, determinati per differenza tra i solidi totali e i solidi sospesi.

**Tabella 9. Solidi totali disciolti in Imperia 2013**

Campione	TDS (g/L)
1	8,674
2	8,6678
3	7,868
<b>Media</b>	
<b>8,403</b>	

Il risultato ottenuto con intervallo di fiducia al 95% ( calcolato con t di student) per i solidi disciolti totali è:

$$\text{TDS} = ( 8,403 \pm 1,152 ) \text{ g/L}$$

#### 4.1.2 Determinazione della densità delle acque

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

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} d_{H_2O}$$

$m_1$ : massa picnometro vuoto;

$m_2$ : massa picnometro + massa acqua;

$m_3$ : massa picnometro + massa liquido in esame;

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

Sono state fatte tre analisi sia per acqua non centrifugata che centrifugata e poi sono stati confrontati i valori di densità.

**Tabella 10. Densità OMW non centrifugate**

Temperatura (°C)	M picnometro vuoto (g)	M Picnometro + acqua demi (g)	M Picnometro + OMW Imperia No Cent. (g)	Densità OMW Imperia No cent. (g/mL)
30	40,632	143,367	144,149	1,003
<b>Densità acqua a 30°C (g/mL)</b>	40,63	143,372	144,133	1,003
0,99571	40,63	143,368	144,101	1,003
				<b>Media</b>
				1,003

**Tabella 11. Densità OMW dopo centrifugazione**

Temperatura (°C)	M picnometro vuoto (g)	M Picnometro + acqua demi (g)	M Picnometro + OMW Imperia Cent. (g)	Densità OMW Imperia cent. (g/mL)
30	40,632	143,367	144,136	1,003
Densità acqua a 30°C (g/mL)	40,63	143,372	144,097	1,003
0,99571	40,63	143,368	144,068	1,002
				<b>Media</b>
				1,003

Come si può vedere dalle tabelle 10 e 11 la densità non varia prima e dopo la centrifugazione.

#### 4.1.3 Determinazione della concentrazione dei composti fenolici totali

La determinazione della concentrazione dei fenoli 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 fenoli. In particolare la determinazione dei composti fenolici totali è stata fatta tramite la media di tutti i valori misurati, con il metodo HPLC per i fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1 ), dei campioni presi dalla testa della prima colonna durante ogni prova di adsorbimento.

**Tabella 12. Contenuto di fenoli totali nell'acqua di Imperia 2013**

n. prova	concentrazione fenoli totali (mg/L)
breakthrough 9.1	512
breakthrough 9.2	507
breakthrough 9.3	584
breakthrough 9.4	600
breakthrough 10	533
breakthrough 11	525
	<b>media</b>
	543,5

Il risultato ottenuto con intervallo di fiducia al 95% ( calcolato con t di student) per i fenoli totali in Imperia 2013 è:

Concentrazione PFT = ( 543,5 ± 40,947 ) mg/L

#### 4.1.4 Riassunto caratterizzazione Imperia 2013

In tabella 13 sono riassunte le caratteristiche principali dell'acqua di Imperia 2013, il pH è stato misurato con un piaccametro dopo opportuna calibrazione, il COD è un valore medio misurato dai precedenti gruppi che hanno lavorato con Imperia 2013.

**Tabella 13. Caratteristiche OMW Imperia 2013**

Total Phenols Content-Average Value (mg/L)	543,5
Total Solids (g/L)	12,87
Suspended Solids (g/L)	4,47
Dissolved Solids (g/L)	8,4
COD (g/L)	20,78
Density (g/mL)	1,003
pH	4,59

#### 4.2 Isoterme 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. Sono state fatte per Imperia 2013, anche se erano già state testate nelle acque precedenti dell'anno prima, per essere sicuri che l'isoterma sia lineare anche a elevato grado di adsorbimento, per fare ciò sono state concentrate le acque di Imperia tramite rotavapor ( per il metodo vedi paragrafo 3.7 ).

Si vanno a determinare tramite metodo HPLC fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1 )  $c_i$  e  $c$ . Si va quindi a determinare la massa di fenoli adsorbiti su massa di resina attiva ( $Q$ ), questa viene determinata mediante la relazione:

$$Q = \frac{(c_i - c)V}{m}$$

Dove:

Q è la massa di fenoli adsorbiti su massa di resina attiva ( mg/g)

m è la massa di resina attiva ( g)

c è la concentrazione dell' acqua di Imperia prima dell'adsorbimento ( mg/L)

$c_i$  è la concentrazione dell'acqua di Imperia dopo l'adsorbimento ( mg/L )

V è il volume di acqua di Imperia utilizzato ( L)

Infine ottenuti  $c_i$  e Q, la media del rapporto tra questi fornisce la costante di adsorbimento, come vediamo dalla tabella 14 ogni isoterma è ottenuta aggiungendo diversi volumi di acque di vegetazione a quantitativi fissi di resina tranne per i campioni 10 e 11 in cui le acque di partenza sono state concentrate.

**Tabella 14. Valori per l'isoterma di Imperia a 10 °C**

Campione	m (g)	V (L)	$C_i$ (mg/L)	C (mg/L)	Q (mg/g)	Kads (L/g)
1	17,56	0,010	49	737	1	0,008
2	17,30	0,025	38	737	1	0,027
3	17,50	0,040	58	737	2	0,027
4	17,34	0,060	42	737	2	0,057
5	17,61	0,090	76	737	3	0,044
6	17,52	0,125	65	737	5	0,074
7	17,66	0,180	69	737	7	0,098
8	17,46	0,270	101	737	10	0,098
9	17,70	0,450	216	737	13	0,061
10	2,53	0,100	483	1139	26	0,054
11	2,34	0,097	929	2169	51	0,055
						<b>Media</b>
						0,055

Il risultato ottenuto con intervallo di fiducia al 95% ( calcolato con t di student) per la costante di adsorbimento di Imperia 2013 a 10°C è:

$$Kads = ( 0,055 \pm 0,019 ) L/g$$

Infine si mettono in grafico  $c_i$  e Q la pendenza della curva ottenuta ci fornisce la  $K_{ads}$  per via grafica.

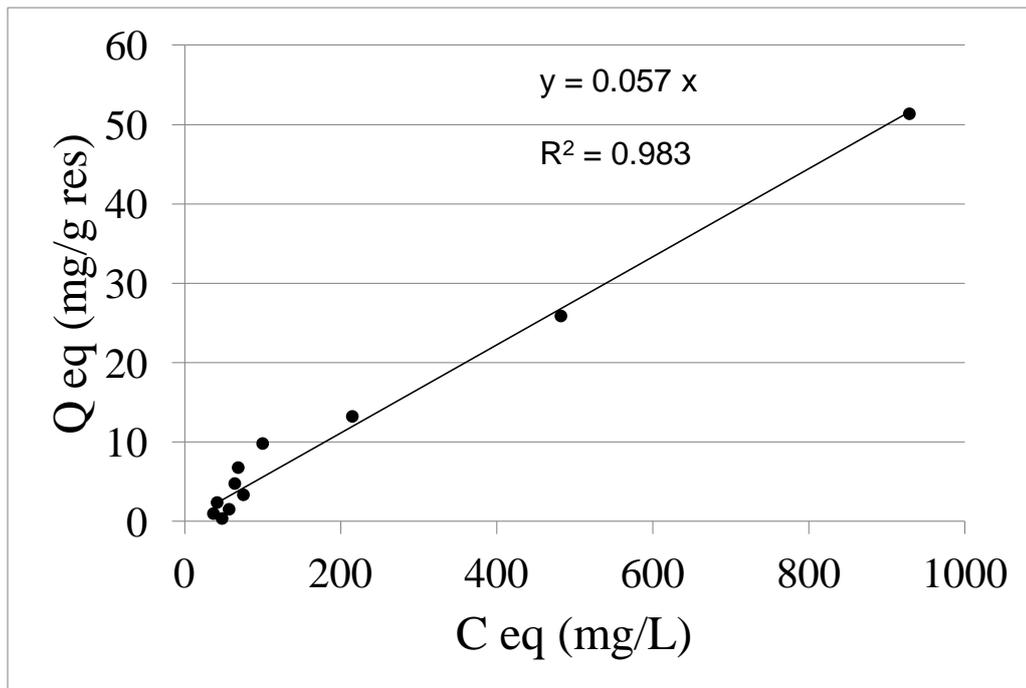


Figura 7. Isotherma di adsorbimento relativa alle OMW Imperia 2013 a 10 °C

Dalla figura 7 si può vedere che tramite interpolazione lineare dei dati ottenuti il coefficiente angolare e quindi la K di adsorbimento sia 0,057 L/g.

Sono state fatte anche isoterme a 25°C e tramite interpolazione lineare passante per l'origine si è ottenuto una Kadsorbimento di 0,017 L/g.

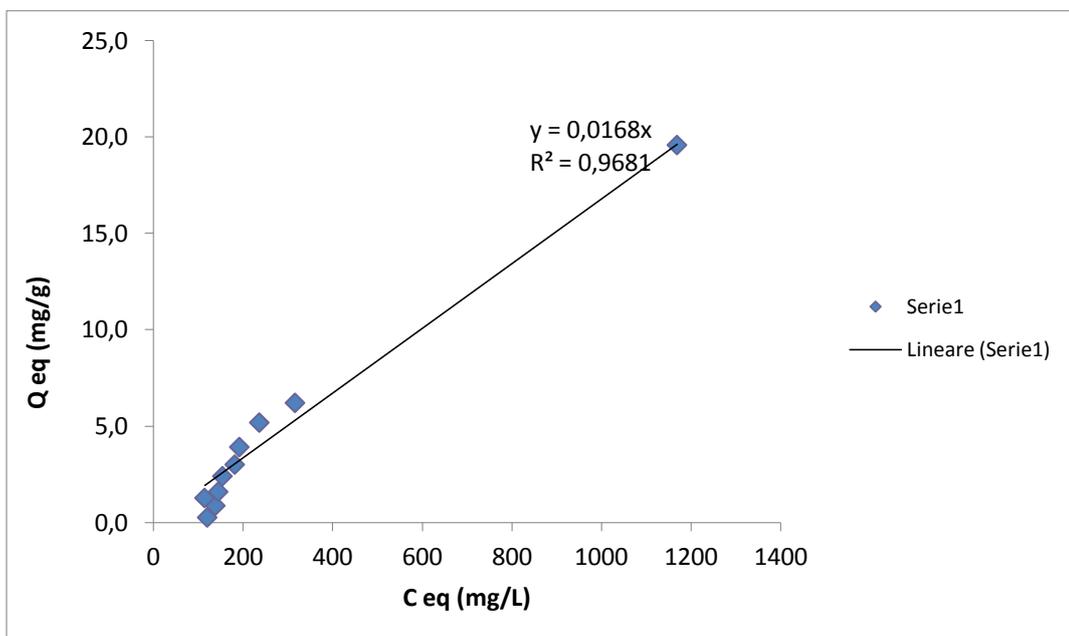


Figura 8. Isotherma di adsorbimento di OMW Imperia 2013 a 25°C

Come si può notare l'adsorbimento è migliore a basse temperature. 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.

#### **4.3 Realizzazione dell'impianto di filtrazione e dell'impaccamento**

Inizialmente l'impianto era costituito da quattro colonne in pyrex per l'adsorbimento e una colonna in pyrex più larga, che aveva la funzione di filtro meccanico ed era 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, aveva la funzione di filtrare i possibili residui solidi di piccole e medie dimensioni che potevano entrare all'interno delle colonne di adsorbimento e andare a far aumentare le perdite di carico, tuttavia il sistema non ha funzionato e ha portato all'intasamento delle colonne a causa dell'elevato contenuto di solidi che vi arrivava, di conseguenza le colonne sono state svuotate, pulite e impaccate secondo procedura con resina nuova ( vedi paragrafo 3.8 ), poi è stato sviluppato un sistema di filtrazione con due porta filtri in parallelo posti in comunicazione tra loro da dei raccordi in acciaio, dei tubi flessibili in teflon li collegano a monte alla pompa peristaltica di alimentazione e ad un misuratore di pressione per vedere quando i filtri sono da sostituire e a valle alla prima colonna di adsorbimento.



**Figura 9. Sistema di filtrazione dell'impianto**

I due porta filtri sono stati messi in parallelo per far si che la filtrazione possa funzionare in continuo durante al prova di adsorbimento, in particolare uno si fa funzionare mentre l'altro viene isolato dal flusso, si apre e si sostituisce il filtro sporco.

Questo sistema di filtrazione è stato usato per effettuare una prima filtrazione con filtri in cellulosa da 25  $\mu\text{m}$ , le acque così filtrate venivano stoccate in delle taniche e successivamente alimentate all'impianto di adsorbimento in continuo passando nuovamente per il sistema di filtrazione questa volta con filtri da 11  $\mu\text{m}$ , in questa per rimuovere l'aria presente dopo la sostituzione del filtro e quindi per non farla entrare in colonna, si inietta con una siringa un po' di OMW, filtrata a 25  $\mu\text{m}$ , tramite il tubo in teflon prima del porta filtro.

Questo sistema di filtrazione ha permesso alle colonne di funzionare per vari cicli di lavoro senza intasarsi e dare problemi di perdite di carico.

#### 4.4 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 (vedi paragrafo 3.9). Sono state effettuate prove dopo ogni ciclo di adsorbimento/desorbimento con velocità superficiale uguale a 5 cm/min. In figura 10 è riportata a titolo di esempio la curva di risposta ("curva F") dopo aver impaccato con resina nuova per verificare se era stato fatto un buon lavoro.

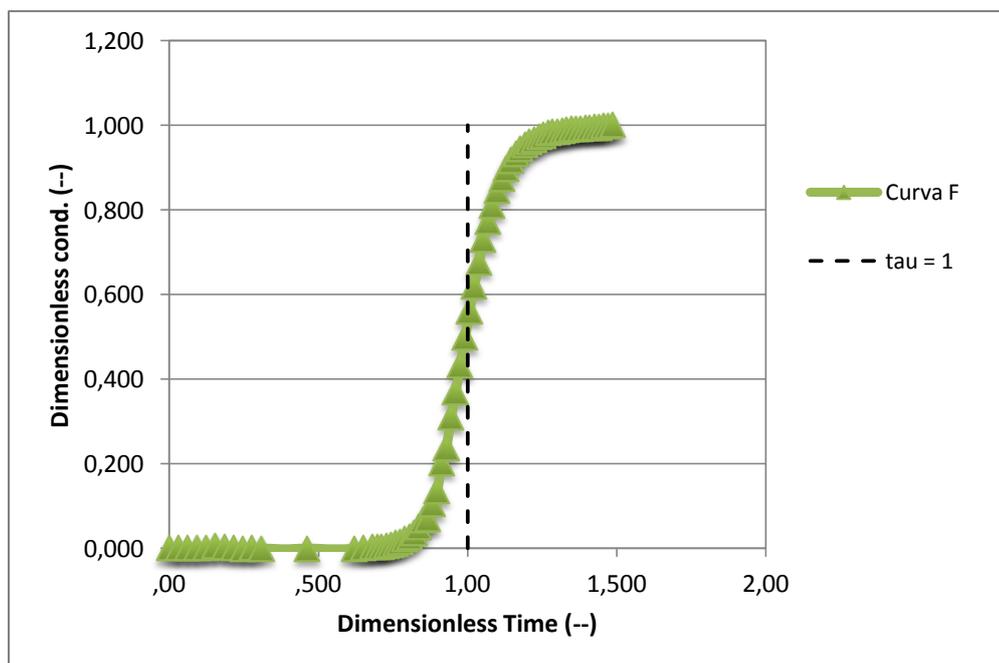


Figura 10. Curva F dopo l'impaccamento delle colonne velocità = 5.03 cm/min

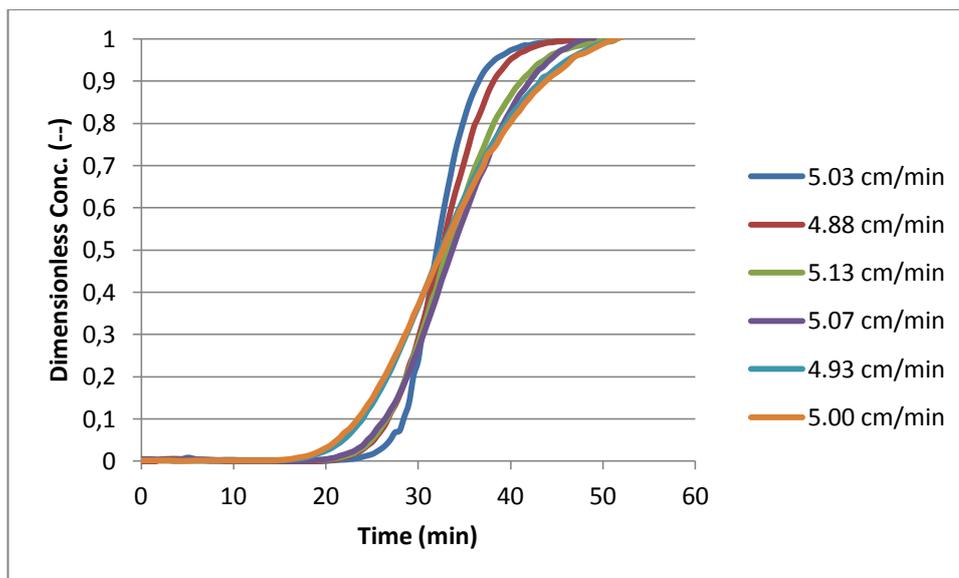
Il grafico è ottenuto mettendo sulle ascisse tempo adimensionale, ovvero dividendo il tempo per il tempo di riempimento, e sulle ordinate conducibilità adimensionale, ovvero dividendo la conducibilità misurata per quella asintotica raggiungibile dalla soluzione di NaCl.

In tutti i casi studiati è stata ottenuta una “curva F” con forma sigmoidale che indica una buona qualità dell’impaccamento. Dall’integrale della funzione (1-F) è possibile calcolare il tempo di riempimento della colonna e, successivamente la porosità un parametro necessario per simulare il processo.

In tabella 15 sono riportati tutti le porosità e i tempi di ritenzione ottenute con prove fluidodinamiche prima di un adsorbimento.

**Tabella 15. Tempi di riempimento e porosità delle rispettive prove di adsorbimento**

n. prova	velocità superficiale (m/s)	$\tau$ ( min)	porosità %
breakthrough 9.1	5,03	32,3	83,6
breakthrough 9.2	4,88	32,5	81,6
breakthrough 9.3	5,13	33,5	88,2
breakthrough 9.4	5,07	33,9	89,1
breakthrough 10	4,93	33	82,9
breakthrough 11	5	33	84,3



**Figura 11. Confronto delle curve F delle 6 prove fluidodinamiche**

Si può notare che anche dopo più utilizzi delle colonne la porosità vari di poco, probabilmente a causa di movimenti o aria nell’impaccamento. Il fatto che la sigmoide abbia pendenza via via più bassa, significa che nell’impaccamento si stanno formando

cammini preferenziali e quindi il tracciante impiega meno tempo per arrivare al rilevatore, lo si può notare in figura 11.

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

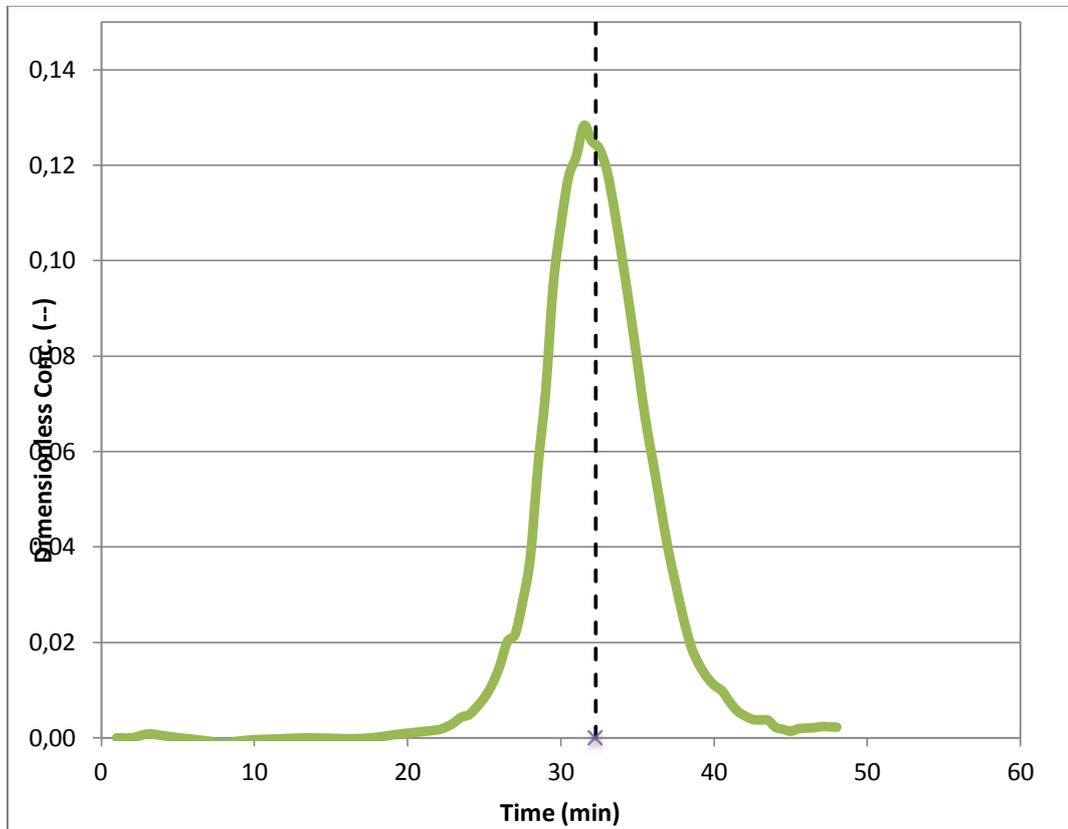


Figura 12. Curva E del breakthrough 9.1 vel= 5.03 cm/min

Dalla curva E si possono ottenere altri parametri che sono utili per definire il grado di impaccamento delle colonne: come il numero di piatti (N), l’altezza del piatto teorico (HEPT) e l’asimmetria ( $A_s$ ).

L’ampiezza del picco viene definita da N e HEPT, mentre il fattore di asimmetria  $A_s$  rappresenta la deviazione dalla forma di una ideale gaussiana ( $A_s = 1$ ) del picco, le irregolarità possono derivare da un cattivo impaccamento o da aria nella colonna.<sup>[15]</sup>

$$\text{Il numero di piatti è: } N = 5.54 \left( \frac{V_R}{W_h} \right)^2$$

Dove:

$V_R$  : volume di ritenzione calcolato alla massima altezza del picco

$W_h$  : ampiezza a metà altezza del picco

L'altezza del piatto teorico è:  $HEPT = \frac{L}{N}$

Dove:

N è il numero di piatti

L è la lunghezza della colonna impaccata con resina

Il fattore di asimmetria è.  $A_s = \frac{b}{a}$

Dove:

b è l'ampiezza al 10% di altezza del picco, a destra del picco massimo

a è l'ampiezza al 10% di altezza del picco, a sinistra del picco massimo

In tabella 16 sono riportati i valori ricavati dalla curva E dopo il nuovo impaccamento.

**Tabella 16. Valori ricavati dalle prove fluidodinamiche con la curva E**

<b>Parameteri</b>	<b>Nuovo Impaccamento</b>
<b>N</b>	117.2
<b>HEPT</b>	1.52
<b>A<sub>s</sub></b>	1.10

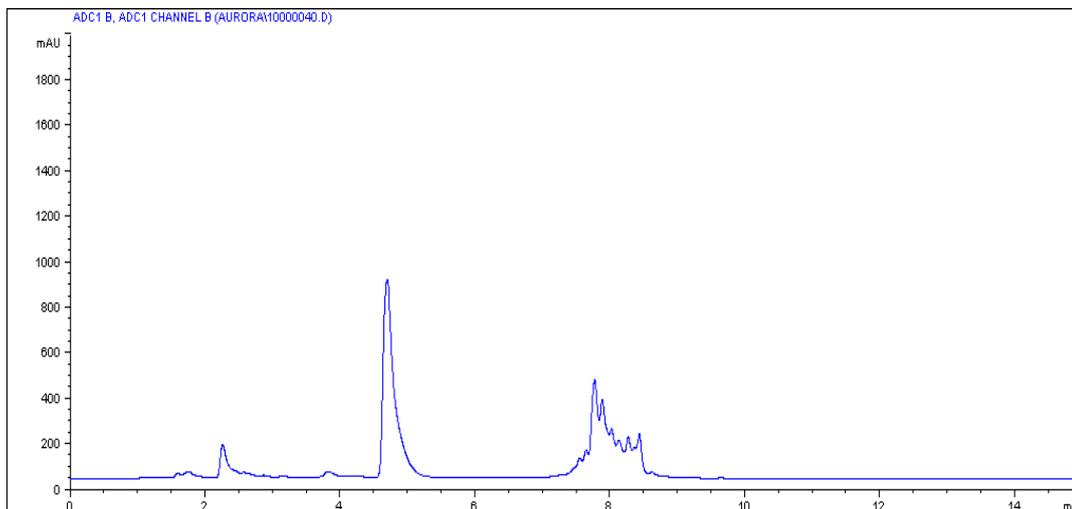
Valori ottimali, che indicano un buon impaccamento di  $A_s$  sono tra 0,8 e 1,8. Inoltre più HEPT è basso migliore sarà l'efficienza di separazione in colonna.

#### **4.5 Curve di breakthrough e ripetibilità**

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, inoltre l'integrale di una curva di breakthrough rappresenta il contenuto di fenoli totali non adsorbiti durante il ciclo di lavoro.

Sono state fatte in tutto sei prove, le prime quattro alla stessa velocità ( 5 cm/min) per studiare come variavano le caratteristiche dell'adsorbimento dopo vari cicli di lavoro, le ultime due sono state fatte a velocità diverse ( 7.64 e 2,22 cm/min) per studiare come variano le caratteristiche dell'adsorbimento in funzione della velocità.

I breakthrough sono stati realizzati secondo la procedura descritta a paragrafo 3.10 e i campioni prelevati sono stati analizzati con il metodo HPLC per i fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1 ), in figura 13 si può vedere un esempio di cromatogramma ottenuto con HPLC di un campione del breakthrough 9.4.



**Figura 13. Cromatogramma OMW Imperia 2013 di un campione del breakthrough 9.4**

L'assorbanza misurata all'HPLC dei fenoli totali viene convertita in concentrazione di acido gallico equivalente tramite la seguente formula:

$$C = \frac{yC_i}{Ry_i}$$

Dove :

C è la concentrazione dei fenoli totali espressi come mg di acido gallico equivalente su litro (mg/L)

$C_i$  è la concentrazione nota dello standard interno di acido gallico (mg/L)

R è il fattore di risposta ( (mg/L)/(u.a.) )

y è la assorbanza del picco di fenoli totali (u.a.)

$y_i$  è la assorbanza del picco di acido gallico (u.a.)

Il fattore di risposta è stato calcolato attraverso una retta di taratura fatta sull'acido gallico dal gruppo precedente in figura 14. Il risultata è 0,006 (mg/L)/(u.a.).

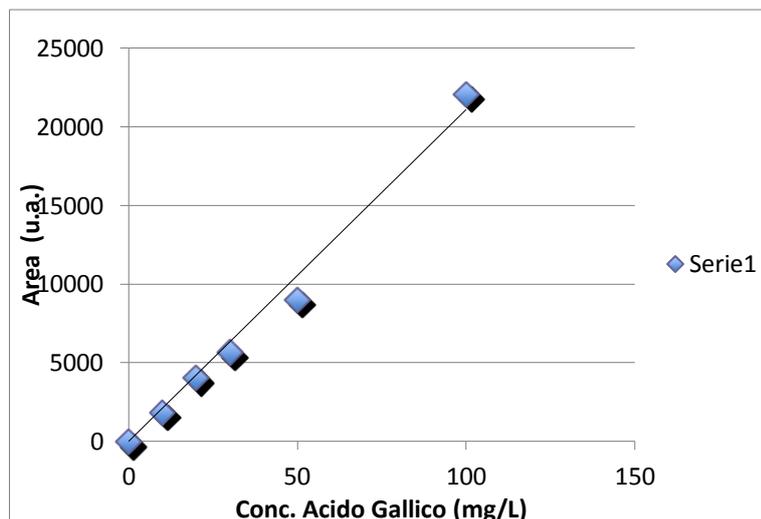


Figura 14. Retta di calibrazione dell'acido gallico per trovare il fattore di risposta dell' HPLC

Tutti i campioni analizzati in questo modo, vengono messi in grafici di concentrazione in funzione del tempo, le curve sperimentali ( breakthrough) così ottenute, 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 15 sono riportate sovrapposte tutte le curve adimensionali dei primi quattro adsorbimenti.

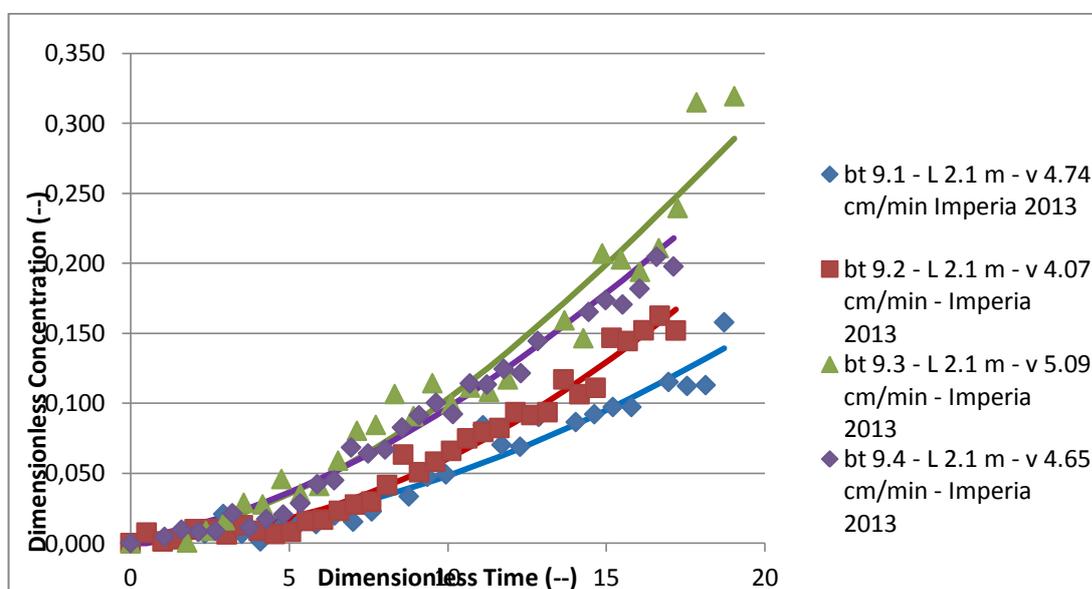


Figura 15. I quattro breakthrough di Imperia 2013 per le prove di ripetibilità

Si può notare dalla figura 15 come i breakthrough dopo più cicli di lavoro siano simili, tuttavia si può vedere come a le curve di breakthrough tendano a far uscire, a parità di tempo di contatto, prima il contenuto fenolico dopo più cicli di lavoro, ovvero l'efficienza dell'adsorbimento diminuisce, questo è dipende dalla fase di desorbimento in un cui non si riesce ancora a recuperare tutto il contenuto fenolico adsorbito e quindi le colonne si saturano e si hanno meno siti attivi liberi per l'adsorbimento successivo.

In figura 16 sono riportati i breakthrough fatti a velocità diverse:

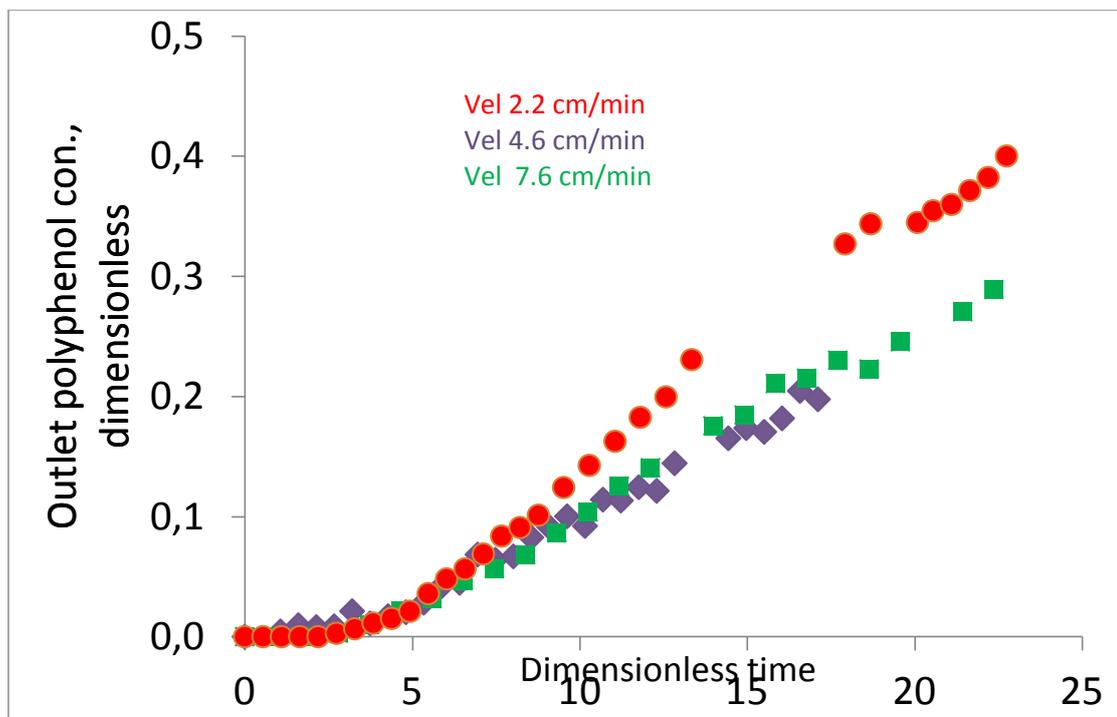


Figura 16. Breakthrough a diversa velocità

Dalla figura 16 si può notare che a velocità superficiale di 2,2 cm/min l'efficienza di adsorbimento diminuisce, mentre a velocità 4,6 a 7,6 non si ha un ulteriore miglioramento del processo di adsorbimento, il che vuol dire che per uno scale up industriale la velocità ottimale del processo sarà > di 4,6 cm/min e dipenderà da una serie di fattori economici: maggiore velocità porta a minor diametro della colonna e quindi minor volume di resina da usare, ovvero costi di investimento più bassi, ma aumentano le perdite di carico e quindi aumentano i costi operativi, ovviamente tramite un'analisi economica si può risalire alla velocità ottimale per avere i costi più bassi possibili.

#### 4.6 Prove di desorbimento

Dopo ognuna delle sei prove di adsorbimento è seguita una prova di desorbimento per il recupero dei fenoli adsorbiti, usando la procedura per il desorbimento ( vedi paragrafo 3.11), i campioni prelevati in testa all'ultima colonna sono stati analizzati all'HPLC con il metodo per i fenoli totali ( vedi paragrafo 3.5.1), le concentrazioni misurate sono state messe in grafico con il tempo adimensionale, ottenuto dividendo il tempo per il tempo di riempimento. In figura 17 un esempio di curva di desorbimento:

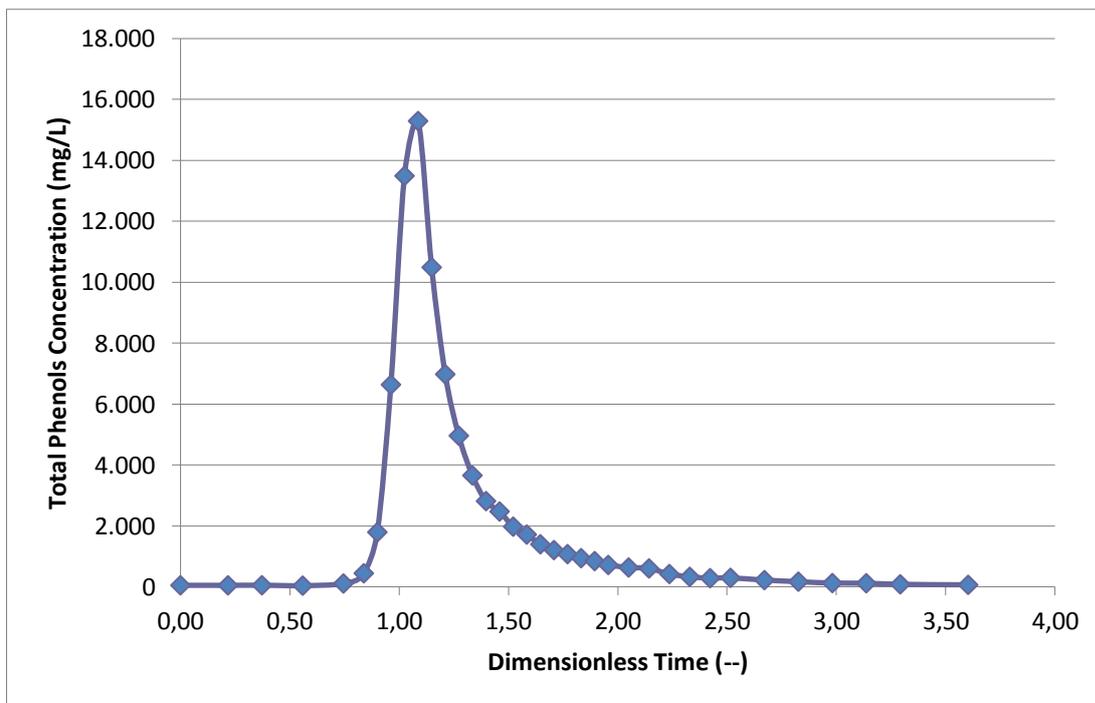


Figura 17. Curva di desorbimento della prova 9.1 a velocità = 4,36 cm/min

A differenza dell'adsorbimento nel desorbimento la velocità è stata variabile per ogni prova, questo è dipeso dall'aumento delle perdite di carico in colonna durante questa fase, a causa della elevata viscosità della massa di fenoli.

I desorbimenti fatti sono stati confrontati a tempo adimensionale per vedere la ripetibilità del processo, in figura 18 si può vedere il confronto di tre di questi:

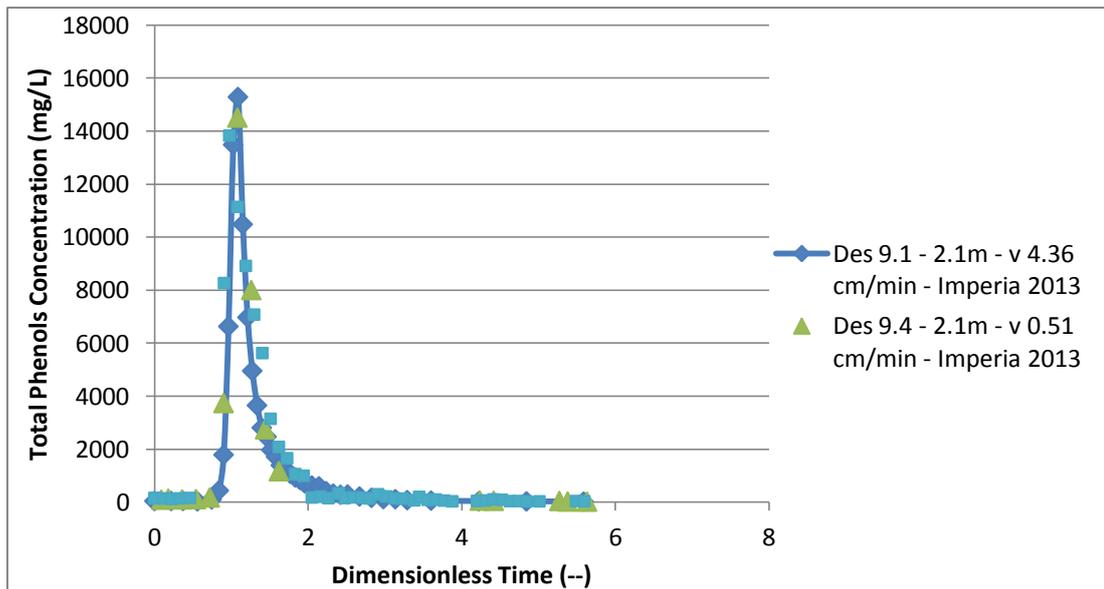


Figura 18. Tre curve di desorbimento a confronto a diverse velocità

Dalla figura 18 si può vedere che il desorbimento sia un processo altamente ripetibile, inoltre si può notare come il desorbimento avvenga a tempi adimensionali molto minori rispetto all'adsorbimento.

#### 4.6.1 Analisi sull'efficienza dell'adsorbimento e del desorbimento

Una volta ottenute le curve di adsorbimento e desorbimento, si può risalire alla massa di fenoli adsorbita e alla massa di fenoli desorbita, questo permette di valutare l'efficienza dei due processi.

La massa di fenoli adsorbiti viene calcolata per differenza tra la massa alimentata e l'integrale della curva di breakthrough, ovvero la massa di fenoli che non viene adsorbita. L'efficienza dell'adsorbimento viene calcolata dal rapporto fra la massa di PF adsorbiti e la massa di fenoli alimentata.

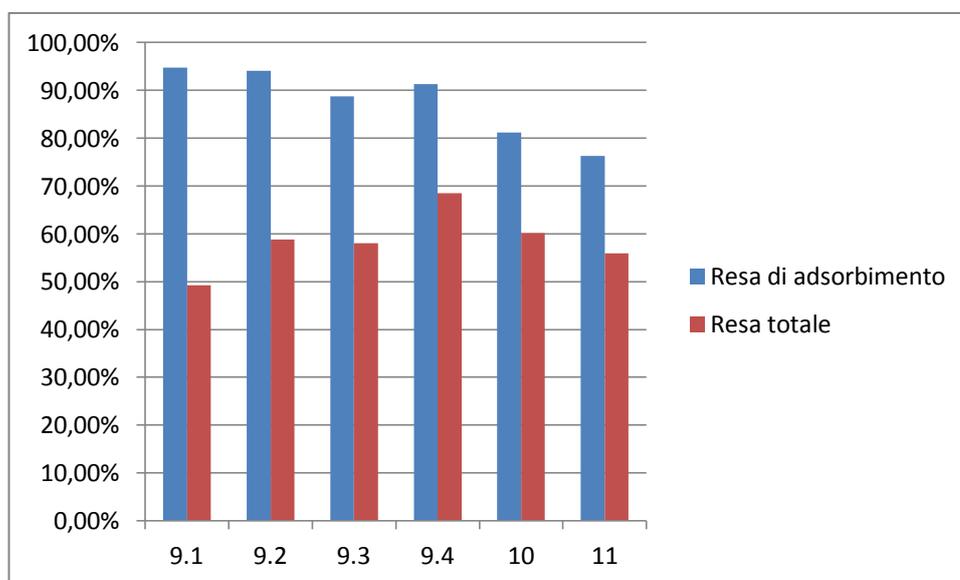
La massa di fenoli desorbiti è calcolata dall'integrale della curva di desorbimento, l'efficienza di desorbimento è calcolata dal rapporto fra massa di PF desorbiti su massa di PF adsorbiti, infine la resa del processo totale è data dal rapporto tra la massa di fenoli desorbiti e la massa alimentata.

In tabella 17 sono riportati i risultati ottenuti per l'efficienza dei processi:

**Tabella 17. Efficienza del processo di adsorbimento, desorbimento e totale**

Prova	efficienza adsorbimento	massa PF alimentata (g)	massa adsorbita (g)	massa desorbita (g)	efficienza di desorbimento	resa totale del processo
9.1	94,77%	7,27	6,89	3,58	51,96%	49,24%
9.2	94,05%	6,56	6,17	3,86	62,56%	58,84%
9.3	88,75%	8,89	7,89	5,16	65,40%	58,04%
9.4	91,25%	8,34	7,61	5,71	75,03%	68,47%
10	81,20%	12,18	9,89	7,33	74,12%	60,18%
11	76,28%	11,34	8,65	6,34	73,29%	55,91%

In figura 19 sono riportati sotto forma di istogramma la resa di adsorbimento e la resa totale del processo



**Figura 19. Resa di adsorbimento e resa totale delle sei prove effettuate**

Dal grafico si può subito notare come l'efficienza di adsorbimento tenda a diminuire all'aumentare dei cicli di lavoro, la prova 11 è fatta a velocità 2.22 cm/min e come già detto in precedenza in questo caso, l'efficienza di adsorbimento è più bassa a causa anche della velocità del processo.

Per quanto riguarda il desorbimento si ha un aumento dell'efficienza che aumenta dal 50% e al 70% durante le prove di ripetibilità, tuttavia si ha un basso recupero della massa adsorbita a causa del desorbimento che è uno step che deve essere ancora ottimizzato.

#### 4.7 Analisi sul COD

Le analisi del COD sono state fatte sui campioni di adsorbimento prelevati durante le prove 9.2, 9.3, 9.4, 10, 11, per osservare come la resina adsorbe selettivamente i fenoli rispetto ad altro COD.

In figura 20 è riportato un esempio di breakthrough del COD a confronto con quello dei fenoli nella prova 9.4.

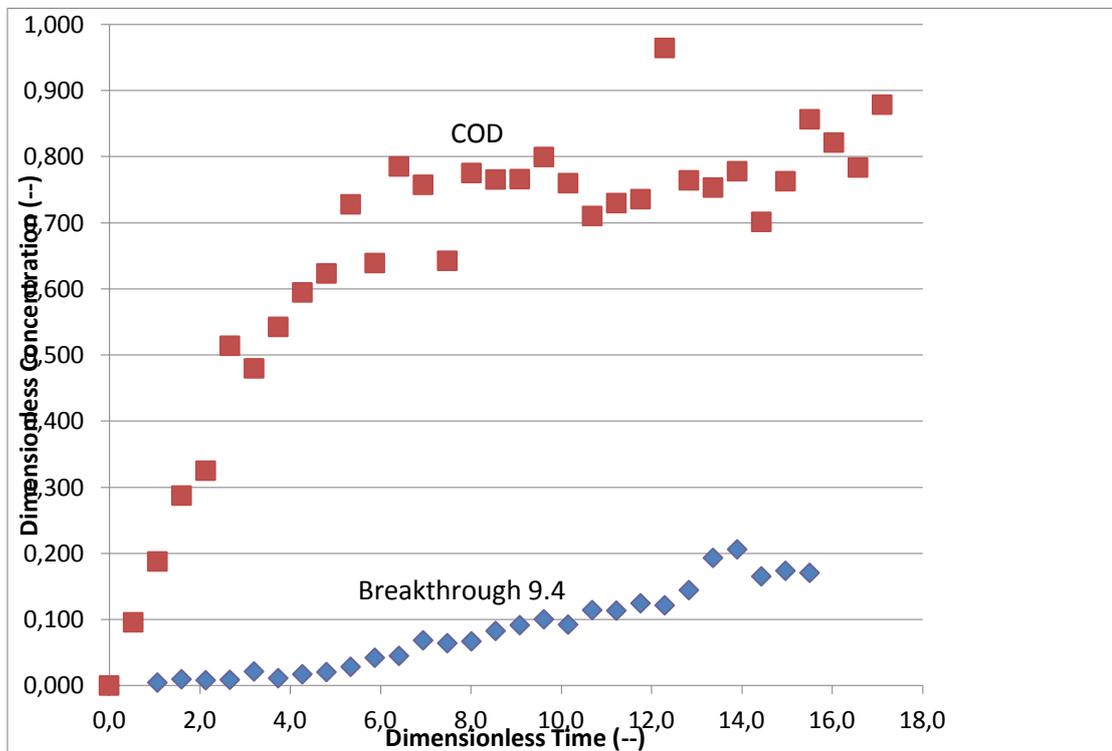


Figura 20. Breakthrough del COD e dei fenoli della prova 9.4

I breakthrough del COD ottenuti sono tutti molto simili, dai grafici ottenuti si può notare come il COD totale esca dalle colonne molto prima dei fenoli, questo indica che la resina è molto selettiva verso i fenoli e non verso le altre sostanze che compongono il COD.

La massa di COD adsorbito viene calcolata per differenza tra la massa alimentata e l'integrale della curva di breakthrough del COD, ovvero la massa di COD che non viene adsorbita. L'efficienza dell'adsorbimento del COD viene calcolata dal rapporto fra la massa di COD adsorbita e la massa di COD alimentata.

Il desorbimento del COD è stato analizzato solamente per la prova 9.3 e sono stati utilizzati gli stessi campioni presi durante la prova di desorbimento, l'efficienza del desorbimento è data dal rapporto tra massa desorbita di COD su massa adsorbita di COD.

In tabella 18 sono riportati i risultati ottenuti dalle analisi del COD.

**Tabella 18. Risultati delle analisi sul COD**

Prova	efficienza adsorbimento COD totale	massa COD alimentata (g)	massa COD adsorbita (g)	Massa COD desorbita (g)	efficienza di desorbimento del COD
9.2	34,79%	164,27	48,27		
9.3	36,25%	231,45	83,9	82	97,74%
9.4	34,79%	200,45	69,73		
10	26,14%	298,16	77,95		
11	20,81%	263,67	54,87		

Si può notare come nelle varie prove, l'adsorbimento del COD vari dal 30% nelle prove 9x al 20% nelle prove 10 e 11, tuttavia nella prova di desorbimento il COD viene totalmente rilasciato dalle colonne, questo è sì un vantaggio in quanto le colonne sono facilmente pulibili da COD non fenolico con lo step di desorbimento, ma anche uno svantaggio, ovvero questo COD sarà contenuto nel desorbito, e siccome il desorbito che si vuole ottenere sono i fenoli, saranno necessario ottimizzare un processo di purificazione da questi contaminanti per ottenere i fenoli puri e vendibili.

#### **4.8 Sviluppo del metodo HPLC fenoli singoli**

Nell'ultima fase del tirocinio è stato sviluppato un metodo per analizzare i fenoli singoli all'HPLC e non più i fenoli totali, in particolare per vedere se il recupero dei fenoli più importanti come tirosolo e irdossitirosolo è efficiente.

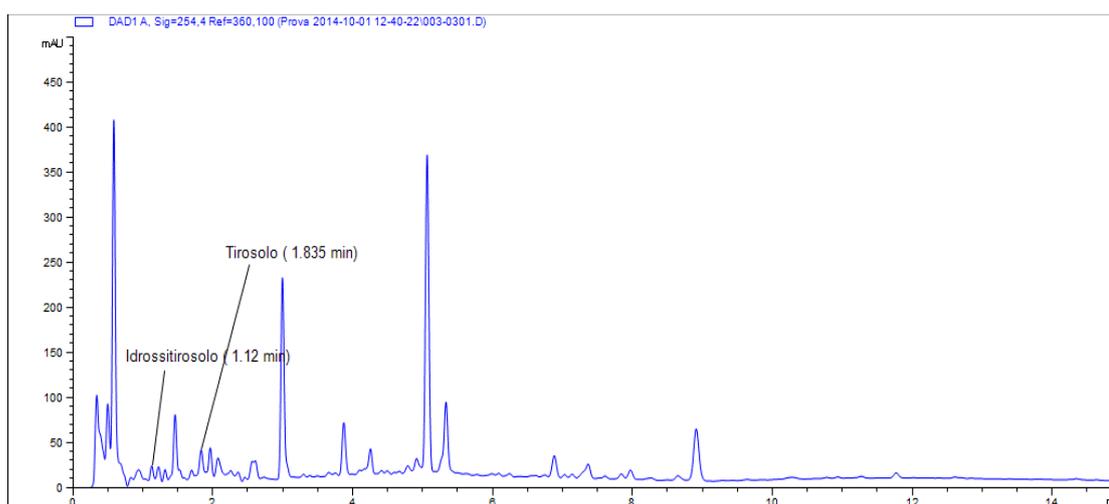
Lo sviluppo del metodo è stato ideato studiando l'articolo in letteratura<sup>[14]</sup> in particolare è stato utilizzato lo stesso gradiente (vedi paragrafo 3.5.2).

Prima di tutto sono state preparate le acque OMW (vedi paragrafo 3.3.2) per vedere se il metodo separa bene i picchi, poi sono stati preparati 13 standard ognuno contenente un polifenolo differente (vedi paragrafo 3.3.3), per identificare il tempo di ritenzione e vedere se il metodo scelto li separa bene, poi è stata preparata una miscela sintetica di questi 13 fenoli (vedi paragrafo 3.3.4) per ottenere lo spettro di assorbimento e fare una taratura a un punto per ogni PF, è stata fatta una taratura a un punto perché al momento il metodo serve per avere dei dati generali su assorbimento e desorbimento dei singoli PF, e infine sono state analizzate e quantificate le OMW.

Tutte le soluzioni preparate sono state iniettate nell'HPLC utilizzando il metodo per i fenoli singoli (vedi paragrafo 3.5.2), attraverso lo studio dei cromatogrammi ottenuti è stato messo a punto un primo metodo di quantificazione dei singoli picchi.

#### 4.8.1 Standard esterni e miscela sintetica del metodo HPLC fenoli singoli

Le prime soluzioni iniettate sono state quelle OMW per vedere se con il metodo scelto si ottenevano dei cromatogrammi con picchi ben separati, e come si può vedere in figura 21 il metodo separa bene i picchi:

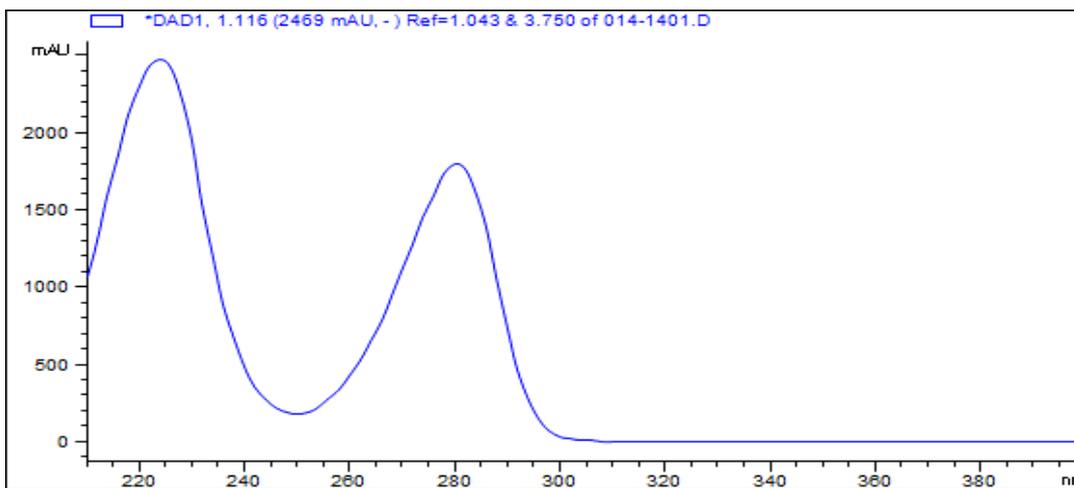


**Figura 21. Esempio di cromatogramma di imperia 2013 come si può notare i picchi si separano.**

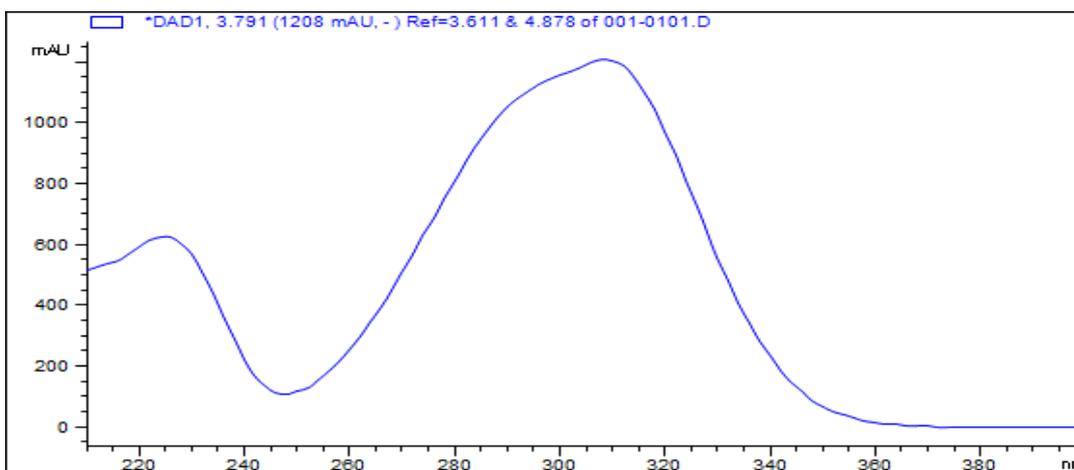
A questo punto tramite l'HPLC sono state fatte alcune run con gli standard esterni per vedere i tempi di ritenzione dei singoli fenoli, per poi identificarli nella successiva run con la miscela sintetica usata per la taratura a singolo punto e lo studio degli spettri di assorbimento usati per identificare i fenoli nella OMW.

Come già scritto nella descrizione del metodo i cromatogrammi sono stati fatti tutti a tre lunghezze d'onda, 254, 280, 310 questo perché i fenoli hanno massimi di assorbimento a diverse lunghezze d'onda.

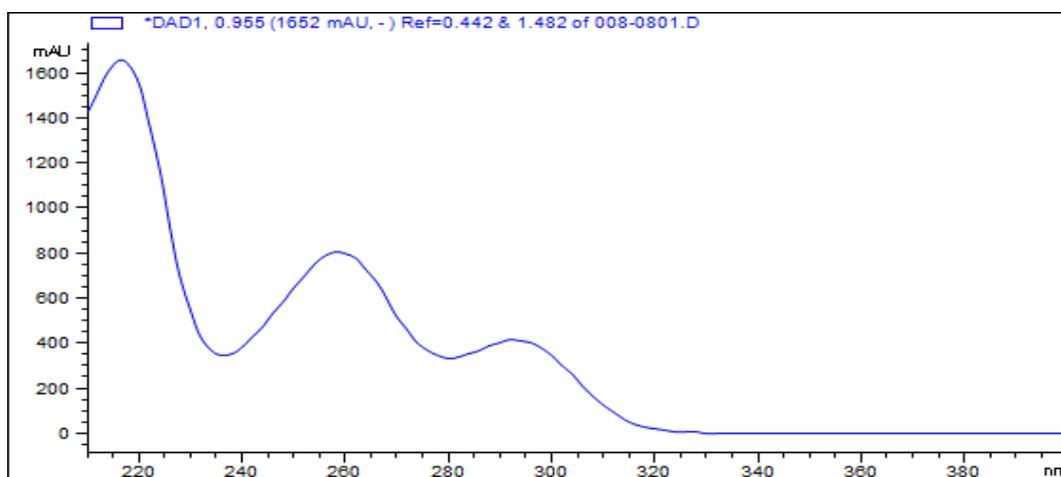
Di seguito sono riportati alcuni spettri di assorbimento ottenuti all' HPLC:



**Figura 22. Spettro di assorbimento dell'idrossitirosolo max di assorbimento vicino a 280 nm**

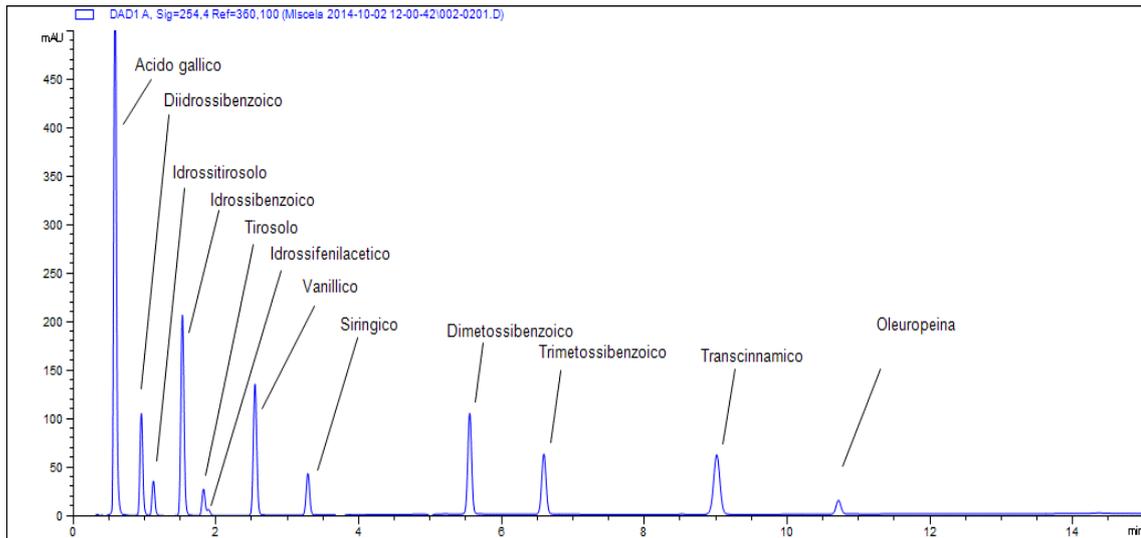


**Figura 23. Spettro di assorbimento dell'acido coumarico con un massimo di assorbimento a 310 nm**

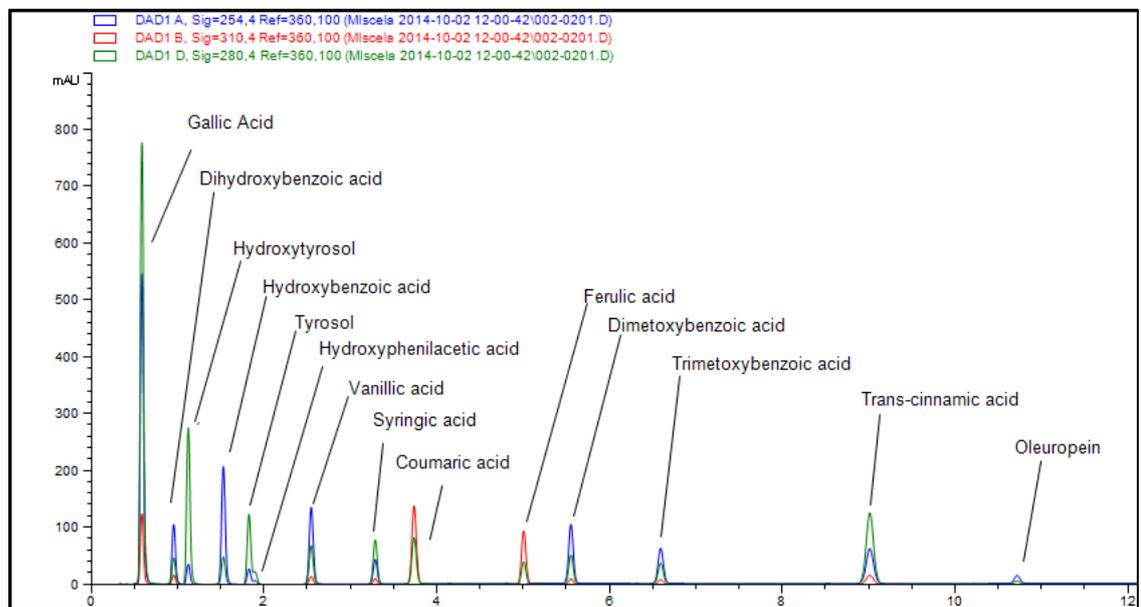


**Figura 24. Spettro di assorbimento dell'acido 3,4-diidrossibenzoico con un massimo di assorbimento vicino a 254 nm.**

Di seguito sono riportati i cromatogrammi ottenuti iniettando la miscela sintetica:



**Figura 25. Miscela sintetica dei 13 fenoli a lunghezza d'onda 254 nm**



**Figura 26. Miscela sintetica a più lunghezze d'onda: curva blu = 254 nm, curva rossa = 310 nm, curva verde = 280 nm.**

In figura 26 si può notare come gli unici picchi che non si separano bene sono il tiroso e dall'acido idrossifenilacetico, ma il tempo di ritenzione e lo spettro di assorbimento nelle OMW permettono di identificare quale sia il tiroso, inoltre il fenilacetico se anche è presente nelle acque di Imperia 2013 è sempre coperto dal rumore di fondo come si può vedere in Figura 27.

Una volta identificato il tempo di ritenzione e la lunghezza d'onda del massimo di assorbimento per ogni singolo PF si è proceduto alla taratura per singolo punto.

In tabella 19 sono riportati i massimi di assorbimento, il tempo di ritenzione e l'area dei picchi dei singoli fenoli in miscela sintetica, in rosso sono riportate le concentrazioni degli standard singoli.

	Massimo assorbimento (nm)	tempo di ritenzione in miscela sintetica (min)	area picchi a 280 nm	area picchi 254 nm	area picchi 310 nm	Concentrazione standard singolo (mg/L)
acido gallico	218-270	0,582	2122	1505,6	340,1	-
didrossibenzoico	258	0,948	133,6	308,6	49,6	103,9
idrossitirosolo	280	1,122	792	106,8	0	458,8
idrossibenzoico	254	1,528	153,2	644,5	0	104
tirosolo	276	1,822	320,8	85,7	0	597
idrossifenilacetico	276	1,895	16	18	0	119,9
vanilico	260-290	2,542	230	456,8	48,2	131,7
siringico	276	3,288	263,2	145,1	34,1	104
coumarico	310	3,735	308,1	0	516,9	100
ferullico	322	5,002	146,6	0	352,7	99,9
dimetossibenzoico	260-290	5,555	195,1	393,6	37,5	132
trimetossibenzoico	260	6,588	162,2	274,4	37,8	95,7
transcinnamico	277	9,015	782,7	386,1	104,3	124
oleuropeina	230-280	10,722	12,7	70,5	0	398,5

Tabella 19. I 14 fenoli con i risultati ottenuti e la concentrazione dei singoli standard

In tabella 20 sono riportate le concentrazioni dei singoli fenoli nella miscela sintetica, il fattore di risposta assoluto e relativo a 280 nm, calcolati rispettivamente come:

$$f.r. \text{ assoluto} = \frac{\text{concentrazione fenoli in miscela}}{\text{area picco fenoli}}$$

Usando questo fattore di risposta si può calcolare direttamente la concentrazione incognita di fenoli.

$$f.r. \text{ relativo} = \frac{\text{concentrazione fenoli} \times \text{area picco STD}}{\text{area picco fenoli} \times \text{concentrazione STD}}$$

Usando il fattore di risposta relativo si può calcolare la concentrazione equivalente del polifenolo in acido gallico ovvero lo standard interno.

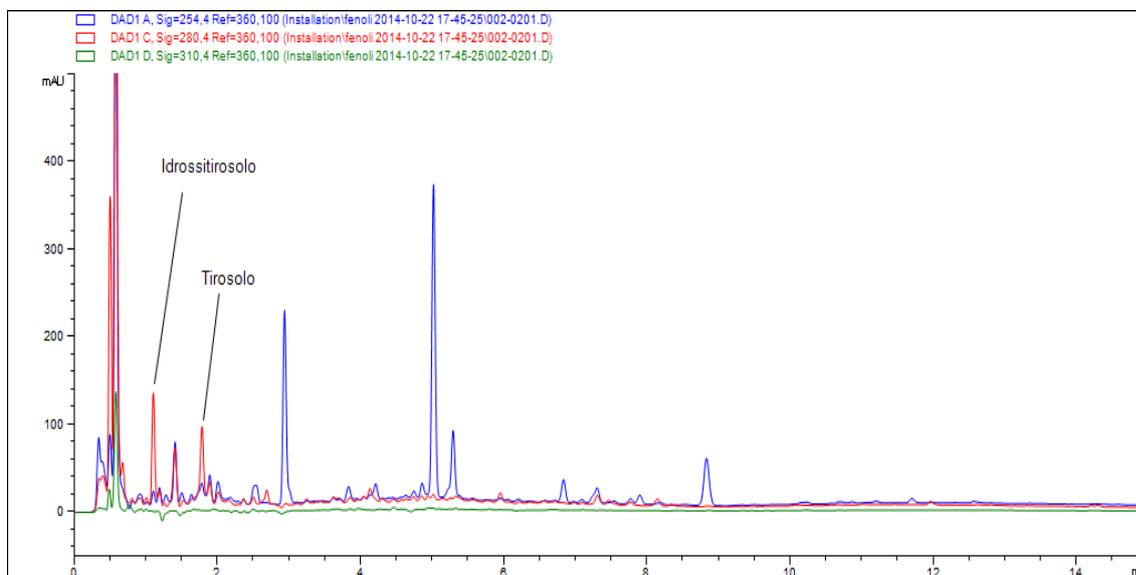
Tutti i fattori di risposta sono stati riportati in tabella a 280 nm, questo perché come si vedrà in seguito i fenoli riconoscibili nelle OMW hanno massimi di assorbimento a 280 nm.

	concentrazione pf nella miscela (mg/L)	fattore di risposta assoluto (mg/L)/(u.a.) 280nm	fattore di risposta relativo 280nm
acido gallico	50	-	-
didrossibenzoico	7,42	0,0555	2,3575
idrossitiroso	32,77	0,0414	1,7561
idrossibenzoico	7,43	0,0485	2,0579
tiroso	42,64	0,1329	5,6414
idrossifenilacetico	8,56	0,5353	22,7168
vanilico	9,41	0,0409	1,7358
siringico	7,43	0,0282	1,1978
coumarico	7,14	0,0232	0,9839
ferullico	7,14	0,0487	2,0658
dimetossibenzoico	9,43	0,0483	2,0510
trimetossibenzoico	6,84	0,0421	1,7886
transcinnamico	8,86	0,0113	0,4803
oleuropeina	28,46	2,2413	95,1200

**Tabella 20. Concentrazione di ogni polifenolo in miscela e taratura a un punto a 280 nm**

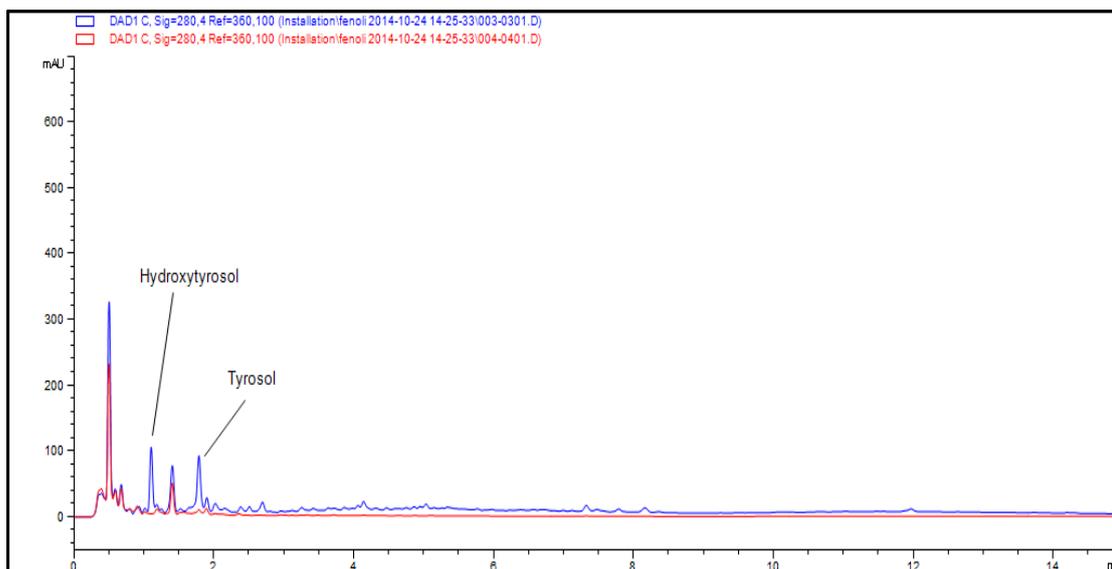
#### 4.8.2 OMW con metodo HPLC fenoli singoli

Il campione preparato di OMW è stato analizzato con il metodo per l'analisi HPLC dei fenoli singoli, è stata analizzata l'acqua di vegetazione prima di passare attraverso le colonne, l'acqua defenolizzata e il desorbito in etanolo.

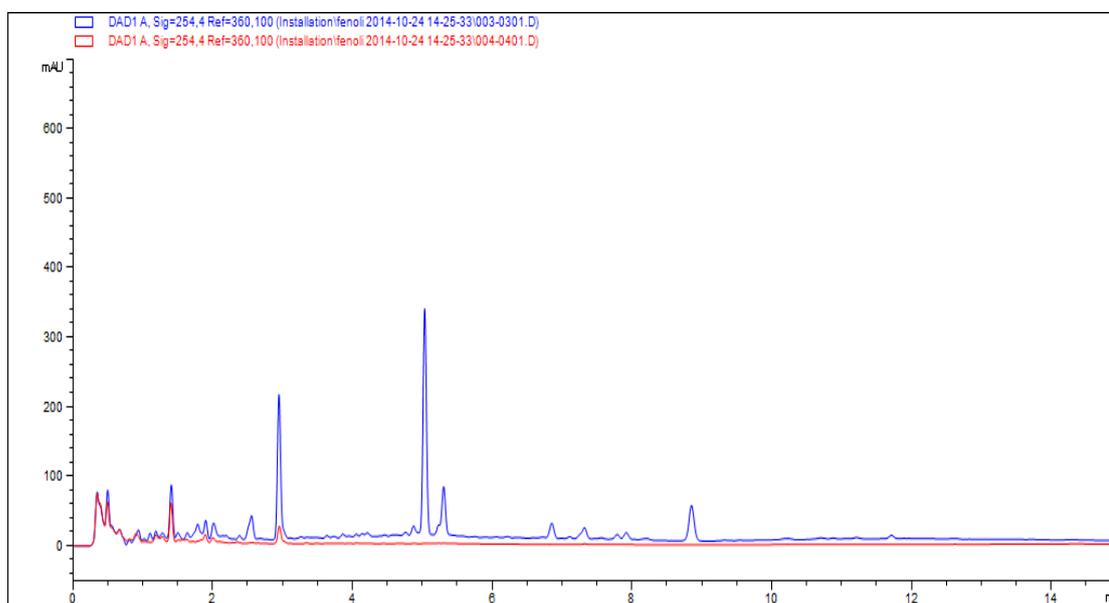


**Figura 27. acqua di imperia 2013 diluita 1:2 a più lunghezze d'onda: curva blu = 254 nm, curva rossa = 280 nm, curva verde = 310 nm.**

Il cromatogramma in figura 27 è quello dell'acqua di imperia 2013 (OMW) prima di passare attraverso le colonne, i composti identificati tra i 13 fenoli analizzati sono il tiroso e l'idrossitiroso, due dei composti più interessanti dal punto di vista economico, poiché entrambi hanno massimi di assorbimento a 280 nm la taratura a un punto è stata fatta a questa lunghezza d'onda per quantificare i due composti. Poiché a 310 nm non vi sono picchi ne acido coumarico ne acido ferullico sono presenti in queste acque e quindi tale lunghezza d'onda non verrà più riportata nei cromatogrammi seguenti.



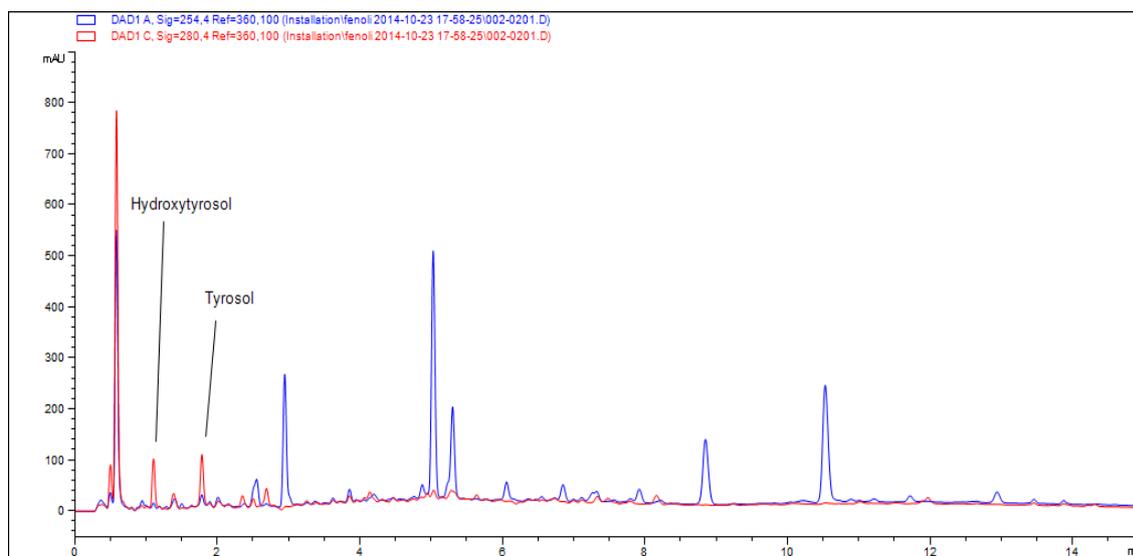
**Figura 28. Confronto acqua di imperia 2013 prima (in blu) e dopo (in rosso) l'adsorbimento a 280nm**



**Figura 29. Confronto acqua di imperia prima (in blu) e dopo (in rosso) l'adsorbimento a 254nm (senza std acido gallico)**

Nei cromatogrammi in figura 28 e 29, sono stati analizzati e confrontati un campione di acqua di imperia e un campione di acqua defenolizzata, qualitativamente si può vedere come l'adsorbimento sia efficace per tutti i componenti visibili a 254 e 280 nm, tranne per il composto non identificato a tempo di ritenzione 1.4 minuti.

Infine è stato analizzato un campione di etanolo desorbito, diluito 1 a 5, alle due lunghezze d'onda principali in figura 30.



**Figura 30. Etanolo desorbito diluito 1:5 a più lunghezza d'onda: curva blu = 254 nm, curva rossa = 280 nm.**

Infine misurando le aree dei picchi di tirosolo e idrossitirosolo nei cromatogrammi di acqua tal quale, acqua defenolizzata e desorbito si è ricavato la loro concentrazione, l'efficienza di adsorbimento e di desorbimento per il recupero di questi due composti di alto valore. Nella tabella 21 sono raccolti i valori misurati dal breakthrough 11, derivanti da campioni medi provenienti dalla tanica di imperia, dalla tanica dell'acqua defenolizzata, dalla tanica di desorbito. L'ultima colonna è il volume totale contenuto nelle taniche, raccolto durante ogni step del processo di adsorbimento e servirà per calcolare l'efficienza di adsorbimento e il recupero.

	diluizione	area idrossitirosolo	area tirosolo	Volume (L)
OMW Imperia	2	285	346,1	21,6
OMW Defenolizzata	2	34,6	29,8	21,6
Desorbito	5	269,2	328,4	4,4

**Tabella 21. Area picchi dei rispettivi cromatogrammi e volumi raccolti durante la prova 11.**

	mg/L	
	Idrossitirosolo	Tirosolo
OMW Imperia	23,59	92,24
OMW Defenolizzata	2,86	7,94
Desorbite	55,70	218,82
Resa di adsorbimento%	88%	91%
Recovery %	54,48%	52,61%

**Tabella 22. Risultati ottenuti per tirosolo e idrossitirosolo**

Le formule utilizzate per i calcoli in tabella 22 sono riportate qui di seguito:

per la concentrazione delle OMW Imperia, OMW defenolizzata e desorbite la formula è sempre la stessa:

$$\text{Concentrazione} = \text{Area picco} \times \text{diluizione} \times \text{fattore di risposta assoluto}$$

La resa di adsorbimento rappresenta l'efficienza di abbattimento dei due PF in colonna:

$$\text{Resa di adsorbimento \%} = \frac{\text{Conc. OMW} \times \text{Volume OMW} - \text{Conc. def.} \times \text{Volume def.}}{\text{Conc. OMW} \times \text{Volume OMW}} \times 100$$

Il recovery rappresenta quanto si recupera durante la fase di desorbimento dei due PF:

$$\text{Recovery \%} = \frac{\text{Conc. desorbite} \times \text{Volume desorbite}}{\text{Conc. OMW} \times \text{Volume OMW} - \text{Conc. def.} \times \text{Volume def.}} \times 100$$

Dai dati ottenuti si nota come la resa di adsorbimento sia in accordo con i dati ottenuti a paragrafo 4.6.1 con le analisi sui fenoli totali, mentre il recovery presenta un valore più basso di circa un 20%, prova del fatto che è necessario un'ulteriore ottimizzazione e studio sul processo di desorbimento.



## **CAPITOLO 5**

### **CONCLUSIONI**

Il lavoro svolto durante quest'anno ha portato ai seguenti risultati:

- Il metodo di impaccamento utilizzato ha portato a una elevata stabilità dell'impaccamento della resina, e di conseguenza a un miglioramento dell'efficienza di adsorbimento/desorbimento durante più cicli di lavoro.
- L'insieme di procedure di pretrattamento delle OMW e il sistema di filtrazione creato hanno permesso alle colonne di non intasarsi a causa dei solidi e di funzionare per più cicli di lavoro senza aumentare le perdite di carico.
- È stata sviluppata una procedura di adsorbimento/desorbimento in continuo, la separazione dei fenoli resta stabile durante più cicli di lavoro
- Sebbene si è visto che la resina è selettiva verso i fenoli, l'adsorbimento del 90% dei fenoli porta anche ad un adsorbimento del 30% del COD non fenolico che dovrà essere separato in successive fasi di purificazione.

Sviluppi futuri potranno essere:

- Ottimizzazione del processo di desorbimento
- Spettrometria HPLC massa per identificare i picchi non identificati con il metodo HPLC fenoli singoli
- Studio di processi per separare i fenoli dal COD non fenolico.
- Valutazione dei costi di investimento e operativi, per identificare le condizioni economiche ottimali per un processo industriale



## BIBLIOGRAFIA

- [1] <http://www.internationaloliveoil.org/>
- [2] V. Alloggio, F. Caponio, T. De Leonardis, Influenza delle tecniche di preparazione della pasta di olive sulla qualità dell'olio vol. 73, n° 8, 1996, pp. 355-360.
- [3] <http://www.my-personaltrainer.it/nutrizione/estrazione-olio-oliva.html#estrazionepressione>
- [4] F. Ciancabilla, A. Botoli, S. Goldoni, Il recupero e la gestione delle acque di vegetazione dei frantoi oleari DICMA – Facoltà Ingegneria – Università di Bologna
- [5] Saviozzi A., Levi-Minzi R., Riffaldi R. Lupetti A., 1991. Effetto dello spandimento di acque di vegetazione sul terreno agrario. *Agrochimica*, 35:135-146.
- [6] [http://www.agricoltura.regione.campania.it/reflui\\_oleari/reflui\\_oleari.html](http://www.agricoltura.regione.campania.it/reflui_oleari/reflui_oleari.html)
- [7] Cegarra, J., Paredes, C., Roig, A., Bernal, M. P., and Garcia, D., 1996, Use of olive Mill wastewater Compost for crop production, *Int. Biodeterioration & Biodegradation* 38:193.
- [8] A. Michalak, Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. of Environ. Stud.* Vol. 15, No. 4 (2006), 523-530
- [9] Bianco, A., Buiarelli, F., Cartoni, G., Coccioli, F., Jasionowska, R., & Margherita, P. (2003). Analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry of biophenolic compounds in olives and vegetation waters, part I. *Journal of Separation Science* 26(5) 409-416
- [10] 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;
- [11] 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;
- [12] Coulson & Richardson. “Chemical Reaction Engineering, Vol.6”. 1998; 17: 1009-1015.
- [13] C.W. Fetter. “Contaminant Hydrogeology”, Seconda edizione, 3:120-167.
- [14] Banu Bayram, Beraat Ozcelik, Gerhard Schultheiss, Jan Frank, Gerald Rimbach.

“A validated method for the determination of selected phenolics in olive oil using high-performance liquid chromatography with coulometric electrochemical detection and a fused-core column”, *Food Chemistry* 138 (2013) 1663–1669.

[15] GE Healthcare-Column Efficiency Testing-Application note 28-9372-07 AA, trovato nella bibliografia del DICAM.