

Scuola di dottorato in Scienze e Tecnologie

Dottorato in Scienze Ambientali

Progetto di ricerca

**Potenzialità del ferro zerovalente nanoscopico per il risanamento di siti  
contaminati**

**Relatore:**

Ch.mo Prof. Emanuele Argese

Dottoranda: Federica Becherini

**Ciclo XXVI**

<b>1. Premessa</b> .....	<b>4</b>
<b>Scopo della ricerca</b> .....	<b>7</b>
<b>2 . Introduzione</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 I nanomateriali</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 Tossicità delle nanoparticelle</b> .....	<b>13</b>
<b>2.3 I Solventi Clorurati</b> .....	<b>15</b>
2.3.1 Definizione .....	15
2.3.2 Caratteristiche.....	15
<b>2.4 Caratteristiche tossicologiche e limiti di legge per gli idrocarburi clorurati</b> .....	<b>17</b>
<b>2.5 Diffusione del contaminante nelle matrici ambientali</b> .....	<b>21</b>
<b>2.6 Dinamica dei DNAPL nella zona non satura</b> .....	<b>23</b>
<b>2.7 Dinamica dei DNAPL nella zona satura</b> .....	<b>23</b>
<b>2.8 Aspetti Normativi relativi all'applicazione della tecnologia nZVI in Italia, Europa e America.</b>	<b>27</b>
2.8.1 Tutela e gestione delle risorse idriche .....	27
2.8.2 Regolamentazione sulla produzione e l'utilizzo di nanomateriali.....	30
<b>2.9 Criticità legate all'impiego di ferro zerovalente nanoscopico</b> .....	<b>33</b>
2.9.1 Possibili soluzioni per evitare l'aggregazione del Ferro nanoscopico .....	35
<b>3. Materiali e metodi</b> .....	<b>36</b>
<b>3.1 Sintesi di Ferro Zerovalente Nanoscopico</b> .....	<b>37</b>
3.1.1 Reazione di ferro cloruro con sodio boroidruro in acqua. ....	37
3.1.2 Reazione di ferro solfato con sodioboroidruro. ....	38
<b>3.2 Altri metodi preparativi</b> .....	<b>40</b>
3.2.1. Preparazione delle particelle bimetalliche di nZVI con diversi metalli in % variabili .....	40
3.2.2 Sintesi di Ni/Fe 3% molare da FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O e NiSO <sub>4</sub> 6H <sub>2</sub> O .....	40
3.2.3 Sintesi di Co/Fe 1% molare da FeCl <sub>3</sub> e CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O .....	40
3.2.4 Utilizzo del Palladio come catalizzatore .....	42
<b>3.3 Stabilizzazione del Ferro zerovalente nanoscopico sintetizzato</b> .....	<b>43</b>
3.3.1 Stabilizzazione mediante emulsione <i>Tween-Span</i> .....	43
3.3.2 Stabilizzazione mediante emulsione <i>Nanocream Sinerga</i> .....	43

3.3.3 Stabilizzazione mediante liposomi .....	44
3.3.4 Stabilizzazione mediante polimeri <i>green</i> .....	46
3.3.5 Stabilizzazione con acido glutammico e con poliglutamato. ....	48
<b>3.4 Strumenti utilizzati per le diverse analisi .....</b>	<b>50</b>
3.4.1 Analisi dimensionali .....	50
3.4.2 Analisi morfologiche.....	50
<b>3.5 Cinetiche di degradazione del TCE mediante l'uso di diverse forme stabilizzate di Ferro zerovalente nanoscopico.....</b>	<b>51</b>
<b>4. Risultati e discussione .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1 Sintesi di ferro zerovalente nanoscopico.....</b>	<b>53</b>
4.1.1 Reazione di Ferro cloruro con sodioboroidruro in acqua .....	53
4.1.2 Formulazioni di particelle nZVI bimetalliche .....	56
4.1.3 Utilizzo del Palladio come catalizzatore .....	57
4.1.4 Stabilizzazione mediante guscio ( <i>shell</i> ) di rivestimento.....	58
4.1.5 Stabilizzazione mediante emulsione <i>Tween-Span</i> .....	59
4.1.6 Stabilizzazione mediante polimeri <i>green- "Gomma Guar"</i> .....	61
4.1.7 Stabilizzazione mediante liposomi .....	65
4.1.8 Stabilizzazione con acido L-glutammico e poliglutamato .....	70
<b>4.2 Cinetiche di degradazione di TCE e PCE mediante utilizzo di nZVI.....</b>	<b>73</b>
4.2.1 Prove esplorative di reattività delle formulazioni di nZVI .....	73
4.2.2 Prove di reattività delle formulazioni di nZVI-realizzate con il metodo "bulk" .....	79
4.2.3 Prove cinetiche esplorative utilizzando il metodo "batch" .....	80
4.2.4 Cinetica relativa a un sottoprodotto intermedio della degradazione del TCE, il DCE .....	87
4.2.5 Cinetica di degradazione realizzata utilizzando la formulazione di nZVI con Fe/Pd .....	89
4.2.6 Cinetica con acido poliglutamato .....	94
4.2.7 Cinetica con acido L-glutammico .....	97
<b>5. Conclusioni.....</b>	<b>100</b>
<b>6. Bibliografia.....</b>	<b>104</b>

## 1. Premessa

Nel corso degli ultimi anni, insieme con le conoscenze sull'analisi di rischio e sugli impatti derivanti dagli eventi di contaminazione, il numero di siti contaminati è cresciuto notevolmente, passando da uno scenario riferito a pochi e gravi incidenti a una realtà talmente complessa da rappresentare un problema infrastrutturale e produttivo a livello nazionale e internazionale. I siti contaminati sono il risultato di attività antropiche diffuse e prolungate nel tempo che causano gravi danni alle risorse naturali (acqua, suolo e aria). In particolare, le acque sotterranee, risorsa fondamentale per l'uomo, sono ampiamente sfruttate sia per ottenere acque potabili sia a fini agricoli e industriali. Il loro inquinamento è molto pericoloso perché, una volta contaminati, gli acquiferi hanno uno scarso potere depurativo con tempi di recupero della qualità originaria che, a seconda della persistenza e/o recalcitranza, possono diventare talmente lunghi da rendere insostenibile qualsiasi intervento di risanamento.

Gli inquinanti maggiormente presenti nelle falde acquifere del Veneto sono erbicidi, solventi clorurati, nitrati e metalli pesanti. La legislazione in vigore prevede l'adozione di misure per prevenire e controllare l'inquinamento delle acque sotterranee e il raggiungimento di specifici obiettivi di qualità ambientale.

Il numero di siti contaminati in Italia e in Europa è ormai enorme (rispettivamente oltre 10.000 e 1.000.000) ed è in continua crescita. La problematica è inoltre, drammaticamente presente anche nei Paesi in via di sviluppo (Cina, India, Vietnam, Taiwan), dove lo sfruttamento sconsiderato delle risorse naturali, l'industrializzazione in rapida crescita e l'aumento demografico hanno portato a inquinamenti importanti che stanno spingendo i Governi a cercare soluzioni rapide e a basso costo.

Questa problematica coinvolge necessariamente anche i Paesi industrializzati non soltanto perché la protezione del patrimonio naturale è uno dei principali obiettivi del mondo moderno, ma anche perché gli intensi rapporti commerciali con queste realtà produttive emergenti determinano necessariamente delle ricadute sull'economia e sulla salute dei consumatori (si pensi alle importazioni di prodotti agricoli dalla Cina da parte del nord Europa). Di conseguenza, in molti Paesi si è manifestata la necessità di promuovere nuovi studi e ricerche finalizzate allo sviluppo di tecnologie ecocompatibili in grado di ridurre i consumi di energia e la produzione di sostanze inquinanti nei processi produttivi, ma anche alla creazione di tecniche innovative di bonifica in grado di risanare i siti contaminati con costi e tempi sostenibili e possibilmente con il recupero funzionale della risorsa naturale compromessa. Il raggiungimento di tali obiettivi, potrà determinare nel prossimo futuro importanti ricadute in termini economici, sociali e ambientali.

In questo contesto si pone il presente progetto di ricerca, che riguarda lo sviluppo della tecnologia che utilizza il ferro zerovalente (ZVI) per il trattamento degli acquiferi contaminati da composti organici più o meno recalcitranti (composti organici polialogenati) e composti inorganici (ad esempio  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ , Cr (VI),  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ).

È riconosciuto internazionalmente che la nanoremediation (NR), tecnologia utilizzata per la bonifica di siti contaminati, possiede la grande potenzialità di ridurre, in modo considerevole, sia i costi che i tempi di lavoro, eliminando la necessità di smaltire suoli, sedimenti e acque sotterranee con il vantaggio di operare “in situ” ((Karn, Kuiken, & Otto, 2009). Fino ad ora sono stati condotti numerosi studi, in particolare su progetti pilota, riguardanti la bonifica di acque sotterranee, estrapolando le condizioni ottimali per il tetracloroetilene (PCE) come unico contaminante.

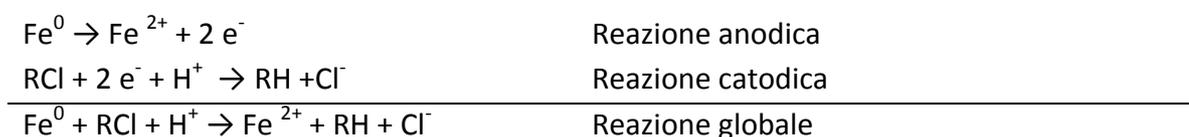
Nonostante gli ottimi risultati ottenuti, sono tuttavia necessari ulteriori approfondimenti che consentano di prevenire ogni impatto ambientale negativo derivante da un possibile uso indiscriminato di tale pratica.

L’orientamento generale è comunque quello di utilizzare l’approccio “in situ” ed è proprio in questo contesto che si inserisce la ricerca sui metodi di nanoremediation. La sperimentazione, iniziata a partire dal 2000, riguarda l’applicazione di nano materiali reattivi in grado di trasformare e rendere atossici numerosi inquinanti attraverso processi redox e catalitici (Li, Elliott, & Zhang, 2006).

Le caratteristiche ottimali dei nanomateriali studiati riguardano principalmente la dimensione e il particolare tipo di copertura superficiale. Per le eventuali applicazioni sono stati studiati diversi sistemi contenenti zeoliti, ossidi metallici, nanotubi di carbonio, enzimi, nanoparticelle bimetalliche (BPN), etc..

Tra tutti questi sistemi, quello che al momento sembra più idoneo è il ferro zerovalente nanometrico (nZVI), che può essere utilizzato per la remediation di varie sostanze inquinanti. L’uso di particelle di ferro zerovalente nanoscopico è una tecnologia di bonifica innovativa che si sta dimostrando promettente: le nanoparticelle infatti, proprio per le loro dimensioni estremamente piccole (1-100 nm), hanno un’area superficiale molto grande (33,5 m<sup>2</sup>/g) e quindi sono altamente reattive ed indicate per il trattamento di solventi clorurati, PCB, etc.

Il nZVI degrada i solventi organici clorurati secondo una cinetica dipendente dalla superficie specifica del materiale. Il meccanismo di reazione può essere ricondotto a una reazione di ossidoriduzione che può essere considerata come la somma di una reazione catodica e di una anodica sviluppatasi sulla superficie del metallo; indicando con R-Cl il generico composto organoclorurato, lo schema reattivo è riassumibile come:



In definitiva, si sviluppa un fenomeno di **corrosione elettrochimica**. Infatti, in corrispondenza di una zona della superficie del metallo (zona anodica) si ha il rilascio di elettroni e la formazione di un catione solubile (Fe<sup>2+</sup>). Gli elettroni vengono poi prelevati in un’altra zona della superficie del metallo (zona catodica) dalle specie ossidate presenti in soluzione (es RCl, CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) che in questo modo si riducono. In pratica, i contaminanti quali tricloroetilene, tetracloroetilene etc. fungono da agenti ossidanti (accettori di elettroni) e si riducono dealogenandosi, rilasciando in tal modo il cloruro in soluzione.

Le reazioni indotte dall'iniezione di ferro zerovalente nanoscopico (nZVI) sono identiche a quelle che si originano con le tradizionali barriere permeabili reattive addizionate da ferro zerovalente microscopico: il Ferro funge da donatore di elettroni nei confronti dei contaminanti polialogenati come i tricloroetilene (TCE) che vengono pertanto ridotti ad etano: tuttavia ricerche condotte sembrano evidenziare una maggiore reattività ed efficacia di trasformazione di un'ampia varietà di contaminanti grazie all'incremento delle superficie di contatto rispetto alle tradizionali barriere. (Pupeza, Cernik, & Greco, 2005).

Il ferro zerovalente viene iniettato direttamente in falda tramite pozzi: le particelle così iniettate si muovono entro l'acquifero potendo raggiungere anche zone lontane dal punto di iniezione.

Alcune criticità riguardano principalmente il tempo di vita del nZVI e la sua mobilità limitata, tali caratteristiche considerate alla luce dell'alta superficie specifica e della elevata reattività fanno comprendere come mai vi sia la necessità di reiniettare il metallo, cosa che incide sui costi complessivi. Generalmente tale materiale tende ad agglomerarsi e ad aderire sulla superficie del suolo con il risultato di una limitata dispersione. Se la superficie delle particelle di nZVI non viene modificata tramite coating o per mezzo di trattamenti specifici o funzionalizzazione non si ottengono nei suoli dispersioni maggiori di pochi metri: si ipotizza che le particelle singole da 100-150 nm abbiano la mobilità più elevata (Zhang, Bacik, Roberts, & Zhao, 2013), mentre altri studi hanno evidenziato che sono ottimali le particelle singole da 20-50 nm. E' comunque necessario raggiungere un compromesso tra mobilità, stabilità e reattività.

Dopo le reazioni, il ferro forma un precipitato che si deposita alla base dell'acquifero mescolandosi con il suolo già presente. Complessivamente, la qualità del sedimento che ne risulta non differisce di molto da quella riscontrabile normalmente in natura e generalmente, anche se ha scala nanometrica, la sua tossicità non desta particolari preoccupazioni: se però tali particelle vengono modificate, come accade ad esempio nel caso del coating, questo può cambiarne le proprietà e presentare un pericolo che deve essere valutato.

## Scopo della ricerca

La presente tesi di dottorato si inserisce nell'ambito di un ampio progetto multidisciplinare, coordinato dal prof. Emanuele Argese, responsabile del laboratorio di ecologia applicata e biotecnologie ambientali del Dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi dell'Università Ca' Foscari di Venezia, supportato, nell'anno 2011-2012, da due assegni di ricerca FSE finanziati dalla regione Veneto, che hanno visto come destinatari il dr Davide de March e la d.ssa Elisabetta Sartorato, e come partners aziendali le aziende S.T.A. srl di Marghera e il Distretto Veneto delle Nanotecnologie (Nanotech).

La ricerca è stata condotta in stretta collaborazione con il Dott. Paolo Blasi del Dipartimento di chimica e tecnologia del farmaco dell'Università degli Studi di Perugia per quanto riguarda lo studio al SEM, TEM e PCS e con il Dott. Alberto Sturaro, Dott. Alvise Vianello e Dott. Rocco Rella dell'Istituto per la Dinamica dei processi Ambientali del CNR (IDPA-CNR)-Unità distaccata di Padova per quanto riguarda le analisi al GC/MS, , Dott. Daniele Cassin, Dott. Samuele Salvel CNR-ISMAR Venezia per quanto riguarda le analisi al GC/ECD.

Lo scopo della ricerca presentata è quello di implementare l'applicazione tecnologica di ferro zerovalente nanoscopico e delle sue diverse formulazioni, al fine di migliorarne le prestazioni e le cinetiche di reazione nella degradazione di sostanze recalcitranti in acqua di falda.

Il nostro studio si è concentrato su due contaminanti generalmente molto presenti nelle acque di falda, il Tetracloroetilene (PCE) e, in particolare, il Tricloroetilene (TCE) che è un solvente organico clorurato ampiamente utilizzato e al tempo stesso uno dei più comuni contaminanti nelle acque sotterranee. Il TCE è prodotto in tutto il mondo in elevate quantità a causa del suo esteso uso nell'industria chimica. Perdite accidentali dai depositi di stoccaggio e improprie pratiche di smaltimento dei rifiuti hanno portato nel tempo a contaminazioni del terreno, delle acque di falda e anche delle acque superficiali. Ad oggi siti contaminati da TCE si trovano in tutto il mondo. Considerando l'elevato rischio tossico sia per l'uomo che per l'ambiente, il TCE è stato classificato come uno degli inquinanti più importanti sia dalla US Environmental Protection Agency che dall'Unione Europea (Adventus Europe Ghmb et al., 2010). Poiché si sospetta che il TCE sia una sostanza cancerogena, il problema della contaminazione da TCE diventa primariamente un problema connesso con la salute della popolazione. Le tradizionali tecnologie di bonifica delle falde contaminate ("pump-and-treat") prevedono generalmente l'estrazione e il successivo trattamento delle acque in impianti posti sul sito (on-site). Tuttavia, l'applicazione di queste tecnologie ha mostrato alcuni limiti dovuti ai seguenti motivi:

- viene trattata solo la componente diffusa della contaminazione;
- si può verificare persistenza di concentrazioni di inquinante residue anche dopo il trattamento ("tailing") e il rimbalzo ("rebound") dei livelli di contaminazione dopo la sospensione del pompaggio;
- non è possibile individuare un chiaro nesso causa-effetto tra l'intervento di bonifica e la degradazione/diluizione naturale del prodotto;

- sono necessari tempi lunghi, elevati costi di movimentazione dell'acqua e produzione di rifiuti pericolosi da smaltire, con notevole aumento dei costi;
- generalmente è una tecnologia impiegata per la bonifica di "hot spot" e non per la contaminazione diffusa del plume o l'origine della contaminazione.

motivi Per questi motivi, attualmente alcune Amministrazioni Pubbliche italiane, per esempio, la Provincia di Firenze e il Dipartimento Arpat di Firenze, esprimono giudizi negativi in merito ai progetti di bonifica formulati con tale tecnica.

Una valida alternativa è la decontaminazione in situ mediante barriere permeabili reattive (BPR) di tipo chimico. Punti di forza di questa tecnologia sono: i) elevate prestazioni; ii) sfruttamento del movimento naturale della falda; iii) nessun trasferimento di contaminazione ad altre matrici; iv) assenza di materiale di scarto; v) possibilità di trattare i contaminanti in associazione con altre tecnologie. Tuttavia, questa tecnologia risulta poco utilizzata in Italia a causa di alcuni limiti applicativi: i) elevato costo; ii) non applicabile a profondità maggiori di trenta metri; iii) impossibilità di trattare direttamente le sorgenti di contaminazione; iv) presenza di composti recalcitranti al trattamento in situ; v) necessità di un elevato spessore di barriera con notevole aumento dei costi. Altre tecniche, come il biorisanamento, impiegano invece la capacità degradativa dei microrganismi nei confronti di contaminanti specifici. Gli aspetti più problematici di queste tecnologie sono le cinetiche lente di degradazione, il biofouling (fenomeno dovuto accumulo e deposito di organismi viventi, animali e vegetali sia unicellulari che pluricellulari su superfici o setti che ne compromette la funzionalità), la presenza di condizioni ambientali sfavorevoli o accettori di elettroni alternativi che competono con il substrato target.

Ecco perché, allo stato attuale, il ricorso a tecnologie basate sull'impiego del ferro zerovalente di dimensioni nanometriche nell'ambito della bonifica di falde inquinate potrebbe essere una delle tecniche più interessanti .

L'uso delle nanoparticelle di ferro zerovalente è una tecnologia di bonifica innovativa estremamente promettente; numerosi studi, infatti, ne mettono in evidenza le potenzialità nei confronti della degradazione di una vasta gamma di composti organici e inorganici, anche recalcitranti. Il ferro nanoscopico (nZVI, da 1 a 100 nm di diametro) ha una superficie specifica altissima ed una reattività fino a 1000 volte superiore a quella del ferro millimetrico. I minori tempi richiesti dal trattamento riducono i costi di una eventuale bonifica con nanoparticelle di ferro, e c'è una minore esposizione per i lavoratori, per la flora e la fauna. I prodotti del processo di degradazione non sono tossici. Un ulteriore beneficio dell'utilizzo di nZVI per il trattamento di idrocarburi alogenati è che la generazione di condizioni fortemente riducenti e di H<sub>2</sub> favorisce la crescita microbica anaerobica e aumenta la degradazione biologica naturale degli idrocarburi polialogenati. Essendo un trattamento in situ, la richiesta di apparecchiature e strutture fuori terra è minore e questo riduce i costi.

Due sono i fattori principali che contribuiscono alla capacità ed estrema versatilità delle nanoparticelle di ferro nella bonifica di siti contaminati: prima di tutto le loro piccole dimensioni (1-100 nm dove una cellula batterica ha un diametro intorno a 1000 nm); inoltre possono essere trasportate efficacemente dal flusso dell'acquifero: per questo motivo possono essere iniettate sotto forma di "slurry" e, o sotto pressione o per semplice gravità,

raggiungere il plume di contaminazione dove possono esplicare il loro effetto. Le nanoparticelle possono anche rimanere in sospensione per lunghi periodi di tempo determinando un'azione "in situ" (Zhang et al., 2013).

## 2 . Introduzione

Il ferro è il 4° elemento in ordine di abbondanza presente sulla Terra e le reazioni chimiche che coinvolgono il ferro giocano un ruolo predominante nel ciclo ambientale di moltissimi inquinanti (Cundy, Hopkinson, & Whitby, 2008). Il ferro esiste nell'ambiente in due stati di valenza predominanti, lo ione ferroso Fe(II), relativamente solubile e lo ione ferrico Fe (III), insolubile, che rappresenta la forma stabile in ambienti ricchi di ossigeno e in condizioni di pH dal neutro all'alcalino. La forma elementare o nativa del ferro Fe(0) è raramente presente a causa della sua elevata reattività (Rutley, 1970).

I diversi stati di ossidazione del ferro, la sua abilità a legarsi con ossigeno, azoto e atomi di zolfo, ne fanno uno dei più importanti elementi traccia nei sistemi biologici, inoltre, dal punto di vista ambientale e grazie alle sue proprietà ossido-riduttive, questo elemento gioca un ruolo chiave nella mobilità dei contaminanti, sia per quanto riguarda il loro assorbimento nella loro decomposizione..

L'uso di tecnologie di bonifica di terre e acque contaminate basate sul ferro è un campo in rapida evoluzione ed espansione con un range di tecnologie ad oggi disponibile che utilizza il ferro o come riducente o per le sue proprietà assorbenti (Cundy et al., 2008).

La capacità del ferro, sia in forma ionica che in forma metallica, di ridurre e/o immobilizzare gli elementi sensibili ad una reazione di ossidoriduzione come il Cr e As o di dechlorinare vari inquinanti di falda è stata ampiamente dimostrata (Kim et al. ,2007 ; Ludwig et al., 2007)

Le applicazioni correnti del ferro come decontaminante possono essere grossolanamente divise in due categorie sovrapposte, basate sulla chimica coinvolta nel processo di bonifica: quelle che usano il ferro come un materiale assorbente, attraverso l'immobilizzazione o la co-precipitazione dell'inquinante, e quelle che usano il ferro come donatore di elettroni per convertire i contaminanti in prodotti meno tossici. Si può osservare come alcune tecnologie utilizzino entrambi i processi.

L'utilizzo di nZVI oggetto dello studio rientra nel secondo caso.

### 2.1 I nanomateriali

Un nanomateriale per definizione ha dimensioni comprese tra 1 e 100 nm. Rientrano nei nanomateriali anche le nanofibre che hanno un diametro di dimensioni nanoscopiche ma una lunghezza di micron.

In base alla fonte di produzione esistono nanoparticelle naturali che provengono dalle reazioni di combustione, dalle eruzioni vulcaniche, abrasioni delle rocce oppure come prodotti di virus; vi sono poi delle particelle di origine antropogenica non intenzionale, come quelle che si ottengono dalla combustione dei motori o dalla frantumazione dei cereali durante i moderni processi di macinazione; infine vi sono le fonti antropogeniche intenzionali tra cui si collocano le cosiddette "engineered nanoparticles" (Minetto D., Tesi di Dottorato, 2012)

Le peculiarità delle nanoparticelle sono, rispetto alla forma "bulk" (ovvero non nanoscopica):  
1. dimensioni ridotte, elevata superficie specifica, quindi elevata reattività;

2. sono composte da clusters così piccoli che le cariche elettroniche hanno un valore molto preciso e puntuale: si origina un effetto quantico dovuto alla “discretizzazione” delle cariche (creazione di cariche elettriche più piccole di quelle dell’elettrone) che conferisce alle stesse peculiari proprietà elettronegative, ottiche e chimico fisiche (Colombo, 2008).

Mentre per tutta la chimica vale il principio dettato da Paracelso ovvero “è la dose che fa il veleno”, questo non vale nel caso delle nanoparticelle: qui è lo stato di aggregazione, di agglomerazione che conta più della concentrazione delle particelle quindi, quando si lavora con le nanoparticelle, è importante valutare se si sta lavorando con una concentrazione effettiva oppure nominale.

Le nanoparticelle si possono classificare in base alle loro proprietà chimiche e morfologiche in:

1. organiche: sono i fullereni (60 atomi di carbonio) e i nanotubi di carbonio a single o multiwall;

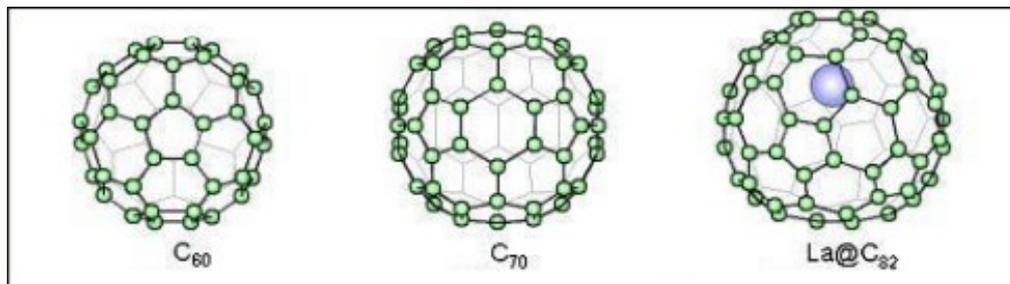


Fig 2.1: tre esempi di fullereni: C60 (bucky ball), C70 ed endofullerene contenente lantanio - da: [www.photon.t.u-tokyo.ac.jp](http://www.photon.t.u-tokyo.ac.jp)

2. “Carbon based” nanoparticles: molto usate in medicina: sono costituite da un guscio di atomi di carbonio arricchito con gruppi funzionali a cui viene agganciato il farmaco che, all’interno dell’ organismo degrada il proprio guscio protettivo e rilascia il componente attivo;

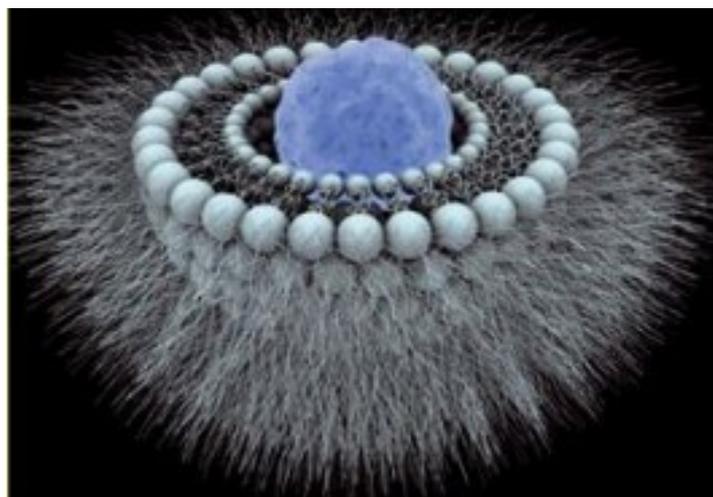
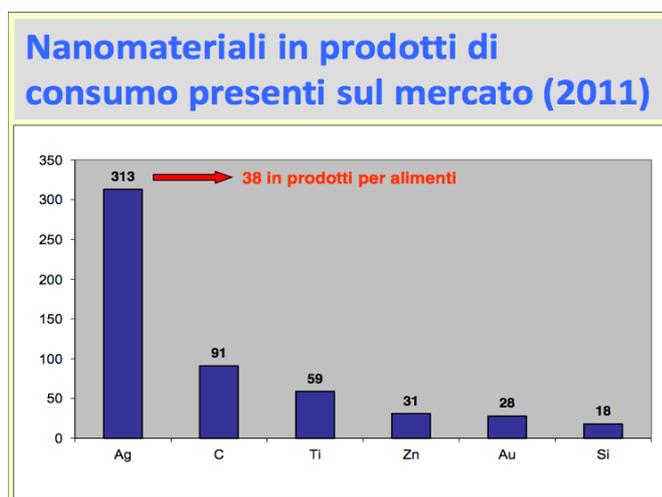


Fig 2.2: elaborazione grafica di un carrier organico – da: [www2cnrs.fr](http://www2cnrs.fr)

3. **Inorganiche:** di questa categoria fanno parte i cosiddetti “quantum dots” (QD), i nanocristalli semiconduttori fluorescenti che emettono luce a frequenze specifiche in funzione della diversa composizione e dimensione dei clusters delle nanoparticelle che li compongono; questi composti hanno diverse applicazioni, dalla costituzione dei led allo screening delle malattie perché, quando legati ad opportuni recettori del tessuto malato, lo “accendono” rendendolo identificabile. Fanno parte di questa categoria singoli elementi (Ag, Au, Cu, Fe), i composti (SiC, Si<sub>3</sub>Ni<sub>4</sub>), gli ossidi metallici, le nanoparticelle di ferro zerovalente che si trovano in forma aggregata più che dispersa, o ancora le nanoargille, minerali argillosi chimicamente ed elettricamente dispersi in forma di foglietti utilizzate per le loro elevate proprietà impermeabili: queste ultime due categorie di nanocomposti trovano applicazione soprattutto nel campo delle bonifiche ambientali.

Oggi il mercato delle nanostrutture è in crescita e sta diventando amplissimo: dal 2006 al 2011 si è registrato un incremento del 5,2% (www.nanotechproject.com).

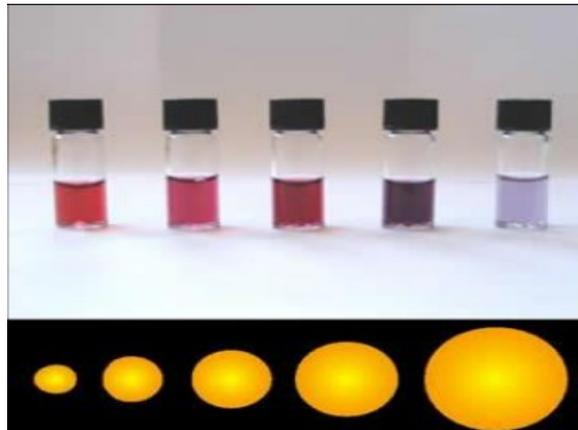


**Fig 2.3:** Müller N., Nanoparticles in the Environment: Risk Assessment based on Exposure-Modelling “What concentrations of nano titanium dioxide, carbon nanotubes and nano silver are we exposed to?” ETH Zurich, Department of Environmental Sciences, Empa - Material Science & Technology, St (Gallen, 2007).

Le dimensioni nanoscopiche cambiano profondamente le proprietà chimico fisiche: cambia il colore (alle dimensioni nano l’oro non è giallo ma varia tra il rosso e il violetto), il punto di ebollizione (l’oro nanoscopico ha un punto di ebollizione di 500°C contro i 1064 °C dell’oro metallico), cambia la resistenza (i nanotubi al carbonio hanno soppiantato i materiali plastici nel mondo dello sport proprio per le loro caratteristiche di resistenza estrema alle sollecitazioni).

L’ossido di titanio usatissimo nei filtri solari proprio per la sua stabilità, in forma nano diventa estremamente reattivo al punto che, a contatto con i raggi UV, genera addirittura specie attivate dell’ossigeno (ROS Reactive Oxygen Species, tra cui le più importanti sono l’anione superossido O<sub>2</sub><sup>-</sup> l’acqua ossigenata H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e il radicale ossidrilico OH.).

Il nanoargento è un potente battericida, così velenoso per la cellula che viene definito la penicillina del 21esimo secolo, e non mancano le applicazioni in campo alimentare: negli Stati Uniti è in commercio un budino al cioccolato dove all'acqua e al cacao viene aggiunta della nanosilice che ingannando le papille gustative, dà un effetto cremoso senza l'impiego di grassi (Minetto D., 2012).



**Fig 2.4: variazione del colore delle dispersioni in funzione del diametro delle nanoparticelle d'oro (www.webexhibits.org)**

Il mercato delle nanoparticelle è quindi vastissimo e se nel 2006 contava un giro d'affari di 50 miliardi di dollari, si stima che questo numero raggiungerà i 2600 miliardi di dollari per la fine del 2014 (Minetto D., 2012).

## **2.2 Tossicità delle nanoparticelle**

Nonostante la massiccia e crescente diffusione dei nanomateriali, gli studi sui possibili effetti tossici sull'ambiente e sull'uomo fin'ora non sono molti, soprattutto perché è difficile distinguere la nanomolecola di sintesi da quella già presente in natura (si pensi che, per esempio, anche quando si stira una maglia in cotone si generano particelle nanoscopiche).

Per questo motivo a oggi c'è un divario importante tra lo sviluppo delle nanoparticelle e lo studio del loro destino nell'ambiente, della loro tossicità anche nei confronti dell'uomo.

Per quanto riguarda il comparto aria, il particolato nanoscopico che si forma a causa delle attività antropiche e naturali, dirette o indirette, si compartimenta provvisoriamente nel particolato, successivamente subisce fenomeni di aggregazione e condensazione e, per un effetto di fall out gravitazionale, si deposita su acque e suoli. Non esistono lavori specifici su questo argomento, sono state fatte delle stime per cui una persona in media è sottoposta a 50 ng di particelle nanoscopiche, pari a 4 miliardi al minuto, mentre un lavoratore di cristalli di silice per esempio è sottoposto ad una esposizione pari a 1000 ng al minuto per 8 ore lavorative (Maynard & Wilson, 2008).

**Tab. 2.1 Esposizione dei lavoratori alle nanoparticelle - (Michael Riediker, 2009)**

	<b>Particelle/ml</b>	<b>Dimensione media</b>
Spazi esterni, ufficio	10.000	> 10 nm
Luoghi di lavoro purificati con uso di filtri	0-2000	> 10 nm
Lavorazioni di taglio al plasma	500.000	> 120
Ambito aeroportuale	700.000	< 45
Respiro dopo aver fumato	>>100.000.000	>10

Per quanto riguarda il comparto acqua, i laghi e le acque correnti contengono dei colloidi naturali delle dimensioni da 1 a 200 nm che, in particolari condizioni di forza ionica e di pH possono sedimentare o flocculare. Analogamente si possono trovare nanoparticelle depositate su suolo e sui sedimenti.

**Tab 2.2: incremento annuale previsionale della concentrazione di nano TiO<sub>2</sub> nelle matrici ambientali (Gottschalk Fadri, S. R. W., Sonderer Tobias, Nowack Bernd (2009). "Probabilistic material flow modeling or assessing the environmental exposure of nanoparticles.")**

	<b>concentrazioni</b>	<b>95% dell'intervallo di confidenza</b>
Aria	0,17 vg/m <sup>3</sup>	±0,00001
Acqua superficiale	0,55 µg/l	± 0,03
sedimenti	0,78 µg/kg	± 0,04
suolo	45 µg/kg	± 2

L'approccio per lo studio della tossicità delle nanoparticelle si divide in un approccio di tipo tossicologico, il cui focus è l'individuo, e un approccio di tipo ecotossicologico in cui il focus è l'ecosistema e le popolazioni: entrambi gli approcci prevedono l'utilizzo di un metodo in vitro e in vivo.

Nel primo caso si costruiscono dei modelli che permettono di stimare la tossicocinetica delle nanoparticelle: esse attraversano tutte le barriere cellulari, quindi riescono a penetrare attraverso un organismo per via dermica, inalatoria e per ingestione. A seconda delle loro caratteristiche lipofile si accumulano in determinati distretti corporei e qui possono sviluppare effetti tossici (Minetto et al., 2014). si ipotizza che alcune producano ROS, specie reattive dell'Ossigeno che attaccano i doppi legami dei lipidi delle membrane cellulari, scompaginando la cellula e aumentando la perossidazione lipidica (poiché le nanomolecole sono in grado di attraversare anche la barriera ematoencefalica, è possibile prevedere gli effetti devastanti sulle cellule cerebrali). Un altro effetto dei ROS è quello di provocare danni strutturali alle proteine, favorendo fenomeni estremamente tossici come la loro glicazione. Le nanoparticelle potrebbero anche interferire con le proteine del citoscheletro cellulare, deformando la matrice extracellulare con perdita di adesione (Tian et al., 2007).

Alcuni autori (Smith, Shaw, & Handy, 2007) riportano gli effetti tossici delle nanoparticelle (nanotubi in carbonio) sugli embrioni della trota arcobaleno (*Oncorhynchus mykiss*), mentre altri studi (Oberdörster, 2004) hanno riportato gli effetti di fullereni sull'aumento della perossidazione lipidica nel *Micropterus salmoides*, e (Laban, Nies, Turco, Bickham, & Sepúlveda, 2010) hanno descritto gli effetti teratogenici di nanoparticelle di Ag su embrioni di *Pimephales promelas*.

## 2.3 I Solventi Clorurati

### 2.3.1 Definizione

I solventi clorurati sono composti di sintesi derivati dagli idrocarburi alifatici o dagli idrocarburi ciclici, nei quali uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti da altrettanti atomi di cloro. Tali sostanze sono quindi costituite da atomi di carbonio, idrogeno e cloro.

Gli idrocarburi alifatici (a catena aperta) capostipiti si suddividono in due categorie principali: gli alcani (o paraffine) e gli alcheni (o olefine). I primi, la cui formula di struttura generica è  $C_nH_{2n+2}$ , sono caratterizzati dalla presenza di legami covalenti semplici fra atomi di carbonio (e sono chiamati per questo "saturi") mentre i secondi, la cui formula di struttura generica è  $C_nH_{2n}$ , sono caratterizzati dalla presenza di doppi legami (e per questo sono detti "insaturi").

Gli alcani e gli alcheni clorurati sono discendenti dai rispettivi alcani o alcheni per sostituzione di uno o più atomi di idrogeno con cloro. Tra gli alcani clorurati ricordiamo l'1,1,1 e l'1,1,2- tricloroetano e l'1,1 e l'1,2-dicloroetano, i quali, degradandosi in molecole più semplici, tramite una successiva dechlorinazione, danno luogo ad etano. Tra gli alcheni ricordiamo invece il tetracloroetilene, detto anche percloroetilene (PCE) ed il tricloroetilene (TCE), noto anche con il nome di trielina, i quali, degradandosi in elementi meno clorurati, portano alla formazione di trans-1,2 dicloroetilene e cis-1,2 dicloroetilene (1,2 DCE), 1,1 dicloroetilene (1,1 DCE), cloroetilene o cloruro di etilene o cloruro di vinile (il CVM appunto) ed infine etilene, l'idrocarburo alcheno capostipite.

### 2.3.2 Caratteristiche

I solventi clorurati sono sostanze dotate, nella massima parte, di un ottimo potere solvente, propellente, refrigerante e di scarsa infiammabilità.

Per le loro caratteristiche trovano largo impiego nell'industria chimica, tessile, della gomma, delle materie plastiche, degli estintori di incendio, dei liquidi refrigeranti, nelle operazioni di sgrassaggio e pulitura di metalli, pelli e tessuti. A causa della scarsa biodegradabilità di questi composti gli effetti del rilascio di tali sostanze nell'ambiente sono tuttora presenti (APAT, 2003).

Per la loro volatilità, queste sostanze possono contaminare le acque superficiali essenzialmente in prossimità dei siti di sversamento. In genere gli organo-clorurati possiedono una particolare stabilità che gli conferisce una notevole persistenza nell'acquifero. Tale proprietà è una caratteristica indotta dal legame carbonio-cloro; la presenza del cloro, infatti, riduce notevolmente la reattività degli altri legami presenti nelle

molecole organiche e diminuisce notevolmente la biodegradabilità ed il potenziale di attenuazione naturale. Questo fa sì che, una volta penetrati nell'ambiente, gli idrocarburi alogenati vengano degradati con estrema difficoltà con conseguente accumulo nell'ambiente stesso. Ciò è ancora più aggravato dal fatto che la maggior parte di essi risultano idrofobi e diventano solubili solo se immersi in mezzi idrocarburo-simili come oli o tessuti adiposi (lipofilia). Anche se comunque poco solubili, la loro concentrazione è tale da essere di molto maggiore del limite imposto dalla legge, per cui sono inquinanti pericolosi per i potenziali recettori.

La pericolosità per l'uomo deriva dai processi di assorbimento e relativa tossicità sviluppata nell'organismo. L'assorbimento dei solventi clorurati si attua prevalentemente per via respiratoria, ma è possibile anche un'introduzione per via cutanea o digestiva; gli effetti tossici riguardano principalmente il fegato, il rene ed il sistema nervoso centrale.

A concentrazioni elevate nell'organismo si possono verificare fenomeni di ebbrezza, seguiti da depressione e narcosi fino al coma; l'esposizione cronica dà luogo solitamente a disturbi aspecifici (cefalea, astenia, irritabilità). Gravi lesioni epatiche e renali a carattere acuto possono verificarsi in caso di intossicazione massiva; per esposizione protratta nel tempo si osservano solitamente manifestazioni di epatopatia cronica.

Tra i composti alifatici clorurati il maggiore potenziale lesivo è posseduto dal tetracloruro di carbonio e dal tetracloroetano (nefro-epato-neurotossicità), seguiti dal cloroformio e dall'1,2 dicloroetano: il tricloroetilene, largamente impiegato in svariati settori, presenta invece un maggiore rischio di tossicità cronica (possibili epatopatie).

La tossicità dei composti ciclici (monoclorobenzene e diclorobenzene) è analoga a quella del tetracloruro di carbonio.

Alcuni composti alifatici, inoltre, possono dar luogo ad aritmie cardiache (tricloroetilene) e, per contatto, a dermatiti irritative o allergiche. In presenza di fuoco o di superfici ad elevata temperatura, i solventi clorurati alifatici possono decomporsi, dando origine a vapori tossici, contenenti anche fosgene, con gravi ripercussioni sull'apparato respiratorio (edema polmonare) ( Bincoletto T. et al., 2008).

I solventi clorurati di più ampio utilizzo sono il cloruro di metilene (MC), il cloroformio (CF), il tetracloruro di carbonio (CT), il tricloroetilene (TCE) ed il percloroetilene (PCE). Le principali applicazioni di tali prodotti sono riassunte nel seguente elenco:

- cloruro di metilene (MC): prodotti farmaceutici, aerosol, estrazioni nel settore alimentare, trattamenti delle superfici, produzione di componenti dell'industria elettronica;
- cloroformio (CF): produzione di fluorocarbon-22 (utilizzato principalmente come fluido refrigerante), estrazione e purificazione di farmaci, stadio intermedio nella produzione di coloranti e pesticidi;
- tetracloruro di carbonio (CT): solvente;
- tricloroetilene (TCE): pulizia (sgrassatura) di parti metalliche, produzione di adesivi, produzione di sostituti dei CFC, solvente;
- percloroetilene (PCE): pulizia (sgrassatura) di parti metalliche, lavaggio a secco, produzione di sostituti dei CFC (clorofluorocarburi), lavorazioni nel settore tessile.

Durante gli anni '80, numerosi erano anche i settori di utilizzo del tricloroetano (1,1,1-TCA). Tuttavia nel 1987 la produzione di questo solvente è stata vietata dal protocollo di Montreal, in quanto esso è stato riconosciuto come uno dei responsabili dell'assottigliamento dello strato di ozono. Pertanto la produzione di tale solvente è gradualmente diminuita durante la prima metà degli anni '90, per poi arrestarsi nel 1995 (Pagliata, 2010)

**Tab. 2.3: proprietà chimico-fisiche dei principali solventi clorurati**

composto	Abbrev.	PM g/mole	solubilità in acqua mg/l a 25°C	tensione di vapore mHg a 25°C <sup>+</sup>	costante di Henry a 20°C
Tetracloroetilene	PCE	165,8	150	17,8	0,0153
Tricloroetilene	TCE	131,4	1100	57,9	0,0091
Cis 1,2-dicloroetilene	1,2-DCE	96,9	3500	206	0,0037

(\*) La costante di Henry espressa in questa unità si riferisce all'equilibrio liquido-gas espresso tramite la seguente equazione:

$$P_i = H_i c_i$$

dove  $P_i$  è la pressione del componente  $i$  in fase gas (atm),  $c_i$  la sua concentrazione in fase liquida (mol/m<sup>3</sup>) e  $H_i$  la sua costante di Henry alla temperatura indicata (atm m<sup>3</sup>/mol).

La ricerca svolta nel corso del dottorato ha preso in esame tre diversi composti clorurati:

1. il tetracloroetilene (PCE) e, in particolare, il tricloroetilene (TCE) come composti-test nell'inquinamento delle acque di falda da idrocarburi polialogenati;
2. il 1,2, cis-dicloroetilene come possibile sottoprodotto della dealogenazione riduttiva;

La scelta dei due solventi-test deriva dalle seguenti considerazioni:

- elevata presenza negli inquinamenti ambientali di origine antropica;
- persistenza nell'ambiente;
- elevata tossicità per la salute umana ed ambientale.

## 2.4 Caratteristiche tossicologiche e limiti di legge per gli idrocarburi clorurati

Alcuni dei composti organo-clorurati pongono in serio pericolo la salute dell'uomo. Da qui derivano i limiti di concentrazione massima ammissibile (CMA) per le acque destinate al consumo umano, fissati dai maggiori paesi industrializzati del mondo. Già nel 1982 la CEE

compilò una lista di 129 sostanze potenzialmente nocive per l'ambiente acquatico e la salute dell'uomo. Tra queste ben 118 sono composti organo-alogenati.

In Italia, la presenza di composti organo-clorurati nei suoli e nelle acque (sotterranee o superficiali) e i valori limite accettabili negli scarichi, sono regolamentati dal D.Lgs. N° 152 del 03/04/2006 e s.m.i.

Per quanto riguarda la presenza di composti clorurati nelle acque superficiali, la Tabella 1/A dell'Allegato 1 del D.Lgs. 152/2006 -parte III- fissa gli standard di qualità da conseguire in corpi idrici significativi (Tab. 2.5). La Tabella 3 dell'Allegato 5 dello stesso decreto- parte III - fissa ad 1 mg/l (come sommatoria) il valore limite di concentrazione di solventi clorurati e a 2 mg/l il valore limite di concentrazione per scarichi in rete fognaria.

Tali valori possono essere resi più restrittivi dalla Regione di competenza, sulla base dei piani di tutela delle acque, tenendo conto dei sopra menzionati obiettivi di qualità. I composti clorurati, inoltre, rientrano tra le sostanze pericolose (elencate in Tabella 5 dell'Allegato 5 parametro 15), per le quali i limiti regionali non possono essere meno restrittivi di quelli nazionali.

I livelli accettabili nei suoli e nelle acque sotterranee sono normati nell'Allegato 5 - parte IV - del D.Lgs. 152/2006, rispettivamente nelle Tabelle Tab.1 e Tab.2. Rispetto ai corrispondenti obiettivi di qualità per le acque superficiali, le tabelle suddette presentano una lista più estesa di composti clorurati. Ove è possibile fare un confronto, i valori accettabili in acque sotterranee sono generalmente simili agli obiettivi di qualità in acque superficiali o leggermente più bassi. Infine è evidente la grande differenza tra il valore massimo accettabile in acque sotterranee per la sommatoria dei composti organo clorurati cancerogeni (10 µg/l) ed i limiti per scarichi di acque industriali (rispettivamente 1 o 2 mg/l, citata Tabella 3 Allegato 5 alla parte III D.Lgs. 152/2006).

La necessità di una bonifica dei siti inquinati da solventi clorurati è giustificata dalle loro caratteristiche tossicologiche e di cancerogenicità (Triclorometano, 1,2-Dicloroetano, Cloruro di Vinile).

**Tab.2.4a: valori di concentrazione limite accettabili nel suolo e sottosuolo in riferimento alla specifica destinazione d'uso.**

Nº d'ordine	Sostanza	Siti ad uso Verde pubblico, privato e residenziale (mg/Kg espressi come ss)	Siti ad uso Commerciale e Industriale (mg/Kg espressi come ss)
<b>ALIFICATI CLORURATI CANCEROGENI (*)</b>			
39	Clorometano	0,1	5
40	Diclorometano	0,1	5
41	Triclorometano	0,1	5
42	Cloruro di Vinile	0,01	0,1
43	1,2-Dicloroetano	0,2	5
44	1,1-Dicloroetilene	0,1	1
45	Tricloroetilene	1	10
46	Tetracloroetilene (PCE)	0,5	20
<b>ALIFICATI CLORURATI NON CANCEROGENI (*)</b>			
47	1,1-Dicloroetano	0,5	30
48	1,2-Dicloroetilene	0,3	15
49	1,1,1-Tricloroetano	0,5	50
50	1,2-Dicloropropano	0,3	5
51	1,1,2-Tricloroetano	0,5	15
52	1,2,3-Tricloropropano	1	10
53	1,1,2,2-Tetracloroetano	0,5	10

*(\*) – In Tab.2 dell' All. 5 Parte IV del TUA sono selezionate, per ogni categoria chimica, alcune sostanze frequentemente rilevate nei siti contaminati. Per le sostanze non esplicitamente indicate in Tab.2 i valori di concentrazione limite accettabile sono ricavati adottando quelli indicati per la sostanza tossicologicamente più affine.*

**Tab.2.4b: valori di concentrazione limite accettabile in acque sotterranee.**

N° d'ordine	Sostanza	Acque sotterranee Valori limite (µg/l)
ALIFICATI CLORURATI CANCEROGENI (**)		
39	Clorometano	1,5
40	Triclorometano	0,15
41	Cloruro di Vinile	0,5
42	1,2-Dicloroetano	3
43	1,1-Dicloroetilene	0,05
44	Tricloroetilene	1,5
45	Tetracloroetilene (PCE)	1,1
46	Esaclorobutadiene	0,15
47	Sommatoria organoalogenati	10
ALIFICATI CLORURATI NON CANCEROGENI (**)		
48	1,1-Dicloroetano	810
49	1,2-Dicloroetilene	60
50	1,2-Dicloropropano	0,15
51	1,1,2-Tricloroetano	0,2
52	1,2,3-Tricloropropano	0,001
53	1,1,2,2-Tetracloroetano	0,05

(\*\*) – In Tab.3 dell' All.5 Parte III del TUA sono selezionate, per ogni categoria chimica, alcune sostanze frequentemente rilevate nei siti contaminati. Per le sostanze non esplicitamente indicate in tabella i valori di concentrazione limite accettabile sono ricavati adottando quelli indicati per la sostanza tossicologicamente più affine.

In particolare, il PCE e il TCE spesso si concentrano sotto la superficie dell'acquifero essendo più pesanti dell'acqua andando a costituire la fase DNAPL (*dense non aqueous phase liquid*), che costituisce una sorgente di contaminazione persistente e a lungo termine (Yang & Chang, 2011).

Il DNAPL si infiltra e rimane intrappolato tra le particelle di suolo, per questo motivo esso agisce come una sorgente persistente e a lento rilascio, anche quando la sorgente primaria è rimossa. La strategia di intervento deve necessariamente prevedere l'eliminazione della sorgente oltre che il risanamento del pennacchio (come rappresentato schematicamente in Fig 2.5.)

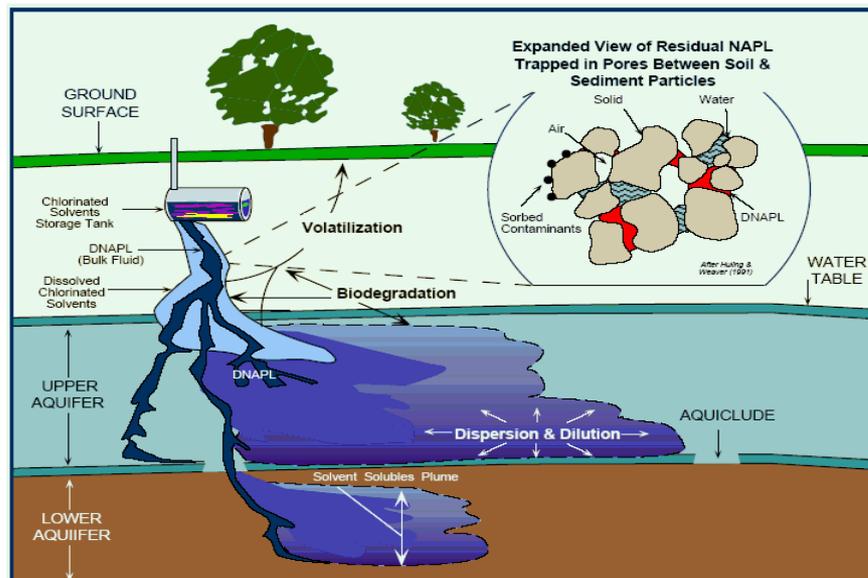


Fig 2.5: rappresentazione del comportamento dei DNAPL in falda. Tratto da <http://oceanworld.tamu.edu>.

Mentre esistono attualmente molte tecnologie valide per raggiungere ed eliminare i composti organici volatili dalle matrici ambientali, esistono pochissime tecnologie efficaci nel trattamento della frazione DNAPL: i siti contaminati da idrocarburi clorurati sono molto difficili da trattare perché sono estremamente poco solubili nell'acqua e molto persistenti (Adventus Europe Ghmb, Mueller, Strasse, & Hrb, 2010).

La difficoltà nel trattamento di degradazione dei contaminanti sta proprio nella distribuzione del contaminante, specie quando si vuole optare per un trattamento in situ, in generale da preferire per il suo basso costo e la sua migliore gestibilità. La tecnologia del nZVI assume in quest'ottica una particolare rilevanza proprio perché è possibile, modulando la mobilità delle particelle di nZVI, agire sia sulla sorgente di contaminazione (fonte primaria), sia nel plume che rappresenta la fonte secondaria di contaminazione (AA.VV., 2009).

## 2.5 Diffusione del contaminante nelle matrici ambientali

L'entità della diffusione del contaminante nell'ambiente dipende dalle proprietà chimico-fisiche del contaminante stesso. Il contaminante normalmente viene rilasciato nel sottosuolo come liquido organico puro, indicato con l'acronimo NAPL (*Non Aqueous Phase Liquid*) e si può presentare ripartito in quattro fasi: in parte può essere presente come fase separata dall'acqua liquida (NAPL), in parte viene adsorbito nel terreno, in parte si dissolve nell'acqua sotterranea e in parte volatilizzata nei gas presenti nel sottosuolo (nel caso di acquifero non saturo). La situazione indicata può essere descritta mediante la figura 2.5, in cui si fornisce una rappresentazione schematica dell'equilibrio fra le quattro fasi in cui i solventi clorurati possono essere presenti nel sottosuolo.

La ripartizione del contaminante e l'equilibrio tra le quattro fasi dipendono dalle caratteristiche chimico-fisiche del contaminante stesso. Infatti, l'equilibrio tra le fasi liquida, di adsorbimento nel terreno e di dissoluzione in acqua è determinato dalla solubilità del

contaminante in acqua e dal coefficiente di ripartizione tra terreno e acqua. La tensione di vapore definisce la ripartizione del contaminante tra la fase liquida la fase adsorbita nel terreno e la fase gas presente nel sottosuolo (Pagliata, 2010).

L'equilibrio tra la fase dissolta in acqua e la fase gas è stabilito dalla costante di Henry (H).

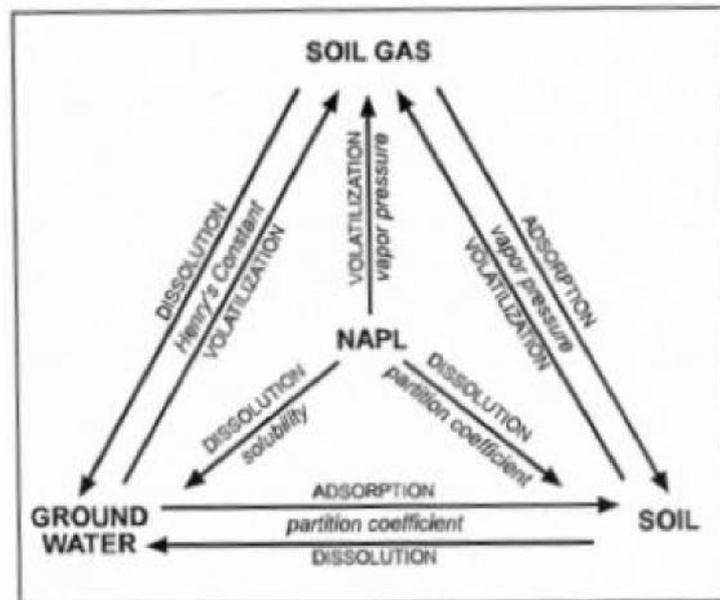


Fig 2.6: rappresentazione schematica dell'equilibrio fra le quattro fasi in cui i solventi clorurati possono ripartirsi nel sottosuolo.

Il trasporto del contaminante attraverso il suolo fino alle falde è un processo complesso e fortemente dipendente dalle caratteristiche idrogeologiche del sito interessato, che può essere descritto con la coesistenza di vari meccanismi (convezione, dispersione, adsorbimento, trasporto di sostanze immiscibili e diffusione).

Gli idrocarburi alogenati alifatici hanno densità nettamente maggiore di quella dell'acqua (come riportato in Tab 2.3), mentre la loro viscosità è considerevolmente minore. Entrambe queste proprietà favoriscono una veloce migrazione attraverso il suolo con il conseguente raggiungimento delle falde acquifere. Una volta raggiunta la falda, a causa della maggiore densità rispetto all'acqua, tali composti continuano a migrare verso il fondo dell'acquifero dove tendono a stratificare sul più profondo strato impermeabile, formando una di fase separata. Inoltre, durante la migrazione verso il basso, una porzione di fase separata viene intrappolata nelle porosità della fase solida a causa di forze capillari, creando una contaminazione lungo tutta la verticale della falda.

## **2.6 Dinamica dei DNAPL nella zona non satura**

Quando un DNAPL viene rilasciato nel suolo, esso tende a seguire un movimento di infiltrazione che presenta, teoricamente, una componente verticale predominante. Tuttavia, l'eterogeneità del mezzo geologico, la differente alterazione e la diversa percentuale di acqua presente nei singoli livelli, possono provocare un progressivo allargamento della zona contaminata ed un suo cambiamento di forma (Pagliata, tesi di Laurea, 2010).

In un mezzo omogeneo, si ha una profondità di penetrazione superiore a quella che si verifica in presenza di eterogeneità, in quanto si formano orizzonti preferenziali di concentrazione dei composti considerati. In tale regione il DNAPL potrà essere trattenuto nelle porosità del suolo, rivestendo la matrice solida e potendo andare incontro a dissoluzione in presenza di flussi idrici dovuti all'infiltrazione delle precipitazioni meteoriche. Per le sostanze volatili, come molti dei composti clorurati, c'è inoltre la possibilità di migrazione in fase vapore. Essendo i DNAPL altamente idrofobici si creano delle significative tensioni all'interfaccia fra il DNAPL e l'acqua. Pertanto, quando per effetto del loro moto migratorio verso le regioni profonde del suolo, tali sostanze raggiungono la superficie libera dell'acquifero si possono creare delle resistenze al superamento della frangia capillare, che ne rallentano il contatto con l'acqua (Pagliata, 2010).

Ne consegue che la massa di contaminante tenderà a stagnare formando una colonna che si estende in verticale. Se la sorgente non si esaurisce, la colonna tenderà ad aumentare di dimensioni fino a raggiungere un'altezza tale da rendere gli effetti legati alla gravità sufficienti a vincere la resistenza esercitata dalla pressione capillare, consentendo al DNAPL di raggiungere l'acqua. Le caratteristiche della matrice, legate a variazioni spaziali della porosità, della permeabilità e della dimensione dei grani, possono variare l'altezza della colonna di DNAPL sufficiente a vincere la resistenza della frangia capillare. Si può dedurre che la possibilità che questi composti possano raggiungere la falda è legata ai seguenti fattori:

- volume di contaminante immesso nel suolo;
- tipologia della fonte inquinante;
- entità dell'infiltrazione;
- capacità di ritenzione del terreno.

La conoscenza della struttura e del grado di umidità della porzione non satura possono consentire una stima della possibilità di intercettazione dell'inquinante prima che raggiunga la falda, una volta superata la capacità di ritenzione del terreno.

## **2.7 Dinamica dei DNAPL nella zona satura**

Quando gli idrocarburi clorurati raggiungono la superficie della falda, si verifica un flusso lento verso il basso poiché devono riuscire a spiazzare l'acqua presente nei pori del mezzo saturo. La componente laterale del moto non influisce sulla discesa ed il fluido tende ad approfondirsi nella zona satura, fino a raggiungere un livello a bassa permeabilità che può essere costituito dal substrato impermeabile della falda o da letti di materiali poco trasmissivi.

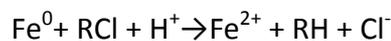
Nel caso in cui si superi la capacità di ritenzione del mezzo che dipende, come nel caso del non saturo, dalla saturazione residua, si assiste ad una migrazione laterale del contaminante, al di sopra del livello impermeabile (Pagliata, 2010).

La pressione, dovuta al peso della colonna di idrocarburi, spinge la massa di inquinante al di sopra della matrice, inducendo una migrazione anche in senso contrario alla direzione di flusso della falda fino a quando la pressione del fluido ed il carico idraulico si equilibrano. Ai fini pratici, la forma assunta degli idrocarburi al contatto con il substrato è di difficile perimetrazione. Può inoltre capitare, che il contaminante si raccolga in depressioni del substrato che sono parzialmente al di fuori del flusso idrico sotterraneo.

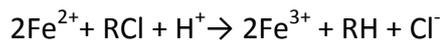
I solventi clorurati vengono rimossi dall'acqua di falda attraverso una serie di reazioni di ossidoriduzione; i principali agenti riducenti sono ferro metallico, ferro ferroso e idrogeno (Abbasi & Azari, 2011; Sun, Li, Zhang, & Wang, 2007a).

Ci sono tre principali vie di reazione coinvolte nella dechlorinazione (1-3)

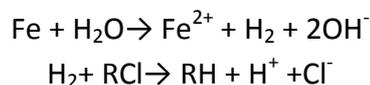
1. riduzione per trasferimento di elettroni direttamente dalla superficie del metallo alla molecola clorurata adsorbita su di esso:



2. idrogenolisi catalizzata



3. riduzione per trasferimento di elettroni indiretto mediato dall'idrogeno, prodotto dalla corrosione del ferro da parte dell'acqua, alla sostanza clorurata:



In linea teorica il processo dovrebbe essere costituito da una serie di reazioni a catena che portano alla progressiva dealogenazione della sostanza clorurata fino alla formazione di alcani e alcheni.

Tuttavia, è stata notata la formazione di composti che non seguono il precedente schema: in particolare, nella degradazione del TCE si possono rilevare, oltre ad etene e etano, anche acetilene. Si pensa allora che i due principali meccanismi di reazione siano (Bincoletto T., 2008):

1. idrogenolisi sequenziale: due elettroni e uno ione idrogeno attaccano la molecola del composto clorurato provocando l'eliminazione di uno ione cloruro e la formazione di un prodotto a minor grado di sostituzione;
2.  $\beta$ -eliminazione riduttiva: due elettroni vengono trasferiti dal ferro all'etene clorurato provocando l'eliminazione di due atomi di cloro dalla molecola sotto forma di  $\text{Cl}^-$  e la formazione di un triplo legame; il prodotto intermedio che si forma (cloro acetilene e acetilene) viene velocemente trasformato per idrogenolisi ed infine idrogenato.

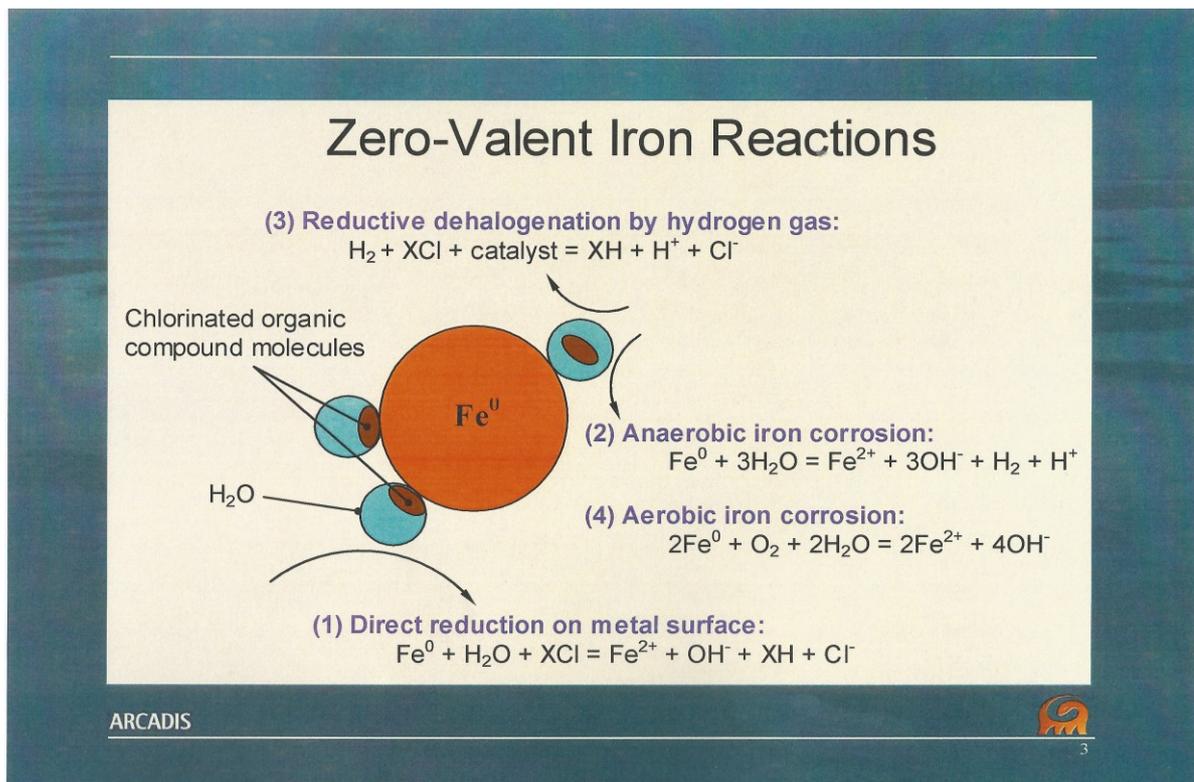


Fig 2.7: reazioni di dealogenazione riduttiva che avvengono sulla superficie di una particella di nZVI. Tratta dalla presentazione di R. J. Ellis (Arcadis) "Nanoscale zerovalent iron bench scale kinetic and Phase II injection testing, Phoenix –Goodyear Airport North Superfund Site, Goodyear Arizona" alla "Desert remedial Action Technologies Conference" Phoenix Arizona, 3 ottobre 2007.

In particolare, nella reazione tra TCE e ferro, il TCE viene ridotto e rilascia ioni cloruro mentre il ferro viene ossidato e fornisce elettroni (Gillham & O'Hannesin, 1994; Matheson & Tratnyek, 1994; William A Arnold, Burris, & Campbell, 1996). Come riportato in letteratura anche in questo caso il principale meccanismo di reazione è la  $\beta$ -eliminazione e la idrogenolisi, mentre l'idrogenazione avviene in misura minore: questi meccanismi spiegano la formazione di etene ed etano come i principali sottoprodotti di reazione con minima quantità di intermedi clorurati ( che si formano via idrogenolisi) e acetilene formato sempre via  $\beta$ -eliminazione (William A Arnold et al., 1996).

Sono gli ossidi e gli idrossidi di ferro che mediano la reazione anche se l'esatta natura di come i differenti ossidi di ferro influenzino la velocità della reazione e i prodotti che si formano rimane ancora non chiara (Gaspar et al., 2002; Gotpagar, Lyuksyutov, Cohn, Grulke, & Bhattacharyya, 1999; Johnson, Fish, Gorby, & Tratnyek, 1998).

In figura 2.8, vengono riportate le diverse vie di reazione attribuibili al Fe(0): questo schema comprende i prodotti osservati dalla  $\beta$  eliminazione e dalla idrogenolisi usando Fe(0). Sono compresi i prodotti intermedi (cloroacetilene, dicloroetene, cloruro di vinile) ed è riportata una via diretta dal TCE all'etano che è stata osservata nel caso di composti a base di Fe/Pd (W.A. Arnold & Roberts, 2000; Di Molfetta & Sethi, 2000).

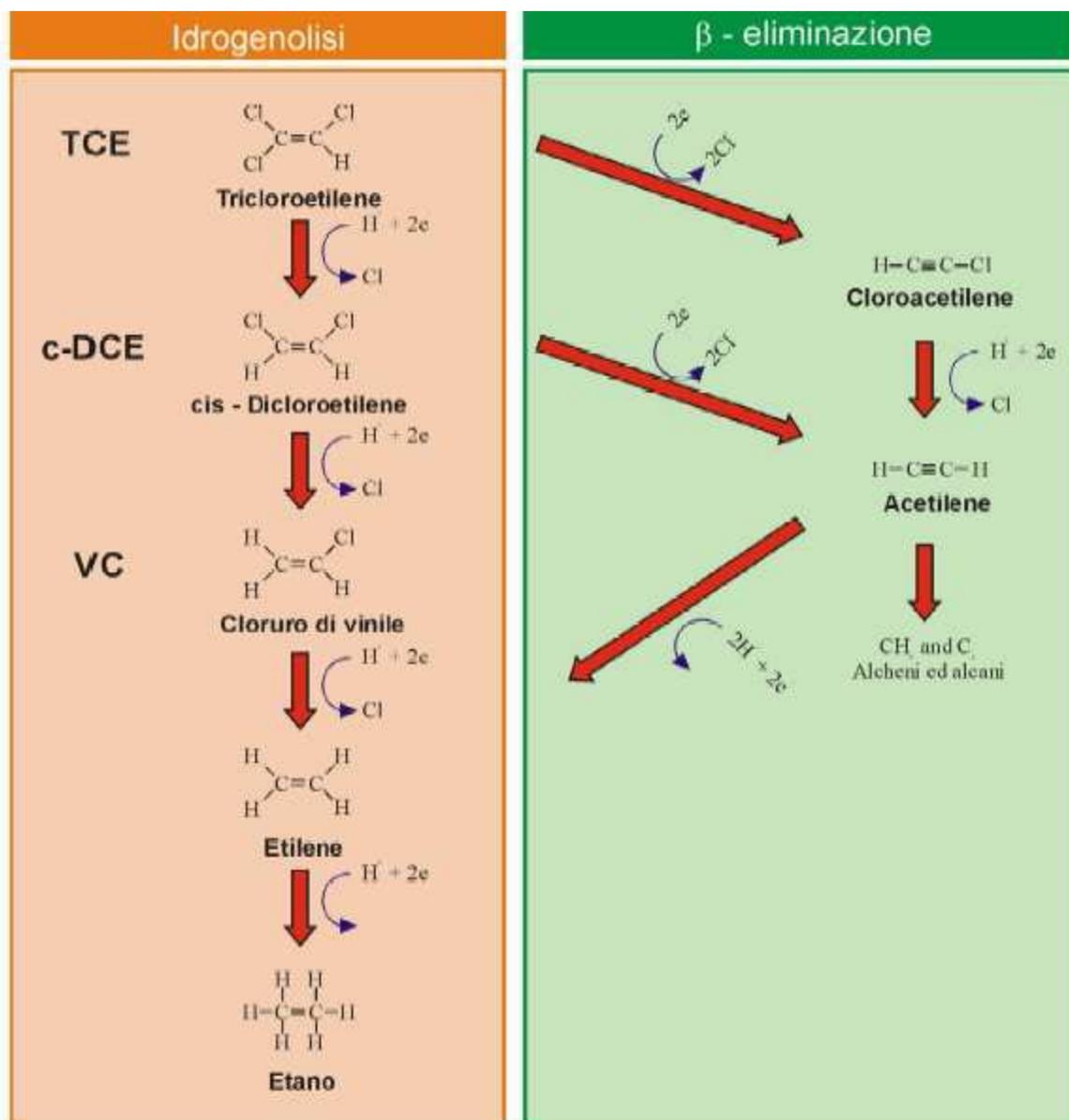
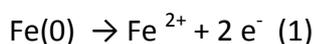
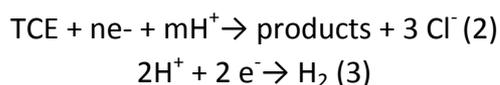


Fig 2.8: percorsi principali di degradazione del TCE trattato con Fe (0) (tratto da Di Molfetta et al., 2000)

Analizzando ulteriormente il meccanismo completo di reazione, in esso si possono evidenziare due reazioni:





Gli elettroni che si originano dalla ossidazione del Fe(0) possono essere usati sia per dechlorinare il TCE (2) che per produrre idrogeno gassoso: la predominanza dell'una o dell'altra via di reazione dipendono da diversi fattori tra cui la distribuzione dimensionale del Fe(0) e quindi la quantità di elettroni che vengono liberati, come dalla accessibilità del Fe(0) nel cuore della particella reattiva.

E' comunque ampiamente dimostrato che c'è uno sviluppo di idrogeno gassoso durante l'utilizzo del nZVI in acqua (Schrick, Blough, Jones, & Mallouk, 2002) e che la velocità di degradazione del TCE dipende dalla quantità di idrogeno che si sviluppa (Liu, Majetich, Tilton, Sholl, & Lowry, 2005).

## **2.8 Aspetti Normativi relativi all'applicazione della tecnologia nZVI in Italia, Europa e America.**

### **2.8.1 Tutela e gestione delle risorse idriche**

La tutela e la gestione delle risorse idriche è normata dalla Direttiva Europea 2000/60/CE (Water Framework Directive), recepita nell'ordinamento nazionale tramite il D.Lgs 152/2006, Parte III Sezione 2 e dal Decreto n.260 dell'8 novembre 2010 "Regolamento recante i criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del medesimo decreto legislativo" con lo scopo di agevolare l'applicazione di quanto previsto nel D. Lgs. 152/2006.

In particolare, il D.Lgs. 152/2006 e s.m.i. individua, nella sua parte terza, gli obiettivi minimi di qualità ambientale per i corpi idrici significativi e gli obiettivi di qualità per specifica destinazione per i corpi idrici di cui all'articolo 78, da garantirsi su tutto il territorio nazionale. Gli standard di qualità vengono riportati nella tabella 1/A (Parametri di base da controllare nelle acque superficiali) dell'Allegato 1 alla Parte Terza del Decreto. Le principali sostanze da tenere in considerazione, classificate in prioritarie (P) e pericolose prioritarie (PP), appartengono ai seguenti gruppi: inquinanti inorganici, idrocarburi policiclici aromatici, idrocarburi aromatici, idrocarburi alifatici clorurati, prodotti fitosanitari e biocidi, composti organici semivolatili.

Altre Norme riguardanti le Acque Superficiali sono:

D.M. 56/09 - "Regolamento recante criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del Decreto Legislativo 3 aprile 2006, n. 152".

D.M. 260/10 - "Regolamento recante i criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, per la modifica delle norme tecniche del Decreto Legislativo 3 aprile

2006, n. 152, recante norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del medesimo decreto legislativo". Vengono riportati gli standard di qualità nella colonna d'acqua per le sostanze appartenenti all'elenco di priorità (tabella 1/A) e per quelle non appartenenti al suddetto elenco (tabella 1/B). Nella maggior parte dei casi gli standard di qualità ambientale fanno riferimento alla media aritmetica delle concentrazioni rilevate nei diversi mesi dell'anno (SQA-MA).

Per quanto riguarda le acque sotterranee, la normativa di riferimento è il D.Lgs. 152/2006 e s.m.i. In particolare, in Allegato 5, Parte IV, Titolo V, Tabella V del suddetto decreto, vengono riportate le concentrazioni soglia di contaminazione (CSC) per metalli, inquinanti inorganici, composti organici aromatici, policiclici aromatici, alifatici clorurati cancerogeni, alifatici clorurati non cancerogeni, alifatici alogenati cancerogeni, nitrobenzeni, clorobenzeni, fenoli, clorofenoli, ammine aromatiche, fitofarmaci, diossine e furani, nonché altre sostanze quali PCB, acrilammide, acido para-ftalico e amianto.

Spetta alle Regioni e alle ARPA il compito di garantire l'applicazione della Direttiva, che rappresenta una radicale innovazione nell'ambito della tutela della "risorsa acqua" e, quindi, del relativo monitoraggio e classificazione delle acque di stretta competenza delle Agenzie per l'Ambiente.

Ad oggi, non sono ancora disponibili Linee Guida tecniche di bonifica specifiche per la contaminazione delle acque di falda da organo clorurati.

L'unico testo a cui fare riferimento per quanto riguarda la normativa Italiana è il D. Lgs. 152/2006 Testo Unico Ambientale (di seguito T.U.A.), Parte II "Acque e difesa del suolo", aggiornato recentemente col Decreto Legislativo 10 dicembre 2010, n. 219, recante l'attuazione della direttiva 2008/105/CE relativa a standard di qualità ambientale nel settore della politica delle acque, la quale abroga le precedenti direttive 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE, modifica la direttiva 2000/60/CE, recepisce la direttiva 2009/90/CE e stabilisce specifiche tecniche per l'analisi chimica e il monitoraggio dello stato delle acque", pubblicato nella GU n. 296 del 20-12-2010.

Un altro testo importante è il Recepimento della direttiva 118/2006/CE sulla protezione delle acque sotterranee.

In tali direttive, quindi nemmeno nel T.U.A., non vi sono riferimenti espliciti all'utilizzo di sostanze nanoscopiche, anche se nel caso specifico del Ferro occorre rilevare che:

- la concentrazione soglia di contaminazione nelle acque sotterranee per il Ferro è fissata a 200 microgrammi/l (Tabella 2, All. 5 al Titolo V (Bonifica siti contaminati) della Parte IV (Norme in materia di gestione dei rifiuti e di bonifica dei siti inquinati);
- la concentrazione soglia per le acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile per il Ferro disciolto è fissata a 100 microgrammi/l (Tabella 1/A, All. 2 alla Parte III).

Pertanto, ogni applicazione tecnologica che comporti l'utilizzo del ferro nelle acque sotterranee e/o superficiali deve tener conto dei suddetti limiti. Ciò detto, ogni eventuale

sperimentazione che non sia ristretta a siti specifici all'interno di progetti pilota, ma finalizzata al risanamento di siti contaminati mediante ferro zerovalente nanoscopico, necessiterebbe di analisi eco-tossicologiche volte a valutare la pericolosità dei prodotti chimici diretti e indiretti. In questo senso è prevedibile un coinvolgimento di ISPRA in qualità di ente tecnico a supporto del Ministero dell'Ambiente e con funzione di coordinamento tecnico-scientifico della rete agenziale, costituita dalle ARPA/APPA.

La legislazione italiana, quindi, non vieta né permette l'utilizzo del nZVI, rimandando la questione agli Enti preposti, i quali, poiché il ferro, una volta reagito, prima passa in soluzione sotto forma di ione  $Fe^{2+}$  e successivamente precipita come ossido/idrossido ferrico, sostanza abbondantemente e naturalmente già presente nei suoli, basano generalmente le proprie decisioni sulla vicinanza di pozzi ad uso potabile e sugli effetti del trattamento con nZVI, sulla velocità e sulla qualità dell'acquifero stesso, valutata sulla base delle concentrazioni soglia di Ferro disciolto sopra riportate.

La situazione in Europa è un po' diversa, come riporta il "Observatory NANO focus report 2010 Nano zero valent iron – THE solution for water and soil remediation? Regulations and Acceptance by Governmental Bodies in Europe" (Adventus Europe Ghmb et al., 2010), che sancisce:

*"There is no European country which has - to our knowledge - specific regulations on the use of nanomaterials for environmental remediation. Concretely, there is no country which explicitly prohibits the use/application of nZVI. This means that the use of nZVI has to be evaluated by the governmental agencies by means of the current laws and regulations on chemical substances. In contrast to the U.S., most agencies are – based on the precautionary principle – rather cautious; especially since there have been only a few full scale remediations carried out in Europe so far."*

In pratica, a livello europeo, non ci sono regolamenti specifici riguardo l'applicazione del nZVI, quindi il suo uso non è esplicitamente proibito, anche se c'è ancora molta cautela a causa delle scarse conoscenze della sua tossicità e del suo destino una volta iniettato nella falda.

Infine, negli Stati Uniti la tecnologia del nZVI è comunemente usata senza particolari restrizioni, ed esistono prove sulla sua efficacia e sul costo relativamente contenuto, ciò che ha reso possibile la sua applicazione.

La Tab 2.5 riportata di seguito sintetizza la situazione Europea del nZVI e come si vede, l'atteggiamento dell'Italia è abbastanza aperto nei confronti dell'utilizzo del nZVI.

---

**Tab. 2.5: Riassunto della posizione assunta dai vari Paesi Europei nei confronti del nZVI (Per gentile**

**concessione della D.ssa Eva Zane, impiegato presso ARPAV Ufficio Regionale Regione Veneto).**

Germany	Authorization by regional environmental agencies/State agencies At least one full scale remediation has been carried out
UK	Potential authorization by National Environmental Agency No field implementation so far Unclear whether a nZVI remediation project would/could be stopped Waiting for more information on toxicity and environmental fate
Finland	Potential authorization by National Environmental Agency ( after consultation of municipal and national agencies) Situation comparable to UK
Italy	National Environmental Agency is rather open-minded towards nZVI Pilot tests carried out
Czech Republic	National Environmental Agency is rather open-minded towards nZVI applications Several projects completed

## **2.8.2 Regolamentazione sulla produzione e l'utilizzo di nanomateriali**

È vivo il dibattito se l'uso di nanotecnologie debba essere fatto oggetto di una specifica normativa; se prima dell'immissione nel mercato questi prodotti nuovi debbano essere oggetto di test particolari o di quali altre misure, anche di pubblicità nei confronti degli utilizzatori.

La risposta mondiale attuale è negativa e si afferma che non esiste una disciplina di riferimento, ma solo studi ed approfondimenti (Quagliarella, 2012).

Il prodotto nanotecnologico è ora trattato solamente come oggetto di protezione brevettuale, mentre non esiste una speciale regolamentazione in materia di produzione, manipolazione o etichettatura quando contenuto in qualche prodotto.

Le Nanotecnologie sono un campo ampio e complesso che ha in comune il solo elemento della "scala dimensionale"; perciò è difficile adottare un'unica regolamentazione, che veda un'ampia varietà di materiali e applicazioni, i limitati riscontri scientifici sulla tossicità dei nano materiali, la mancanza di standard internazionali condivisi per la valutazione del rischio. Sono al tempo stesso un settore tecnico-scientifico emergente e interessano quasi tutti gli ambiti della scienza. Le relative invenzioni si riferiscono a un ampio spettro di tecnologie, dalla scienza dei materiali all'elettronica, dalla fisica alla chimica, alla biologia. Una molteplicità disciplinare che offre ampie possibilità di ricerca e di business che – tuttavia - va tutelata con una chiara politica brevettuale e una efficace protezione.

A livello europeo non ci sono norme specifiche sui nanomateriali e i prodotti commerciali che ne vengono fabbricati; si è iniziato a regolamentare l'utilizzo di nanoparticelle presenti in cosmetica e nell'alimentazione, settori nei quali si chiede una speciale etichettatura sui prodotti cosmetici che contengono nanoparticelle. È previsto che i nanomateriali, prima di

essere immessi sul mercato alimentare, siano soggetti a specifici test secondo criteri standard per la valutazione del rischio e senza l'utilizzo di animali.

Tutti sono concordi nel ritenere necessario adattare e arricchire la normativa esistente per costruire un più efficace quadro normativo sulle nanotecnologie.

La Commissione Europea ha promosso diversi comitati tecnici e gruppi di lavoro che hanno pubblicato rassegne scientifiche sulla regolamentazione dei nanomateriali.

Sono attesi provvedimenti il cui orientamento non è ancora stato reso noto, né è ancora stato chiarito se sarà considerata prioritaria la sicurezza dei lavoratori oppure l'individuazione dei settori con il più alto livello di rischio che hanno già immesso sul mercato prodotti commerciali.

Su questo tema, esiste una "Comunicazione della Commissione al Parlamento europeo, al Consiglio e al Comitato economico e sociale europeo sugli aspetti normativi in tema di nanomateriali" datata 17 giugno 2008, che chiude affermando l'impegno di riferire sui progressi compiuti in termini di conoscenza tre anni dopo la presentazione della relazione, ma nulla al momento è stato fatto seguire.

La Commissione afferma che il termine "nanomateriali" copre termini di uso comune come nanomateriali di sintesi (o artificiali), nanostrutturati e nanometrici. La comunicazione non riguarda i nanomateriali o le nanoparticelle generati con un processo naturale o prodotti involontariamente, ad esempio con la combustione.

La Commissione ritiene che il problema a livello normativo consista nel garantire i vantaggi offerti dalle nuove applicazioni delle nanotecnologie mantenendo nel contempo un livello elevato di protezione della salute, della sicurezza e dell'ambiente.

Per gli aspetti dei nanomateriali legati alla salute, alla sicurezza e all'ambiente i testi legislativi pertinenti, applicabili contemporaneamente, sono quelli che riguardano i prodotti chimici, la protezione dei lavoratori, i prodotti e la tutela dell'ambiente.

Per la Commissione la normativa europea esistente e, correttamente applicata ed estesa al concetto di questi nuovi prodotti, può consentire di sospingersi nel loro utilizzo con una sufficiente sicurezza. I rischi possono ritenersi affrontati nell'ambito del quadro normativo vigente.

Si ritiene anche che progressivamente all'evoluzione scientifica l'attuale legislazione debba essere modificata alla luce dei nuovi dati disponibili, ad esempio per quanto riguarda le soglie massime indicate in alcuni testi normativi.

Diventerà necessario rivedere i documenti attuativi adottati nel quadro dell'attuale normativa, soprattutto per quanto riguarda la valutazione dei rischi, al fine di garantire che si affrontino in maniera efficace i rischi associati ai nanomateriali e si utilizzino al meglio le informazioni disponibili. Le autorità e le agenzie dovranno parimenti prestare un'attenzione particolare ai rischi connessi laddove la produzione e il commercio sono oggetto di un controllo precedente all'immissione sul mercato.

Al fine di elaborare, modificare e soprattutto applicare in maniera efficace la legislazione, occorre migliorare la base di conoscenze scientifiche; per questo, la Comunicazione si concentra sulla legislazione e sulla sua attuazione e sulle possibili modalità per colmare il divario di conoscenze.

In tale contesto, l'attenzione va sul Codice di Condotta per una ricerca responsabile nel settore delle nanoscienze e delle nanotecnologie. Il Codice integra la legislazione e fornisce agli Stati membri, ai datori di lavoro, ai finanziatori della ricerca, ai ricercatori e più in generale a tutti i soggetti e alle organizzazioni della società civile partecipanti o interessati alla ricerca nel settore orientamenti a favore di un approccio responsabile e aperto alla ricerca.

Il giudizio è infatti che nel complesso si possa concludere che l'attuale legislazione copre in larga parte i rischi associati ai nanomateriali e che tali rischi possono essere affrontati nell'ambito del quadro normativo vigente. È possibile che l'attuale legislazione debba essere modificata alla luce dei nuovi dati disponibili, ad esempio per quanto riguarda le soglie massime indicate in alcuni testi normativi.

I concetti riassunti dalla Commissione si illustrano in relazione a vari contesti: il primo è il regolamento REACH (Regolamento 1907/2006 CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 18 dicembre 2006), che fornisce un quadro legislativo generale applicabile alla fabbricazione, all'immissione sul mercato e all'uso di sostanze utilizzate da sole, in preparati o in articoli. Tale regolamento si basa sul principio che ai fabbricanti, agli importatori e agli utenti a valle spetta l'obbligo di fabbricare, immettere sul mercato o utilizzare sostanze che non arrechino danno alla salute umana o all'ambiente. Le sue disposizioni si fondano sul principio di precauzione.

Il regolamento REACH non contiene disposizioni che si riferiscono esplicitamente ai nano materiali, tuttavia, essi rientrano nella definizione di "sostanza" data dal regolamento. A norma del regolamento REACH, i fabbricanti e gli importatori hanno l'obbligo di presentare un fascicolo di registrazione per le sostanze fabbricate o importate in quantitativi pari o superiori a 1 tonnellata all'anno. Per quantitativi pari o superiori a 10 tonnellate all'anno il dichiarante deve presentare una relazione sulla sicurezza chimica. Inoltre, se ritenuto necessario ai fini della valutazione della sostanza, l'Agenzia europea per le sostanze chimiche può richiedere qualsiasi informazione sulla sostanza, indipendentemente dalle prescrizioni minime in materia di informazione stabilite dal regolamento REACH.

Sempre secondo il regolamento, quando una sostanza chimica esistente, già commercializzata come sostanza sfusa, viene immessa sul mercato in forma di nanomateriale (nanoforma), il fascicolo di registrazione deve essere aggiornato per includere le caratteristiche specifiche della nanoforma di tale sostanza. Il fascicolo di registrazione dovrà includere tali informazioni supplementari, comprese la diversa classificazione ed etichettatura della nanoforma e le misure aggiuntive di gestione dei rischi. Le misure di gestione dei rischi e le condizioni operative dovranno essere comunicate alla catena di approvvigionamento. Potranno essere richiesti test o informazioni supplementari. In attesa che vengano elaborati orientamenti specifici per i nanomateriali, gli studi dovranno essere effettuate sulla base degli orientamenti esistenti.

Per l'utilizzo e l'immissione sul mercato di sostanze estremamente problematiche sarà richiesta un'autorizzazione. La procedura di restrizione impone di adottare misure relative ai nanomateriali in presenza di un rischio legato alla fabbricazione, all'uso o all'immissione sul

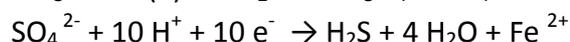
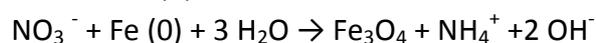
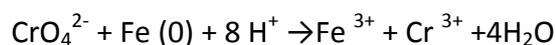
mercato. Le procedure di autorizzazione e di restrizione si applicano indipendentemente dai quantitativi fabbricati o commercializzati.

I dati elaborati nel quadro del regolamento REACH verranno utilizzati per altre normative, come quelle relative alla protezione dei lavoratori, ai cosmetici e alla tutela dell'ambiente. Il regolamento completa la legislazione sui prodotti (ad esempio, la normativa sulla sicurezza generale dei prodotti) nella misura in cui quest'ultima non tratta degli aspetti ambientali.

## 2.9 Criticità legate all'impiego di ferro zerovalente nanoscopico

Dalla lettura degli studi riportati in bibliografia e dalle prime verifiche sperimentali effettuate, sono emerse alcune criticità rispetto l'applicazione del ferro zerovalente nanoscopico che riguardano:

1. il tempo di vita dello stesso (tendenza ad agglomerarsi a causa dell'alta energia superficiale e delle interazioni magnetiche intrinseche) e la sua mobilità limitata, legata alla sua alta superficie specifica e quindi alla conseguente reattività (Taghavy, Costanza, Pennell, & Abriola, 2010);
2. passivazione del ferro per reazione con composti non target: la reattività delle nano particelle può essere influenzata dalla presenza di anioni inorganici presenti nell'acqua di falda (come  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ):



I possibili meccanismi dei loro effetti comprendono la competizione per i siti reattivi del Fe (0) (es. nel caso di  $\text{NO}_3^-$ ), la formazione di uno strato di ossido passivante che blocca l'accesso ai siti reattivi ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ), la dissoluzione dello strato di ossido di ferro che porta ad un incremento della reattività ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Cundy et al., 2008; Kim, Shea, Yang, & Kim, 2007; Ludwig et al., 2007);

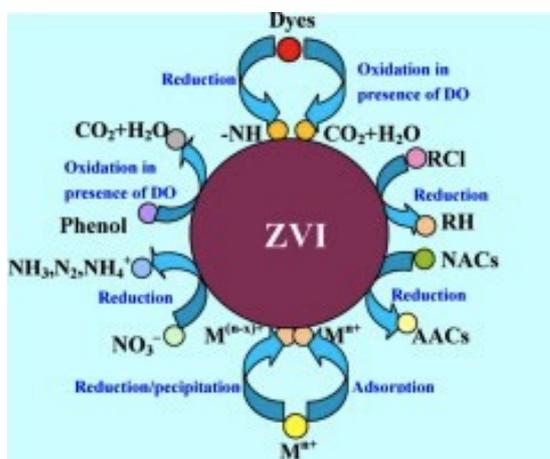


Fig 2.9: Modello schematico del meccanismo di reazione della particella di nZVI nei confronti dei diversi contaminanti (Fu, Dionysiou, & Liu, 2014).

3. Difficoltà nel predire il movimento delle particelle nelle matrici sature e insature;
4. Accumulo dei possibili intermedi che si formano nelle reazioni di degradazione;
5. Difficoltà dello scale up del sistema;
6. Problema dell'iniezione in falda delle particelle di ferro: le tecniche attualmente applicate sono le seguenti:
  - Iniezione per gravità attraverso piezometri utilizzando il naturale movimento dell'acqua di falda;
  - Iniezione diretta utilizzando un sistema di pompaggio ad alta pressione: l'utilizzo di un unico strumento per la perforazione e l'iniezione permette di velocizzare l'operazione;
  - Tubi a manchette: la compatibilità ambientale di questo metodo deve essere verificata in particolare l'introduzione di tubazioni di cemento nell'acquifero;
  - PTT (pressure pulse technology): la tecnologia applica una pressione con pulsazioni a larga ampiezza che facilitano l'avanzamento dello slurry attraverso il mezzo poroso;
  - Iniezione pneumatica: si utilizza come carrier gas pressurizzato (aria o  $N_2$ ). Il ferro può essere anidro o in forma di aerosol, in questo caso la tecnica è chiamata liquid atomization injection;
  - Frattura idraulica: acqua, sabbia e un gel denso vengono utilizzati per creare distinte fratture superficiali che possono essere riempite con sabbia o altro materiale granulare

Queste tecniche di iniezione possono essere classificate in base al livello di alterazione che producono nella struttura del mezzo poroso: nella frattura pneumatica o idraulica, per esempio, il suolo viene fratturato. Nella PPT e nella iniezione pneumatica non preceduta da frattura possono essere considerate tecnologie intermedie dal momento che si produce solo una espansione temporanea dei pori.

7. Riduzione della permeabilità a causa della produzione di idrogeno;
8. Possibili effetti tossici del ferro zerovalente nanoscopico: ricerche sulla ecotossicità sono necessarie per valutare la possibilità di un effetto tossico sull'ambiente dell'uso di nano particelle di ferro.

Ci sono ancora scarse informazioni sulla tossicità microbica delle particelle di nZVI e gli studi pubblicati hanno ristretto il campo agli effetti sui singoli ceppi batterici, più che su comunità batteriche e solo per scarsi tempi di esposizione (5 minuti o 1 ora), in acqua deionizzata o soluzioni tampone sterili. Il meccanismo di azione sembra essere l'alterazione dell'integrità cellulare che risulta dall'inattivazione o incremento dell'effetto biocida del ferro disciolto. Inoltre la reazione del Fe (II) con il perossido di idrogeno intracellulare (reazione di Fenton) o con l'ossigeno può indurre stress ossidativo mediante la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Altri possibili meccanismi di tossicità sono la distruzione dell'integrità delle membrane cellulari o l'alterazione delle catene di trasporto degli elettroni e degli ioni nonostante il massiccio assorbimento delle nanoparticelle ossidanti sulla parete cellulare batterica (Crane & Scott, 2012; Cullen & Reimer, 1989; Nowack & Bucheli, 2007).

### 2.9.1 Possibili soluzioni per evitare l'aggregazione del Ferro nanoscopico

Il problema dell'aggregazione potrebbe essere risolto attraverso i seguenti metodi:

- dispersione con surfactanti (PV3A- polyvinyl alcohol-co-vinyl acetate-co-itaconic acid) emulsione con oli vegetali e tensioattivi (SDS sodiododecilsolfato, Tween 80, HDTMA, Bromuro di Esadeciltimetilammonio) ottenendo delle strutture tipo colloidali o delle emulsioni che aumentano la mobilità delle nanoparticelle e minimizzano la loro aggregazione, stabilizzandole (Sun, Li, Zhang, & Wang, 2007b; Yang & Chang, 2011);
- incapsulamento in strutture liposomiali: l'incapsulamento di nZVI all'interno di una membrana idrofobica protegge il ferro nanometrico dagli altri costituenti presenti nella falda, ad esempio composti inorganici non target, come nitrati, perclorati e Cr (VI), che potrebbero interagire con nZVI, riducendone la disponibilità per il contaminate target e quindi aumentando i costi e i tempi del risanamento. Inoltre, la parte lipofila esterna del liposoma faciliterebbe il contatto con la zona DNAPL presente nel plume di contaminazione favorendo l'interazione tra ferro nanoscopico e composto clorurato target; (Foldvari et al., 1988; Asashi et al., 1996)
- supporto delle particelle su carbone attivo: le particelle di nZVI possono essere legate a nano particelle di carbone attivo colloidale che sono utilizzate come supporto. La combinazione del carbone attivo come assorbente e nZVI come riducente incrementa la velocità della reazione e migliora la distribuzione nel mezzo. Il carbone attivo non è tossico ed è relativamente economico come supporto (Adventus Europe Ghmb et al., 2010);
- uso di un secondo metallo, come Pd, Pt, Ag o Ni: depositando, sulla superficie delle particelle di ferro, un altro metallo si ottengono delle cinetiche di degradazione molto più veloci che riducono notevolmente i tempi della bonifica e prevengono la formazione di composti secondari potenzialmente tossici ( Elliot et al., 2001, Barnes et al., 2010; Li et al., 2006; Xu, Zhou, He, & Hao, 2005).

### 3. Materiali e metodi

Per avviare l'attività di ricerca è stato innanzitutto necessario l'allestimento di un laboratorio atto alla preparazione di nanoparticelle di nZVI e il trattamento dei composti organici. Il laboratorio è stato quindi equipaggiato con una linea di azoto (per tutte le operazioni da effettuare in atmosfera inerte) e con un glove box (vedi foto Fig 3.1) ovvero un ambiente chiuso ed attrezzato all'interno del quale è possibile operare in vuoto o in atmosfera inerte.



Fig 3.1: glove box utilizzato per la sintesi delle formulazioni di nZVI in atmosfera inerte.

Nella preparazione dei campioni per l'analisi degli elementi in tracce e per tutte le operazioni routinarie di laboratorio (lavaggi, diluizioni) e dove non altrimenti specificato è stata utilizzata "acqua Milli-Q", acqua deionizzata col sistema Milli-Ro/Milli-Q (Millipore, Milano, Italia).

Tutte le soluzioni adoperate sono state preparate utilizzando reagenti di grado analitico e disciolti ove necessario, in acqua Milli-Q.

Per la sintesi del nZVI sono stati utilizzati:  $\text{FeCl}_3$  della Sigma Aldrich al 97% di purezza, ferro (II) solfato eptaidrato  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  al 99,5% della Applichem,  $\text{NaBH}_4$  sempre della Sigma-Aldrich al 98% di purezza. Il Tricloroetilene e il tetracloroetilene utilizzati per lo studio delle reazioni cinetiche sono della Romil e hanno una purezza del 99%.

E' stato utilizzato il ferro nanoscopico commerciale denominato RNIP (*Reactive bare Nano Iron Particles*) della Toda Kogyo Corp (Tokyo, Japan): si tratta di un prodotto brevettato costituito da particelle di  $\text{Fe}(0)$  poste al centro (*core*) racchiuse da un guscio di  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetite), aventi una dimensione intorno ai 70 nm. Viene preparato a partire da  $\text{FeSO}_4$  per cristallizzazione e formazione di ossidi di ferro che vengono poi ridotti a  $\text{Fe}(0)$  in presenza di  $\text{H}_2$ . La preparazione ha una % di  $\text{Fe}(0)$  attorno al 60% del totale.

Per la preparazione delle particelle bimetalliche è stato utilizzato: Potassio esacloropalladiato (VI) al 99% della Aldrich,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  al 99,6% della sigma, Nichel solfato esaidrato al 99% della Sigma Aldrich, Cloruro di platino (III) al 98% della Aldrich, rame (II) solfato pentaidrato al 98% della Sigma Aldrich.

Come solventi sono stati impiegati metanolo e etanolo al 96%, entrambi della Carlo Erba.

Per le preparazioni stabilizzate di nZVI è stata utilizzata la gomma guar della Sigma Aldrich.

Per la preparazione delle emulsioni sono stati impiegati oli vegetali e surfattanti biodegradabili (olio di semi di soia al 10% w/w e una miscela di Tween 40 e Span 80 3% w/w), mentre per la preparazione dei liposomi è stata utilizzata una miscela di fosfolipidi commerciali denominata asolectina (25% lecitina, 25% cefalina, 25% fosfatidilinositolo e acidi grassi).

Come standard interno nelle analisi cromatografiche sono stati usati esano, cicloesano e xilene .

Sono state utilizzate vials di vetro da 10 ml con tappo "a crimp" e da 43 ml con tappo a vite, entrambe con setto forabile in Teflon fornite da Vetrotecnica.

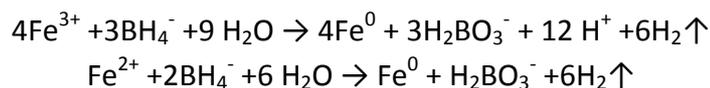
### 3.1 Sintesi di Ferro Zerovalente Nanoscopico.

Ci sono diversi metodi in letteratura che riportano la preparazione di nZVI:

- Reazione di ferro cloruro con sodio boroidruro in acqua;
- Reazione di ferro solfato con sodioboroidruro in acqua;
- Riscaldamento del pentacarbonilferro, comunemente noto come ferro pentacarbonile  $\text{Fe}(\text{CO})_5$ , a 200-250 °C. Le dimensione delle particelle che si formano sono approssimativamente di 5 nm (Karlsson, Deppert, Wacaser, Karlsson, & Malm, 2004) ;
- Reazione di ossidi di ferro con idrogeno con produzione di particelle nZVI nel range dimensionale di 200-300 nm.

Dopo un attento esame si è deciso di focalizzare la nostra ricerca su due metodi base descritte nei paragrafi sottostanti: reazione di ferro cloruro con sodioboroidruro in acqua ( par 3.1.1) e reazione di ferro solfato con sodioboroidruro (par 3.1.2).

#### 3.1.1 Reazione di ferro cloruro con sodio boroidruro in acqua.



La metodica prevede che ad una soluzione di  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  vengano aggiunti lentamente  $\text{NaBH}_4$  in rapporto 1:1 (v/v).

In laboratorio, è stata preparata una soluzione di  $\text{FeCl}_3$  (0,018 M) pesando 0,30 g di  $\text{FeCl}_3$  e solubilizzandolo in 10 ml di acqua milli-Q disareata. A questa soluzione, mantenuta in agitazione, è stata aggiunta mediante lento gocciolamento in atmosfera inerte, un egual volume di una soluzione di  $\text{NaBH}_4$  (0,094 M) ottenuta pesando 0,36 g di  $\text{NaBH}_4$ . Si è

osservata la formazione istantanea di un precipitato nero e lo sviluppo di H<sub>2</sub> gassoso. Notare che l'eccesso di sodio boroidruro è necessario per accelerare la sintesi e assicurare la uniforme crescita dei cristalli di ferro, anche se la sintesi a concentrazioni inferiori e utilizzando lo ione ferroso (Fe<sup>2+</sup>) funziona ugualmente (W.-X. Zhang, 2003).

La soluzione è stata lasciata gorgogliare fino alla cessazione dello sviluppo di bollicine.

Al termine della riduzione, la soluzione che presenta del solido sospeso di colore nero, è stata lasciata decantare e quindi è stata filtrata sotto vuoto utilizzando un gouthche con porosità 0,22 µm: tale procedura è stata eseguita all'interno di un glove box sotto atmosfera di azoto.

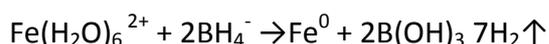
Il palloncino di reazione e il precipitato depositato sul gouthche sono stati lavati 4 volte con acqua milli-Q disareata e infine tre volte con etanolo assoluto disareato in modo da eliminare ogni possibile traccia inorganica e organica.

Il solido di colore nero è stato quindi trasferito con l'aiuto di una spatola di plastica, in un contenitore chiuso.

Il nZVI così prodotto, è rimasto di colore nero anche dopo mesi dalla sua preparazione, anche se alcuni autori (Lien & Zhang, 2001) hanno riportato una variazione di colore del nZVI che da nero tende a virare al marrone in poche ore e poi a rossiccio nel giro di qualche giorno, segno della formazione di ossidi (ruggine) sulla superficie delle particelle di ZVI.

### 3.1.2 Reazione di ferro solfato con sodioboroidruro.

La preparazione è stata eseguita seguendo la procedura che prevede la riduzione di un precursore salino del metallo con opportuno reagente in atmosfera inerte (Bonomo, 2005).



Le quantità sono state ridotte di circa 1:20 per effettuare le prove sperimentali.

A 0,785 g di FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, disciolti in 10 ml di acqua milli-Q precedentemente disareata con azoto, è stata aggiunta una quantità di NaOH tale da portare il pH da 4 a 6,5. La soluzione, da verde acqua chiaro, assume un colore verde smeraldo intenso a prova del viraggio verso un pH neutro. Sempre sotto atmosfera di azoto sono stati quindi gocciolati lentamente 3,3 g di NaBH<sub>4</sub> (circa 7.9 millimoli) in soluzione acquosa ottenuta aggiungendo 10 ml di acqua milli-Q disareata con azoto; l'aggiunta del riducente ha provocato istantaneamente la formazione di idrogeno nella soluzione ferrosa con comparsa di effervescenza. La soluzione dopo viraggio dal verde smeraldo al nero, a prova della produzione di particelle di nZVI, è stata quindi lasciata decantare sempre in atmosfera inerte sotto cappa per una notte. In seguito è stato possibile osservare la totale deposizione del solido di colore nero con separazione della fase acquosa limpida. La soluzione mantenuta sotto azoto è stata esaminata a una distanza di 10 giorni: presenta ad un esame visivo le stesse caratteristiche ottenute al termine della reazione.

Successivamente, la soluzione è stata filtrata a vuoto su membrana da 0,22  $\mu\text{m}$ , all'interno di un glove box pretrattato con cicli di vuoto-azoto. Il palloncino di reazione e il sistema di filtrazione sono stati lavati quattro volte con acqua milli-Q disareata e infine con etanolo disareato, in modo da eliminare ogni possibile traccia inorganica e organica.

Il solido, di colore nero, è stato quindi trasferito con l'aiuto di una spatola di plastica, in un contenitore chiuso (Fig. 3.2)



**Fig 3.2: nZVI sintetizzato e conservato in metanolo.**

Esaminando le metodologie citate in letteratura per la sintesi di particelle di nZVI, la nostra scelta si è concentrata sull'utilizzo di Cloruro ferrico e sodio boroidruro.

La sintesi prevede l'utilizzo di un largo eccesso di agente riducente per accelerare la reazione e per favorire la nucleazione di particelle rispetto alla crescita molecolare in modo da garantire un miglior controllo sulle dimensioni delle particelle.

Il principale vantaggio di questo metodo è la sua relativa semplicità: esso necessita di due reagenti molto comuni, di attrezzature da laboratorio molto semplici e di condizioni di reazione blande ( $T_{\text{amb}}$ ,  $P_{\text{amb}}$ , pH intorno al neutro) che rendono tale metodo sia estremamente versatile e idoneo per preparare le varie formulazioni di nZVI che scalabile a livello industriale.

È un metodo dotato di flessibilità per essere utilizzato per ottimizzare le diverse formulazioni di nZVI a seconda della necessità. Questo metodo di preparazione di nZVI permette, infatti, di preparare direttamente le particelle di nZVI nella matrice porosa, opportunamente funzionalizzata, facendo confluire simultaneamente e separatamente le due soluzioni di reagenti in modo da permettere l'immobilizzazione man mano che le particelle vengono generate. Questo permetterebbe di minimizzare l'aggregazione delle particelle, stabilizzandole all'interno di un eventuale supporto.

## 3.2 Altri metodi preparativi

### 3.2.1. Preparazione delle particelle bimetalliche di nZVI con diversi metalli in % variabili

La preparazione “base” delle nano particelle di nZVI è stata eseguita effettuando la riduzione di un precursore salino del metallo con opportuno reagente in atmosfera inerte (Tiraferri et al., 2008). Sono state effettuate alcune prove preventive per la sintesi di nZVI bimetallico: nello specifico sono state preparate particelle con Ni/Fe partendo da Sali precursori solfati e Co/Fe partendo da precursori clorurati.

Alla sintesi è seguita l’analisi dei metalli in spettroscopia di assorbimento atomico, al fine di valutare la reale % di bimetallo disperso sulle nano particelle.

Per fare questo è stata preparata una soluzione di  $\text{HNO}_3$  0,1 M partendo da una quantità nota di formulazione solida e successivamente sono state valutate le percentuali in peso e molari effettive del metallo disperso sul Fe.

### 3.2.2 Sintesi di Ni/Fe 3% molare da $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

La preparazione di nano particelle bimetalliche di Ni/Fe è stata eseguita come descritto nel paragrafo 3.1.2. (Tiraferri et al., 2008; Taghavy et al, 2010): la quantità molare di reagenti è stata la medesima riportata in letteratura, con 2,82 mmoli di ioni metallici totali (quindi ioni Fe+Ni) diluiti a 10 ml con acqua milli-Q, portati a pH 6,5 circa con una soluzione di NaOH 4M (circa tre pipettate Pasteur)e ridotti con 10 ml di soluzione acquosa disareata di 0,3 g, circa 7,9 mmoli di  $\text{NaBH}_4$ .

Le nano particelle così preparate sono state filtrate in vuoto su membrana da 0,22  $\mu\text{m}$  in atmosfera inerte, lavando il pallone di reazione più volte con acqua milli-Q disareata e con etanolo assoluto disareato.

Il solido nero ottenuto è stato trasferito in un contenitore chiuso. Per l’analisi della percentuale di Ni effettivamente disperso su Fe è stata prelevata una aliquota di circa 10 mg di solido (più omogeneamente possibile) la quale è stata a sua volta disciolta in  $\text{HNO}_3$  0.1 M in matraccio da 50 mL per la successiva analisi in assorbimento atomico.

La dissoluzione del solido è stata lenta e ha portato alla formazione di una soluzione color arancio.

### 3.2.3 Sintesi di Co/Fe 1% molare da $\text{FeCl}_3$ e $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Per la preparazione della nano particelle di Co disperso su Fe sono state effettuate diverse prove, ognuna con una differenza procedurale: (Zin, Borja, Hinode, & Kurniawan, 2013):

- Riduzione simultanea dei precursori clorurati con  $\text{NaBH}_4$  –prova 1;
- Addizione del precursore di Co solido alle nano particelle di Fe zerovalente sintetizzate ma ancora nella soluzione di riduzione (ovvero nello stesso pallone di reazione ma post riduzione e prima della filtrazione)- prova 2;

- Addizione delle nano particelle di Fe zerovalente solide, ovvero dopo filtrazione, a soluzione acquosa del precursore di Co-prova 3.

La quantità di Co è stata stabilita in base alla letteratura. Si è scelto di effettuare prove esplorative col cobalto e non con altri metalli più interessanti nella ricerca come ad esempio Pt o Pd poiché questi ultimi sono più costosi.

In tutte le prove la metodica seguita è stata quella riportata in procedura descritta nel paragrafo 3.1.2., con le medesime quantità di reagenti.

- $1,8 \cdot 10^{-3}$  moli di  $\text{FeCl}_3$  (0,292 g) in 10 ml di acqua milli-Q disareata;
- $9,4 \cdot 10^{-3}$  moli di  $\text{NaBH}_4$  (0,355 g) in 10 ml di acqua milli-Q disareata

ai quali sono stati aggiunti, in tempi diversi a seconda della prova ma sempre lavorando in atmosfera inerte

- $1,8 \cdot 10^{-5}$  moli di  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,004 g) in 10 ml di acqua milli-Q disareata.

Al termine di ogni prova è stata effettuata una filtrazione in vuoto sotto atmosfera inerte in glove box pretrattato con cicli vuoto-azoto su membrana da  $0,22 \mu\text{m}$ , lavando i palloncini di reazione e il reattore stesso più volte con acqua milli-Q disareata e con etanolo assoluto disareato, in modo da eliminare ogni possibile traccia inorganica e organica.

Il solido nero ottenuto è stato quindi trasferito con l'ausilio di una spatola in plastica, in un contenitore chiuso. Per l'analisi della percentuale di Co effettivamente disperso su Fe è stata prelevata una aliquota di solido (più omogeneamente possibile) la quale è stata a sua volta disciolta in  $\text{HNO}_3$  0,1 M in matraccio da 50 ml per la successiva analisi in assorbimento atomico.

La dissoluzione del solido è stata lenta e ha portato alla formazione di soluzioni di colori variabili dal giallo pallido all'arancio.

L'efficienza delle varie procedure preparative è stata valutata mediante spettroscopia di assorbimento atomico con la quale è stato possibile stimare il metallo effettivamente disperso in relazione a quello teorico. Lo strumento utilizzato è uno Spectra 250 Plus Varian. È uno strumento a doppio raggio, con correttore di fondo a sorgente continua (lampada a deuterio). Può essere utilizzato nella configurazione con bruciatore ad aria/acetilene, per la determinazione degli elementi a concentrazione maggiore, oppure nella configurazione con fornello di grafite (modello GTA-96 Varian), per gli elementi a concentrazione più bassa. L'analisi con fornello di grafite è agevolata dalla possibilità di montare un auto-campionatore a piatto rotante con gestione automatica programmabile fino a 50 campioni; i tubi utilizzati sono in grafite pirolitica.

### 3.2.4 Utilizzo del Palladio come catalizzatore

In letteratura è riportato che l'aggiunta di questo metallo, in percentuali dell'ordine dello 0,1-0,2 % molare o w/w, aumenta notevolmente la reattività delle formulazioni nella reazione di dealogenazione riduttiva di composti policlorurati: tale effetto è dovuto probabilmente alle sue caratteristiche di catalizzatore nelle reazioni di riduzione (Lien & Zhang, 2001).

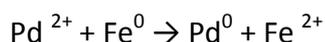
Anche se il ruolo del palladio nella veloce e completa dechlorinazione degli inquinanti non è ancora stata del tutto compresa, si ipotizza che l'idrogeno intercalato all'interno della struttura reticolare del Pd possa svolgere un ruolo di potente agente riducente per la reazione di dechlorinazione: in ogni caso la presenza del palladio sulla superficie del ferro nanoscopico sicuramente forma delle celle galvaniche (bimetalliche) che promuovono la reazione di corrosione del ferro mediata dal rilascio di elettroni (Cheng, Fernando, & Korte, 1997).

Ricerche più recenti (Liu, Majetich, Tilton, Sholl, & Lowry, 2005; Schrick, Blough, Jones, & Mallouk, 2002) hanno proposto un modello *core/shell*: la lega che si forma tra il metallo e la superficie della particella di nZVI si ossida meno velocemente che il nZVI da solo garantendo la formazione di un core di Fe(0), che va a dechlorinare il TCE, e un guscio costituito da ossidi di ferro e il catalizzatore incorporato a protezione del Fe(0).

L'aggiunta di palladio può portare alla completa riduzione di composti clorurati come PCE, TCE, 1,1 DCE, c-DCE e t-DCE alla completa dechlorinazione ad etano (Muftikian, Fernando, & Korte, 1995).

Una piccola quantità di Pd (intorno allo 0,05 % w/w) viene fatto depositare sulla superficie del metallo per incrementare la stabilità nanoscopica del nZVI e la sua reattività.

Il ferro "palladizzato" è preparato aggiungendo le particelle di nZVI appena preparate in una soluzione di etanolo contenente l' 0,1% w/w di palladio acetato ( $\text{Pd}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ )<sub>3</sub>. Questo causa la riduzione e deposizione di Pd sulla superficie delle particelle di nZVI (Wang & Zhang, 1997; Xu & Zhang, 1997; W. Zhang, Wang, & Lien, 1998) secondo la reazione:



I dati riportati in letteratura mostrano come alla diminuzione della concentrazione di TCE nella soluzione corrisponda una parallela e immediata comparsa di etano (circa 87%) e di tracce di etene, la cui concentrazione si aggira intorno al 5,8-7,1%.

Questi dati sono in accordo con quanto riportato in letteratura per quanto riguarda il nZVI senza palladio, dove etano e etene sono i maggiori sottoprodotti della reazione di dealogenazione (Orth & Gillham, 1996).

Per tutte le formulazioni testate, sono state effettuate analisi strutturali principalmente mediante microscopia elettronica a scansione SEM e spettroscopia di foto correlazione PCS, Nello specifico le analisi mediante PCS hanno permesso di valutare la distribuzione dimensionale delle particelle in un range compreso tra 1 e 5000 nm (par 4.1).

### **3.3 Stabilizzazione del Ferro zerovalente nanoscopico sintetizzato**

#### **3.3.1 Stabilizzazione mediante emulsione *Tween-Span***

Al fine di aumentare la stabilità nanoscopica di nZVI prevenendone l'aggregazione, è stato condotto un primo esperimento emulsionando le particelle nanoscopiche di ferro (in concentrazione di 10 g/l) con una miscela composta da oli vegetali e surfattanti biodegradabili (olio di semi di soia 10% w/w e una miscela 3% w/w di Tween 40 e Span 80 ad HLB=8), partendo da una concentrazione di circa 1 g/l di contaminante TCE.

La cinetica di reazione è stata condotta mediante GC/FID con colonna specifica ZB-624, pretrattando le aliquote acquose da 400 µl mediante estrazione liquido-liquido con 350 µl di etere dietilico contenente anche lo standard interno xilene alla concentrazione fissa di 100 mg/l.

#### **3.3.2 Stabilizzazione mediante emulsione *Nanocream Sinerga***

Al fine di trovare una formulazione facile da gestire e in grado di tenere disperse le particelle di nZVI, è stata preparata la seguente nanoemulsione:

- 128 mg di emulsionante (nanocream Sinerga);
- 128 mg di olio di mais;
- 128 mg di Fe;
- 10 mL di H<sub>2</sub>O.

La Nanocream Sinerga è una miscela di emulsionanti di origine vegetale, quindi compatibile dal punto di vista ambientale, una combinazione brevettata tra lipoamminoacidi (Potassium lauroyl Wheat amino acids), gliceridi di palma e capryloyl glycyne.

È un emulsionante innovativo indicato per la preparazione di emulsioni O/A (olio in acqua) liquide caratterizzate dalle piccole dimensioni delle goccioline lipidiche (100-300 nm), quindi indicata per la creazione di nanoemulsioni. Viene utilizzata perché crea spontaneamente goccioline di dimensioni nanoscopiche all'interno della fase dispersa (acquosa) quando viene aggiunta una fase oleosa, come un olio di mais. Altra caratteristica importante del preparato è la possibilità di ottenere emulsioni estremamente stabili, con una distribuzione dimensionale delle particelle molto ben definita e con una bassa viscosità che ne consente la filtrazione.

L'olio di mais e la polvere di Fe (0) aggiunti sono stati posti in un mortaio e mescolati sino ad ottenere una miscela omogenea. Questo mix è stato poi aggiunto all'emulsione sotto agitazione magnetica. Una volta ottenuta una miscela omogenea, il tutto è stato scaldato a 50°C (utilizzando un bagnetto di acqua) ed è stata aggiunta H<sub>2</sub>O alla medesima temperatura. Il sistema è stato mantenuto sotto agitazione per 10-15 min., in seguito è stata effettuata l'analisi dimensionale.

### 3.3.3 Stabilizzazione mediante liposomi

Per ottenere delle strutture dimensionalmente ancor più stabili, sono state effettuate prove esplorative di incapsulamento del nZVI all'interno di membrane artificiali al fine di limitare fisicamente l'aggregazione e proteggerlo dall'azione dei composti inorganici non target, come ad esempio, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>.

Seguendo quanto riportato in letteratura (Asashi, Miyata, Itoh, & Kinoshita, 1996; Foldvari, Faulkner, & Mezei, 1988), è stata estrapolata una metodica di preparazione che parte da una miscela di fosfolipidi reperibile in commercio (*Asolectina*- Sigma Aldrich), da cui si ottengono liposomi per evaporazione in fase inversa (REV).

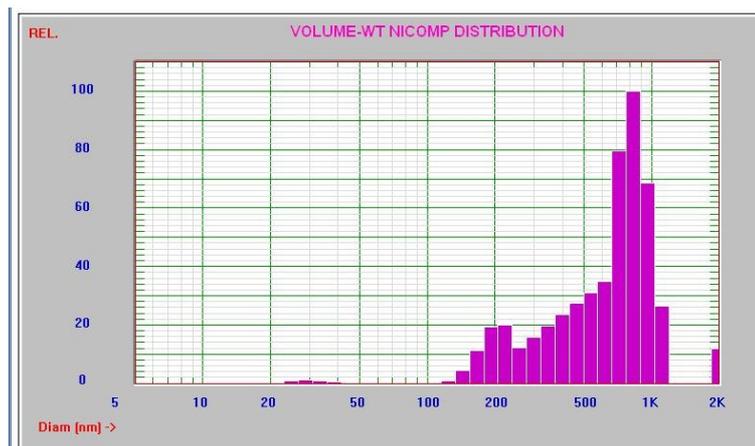
In particolare, sono stati disciolti una quantità variabile di *asolectina* in 30 ml di etere dietilico (concentrazione iniziale 40 g/l) che vengono addizionati con 10 ml di acqua milli-Q e trattati in bagno ultrasuoni (10 minuti al 99% di potenza in acqua e ghiaccio).

A questo punto, il composto è stato fatto evaporare con evaporatore rotante (temperatura del bagno 70°C) fino ad osservare dapprima la formazione di un gel e successivamente la rottura dello stesso. Al termine la formulazione è stata idratata con 20 ml di una soluzione acquosa contenente Tween 40% 5% v/v e trasferita in frigo a 0°C. Sono state eseguite diverse prove utilizzando diverse concentrazioni di *asolectina* (0,6 g, 1,2 g, 2,4 g ovvero la metà, la stessa quantità e il doppio di quanto indicato in letteratura), aggiungendo 10 mg di nZVI.

In alcuni campioni la soluzione acquosa contenente i 10 mg di nZVI è stata pretrattata con ultrasuoni mentre in altri campioni la sospensione non ha subito alcun trattamento: questo per verificare se la sola sonicazione "contemporanea" della *asolectina* e della sospensione sia o meno sufficiente per un ottimale ridimensionamento delle stesse.

Inoltre alcuni campioni (25,26) sono stati trattati anche con uno stabilizzante, la *gomma guar*, che, stando ai dati di letteratura, ha effetti positivi sulla dispersione e stabilizzazione delle nanoparticelle. In questo caso alla sospensione acqua-MQ e nZVI sono stati aggiunti 32,5 mg di *gomma guar* e il tutto è stato sottoposto a sonicazione per 30 minuti al 99% di potenza.

I campioni così ottenuti sono stati poi analizzati mediante PCS per ottenere un'indicazione di efficienza del trattamento attraverso l'analisi dimensionale delle particelle. In figura XX è riportata una tipica distribuzione dimensionale delle particelle nZVI preparate.



**Fig 3.3:** grafico riportante la distribuzione dimensionale delle particelle relative al campione 16, contenente 0,6 di asolectina, privo di nZVI senza pretrattamento e senza gomma guar ottenuto mediante PCS.

Successivamente, è stato portato avanti uno studio esplorativo sulla cinetica della reazione del nZVI con tricloroetilene (TCE) a concentrazioni mediamente presenti nel plume di contaminazione (i limiti di legge per le concentrazioni di TCE sono rispettivamente 10 ppb per le acque superficiali e 1 ppb per le acque sotterranee), quindi molto più basse di quelle da noi utilizzate in precedenza, al fine di valutarne la reattività nella degradazione e di ottimizzare le condizioni operative alle concentrazioni di inquinante che normalmente sono presenti in falda.

Partendo da concentrazioni vicine a quelle ipotizzabili per un inquinamento della falda, abbiamo operato ad una concentrazione di TCE fino ad un massimo di 10.000 volte il valore soglia ammesso per legge (10 mg/l) .

La quantità di nZVI utilizzata è stata di 100 volte maggiore rispetto al TCE ovvero si è deciso di lavorare in largo eccesso di nZVI sia per ridurre gli effetti sulla cinetica di reazione dell' eventuale ossidazione con substrati diversi dal TCE, sia per ridurre gli effetti di aggregazione del nZVI, sia per avere una cinetica di reazione riconducibile ad uno pseudo-primo ordine.

In queste seconde prove sperimentali è stato deciso di focalizzare l'attenzione sul contaminante TCE essendo, oltre che un contaminante esso stesso, anche uno dei principali prodotti di dealogenazione del PCE (Fagerlund, Illangasekare, Phenrat, Kim, & Lowry, 2012; Taghavy, Costanza, Pennell, & Abriola, 2010).

Le prove cinetiche sono state effettuate utilizzando una gas cromatografia accoppiata ad una spettrometria di massa per valutare la scomparsa del TCE e la eventuale comparsa di prodotti di reazione.

La reazione è stata condotta trasferendo la formulazione di nZVI in 5 vials da 10 ml completamente riempite con una soluzione di TCE in acqua milli-Q alla concentrazione di 10 mg/l.

Le vials dotate di tappo in silicone/teflon sono state sigillate, sonicate per 30 secondi a 20°C unicamente per consentire la dispersione del nZVI, successivamente sono state trasferite in un agitatore rotante posto in stufa termostata a 35°C e sono state agitate per tutto il tempo della reazione a 600 rpm (Thangavadivel, Wang, Birke, & Naidu, 2013).

A tempi diversi (15 minuti, 30 minuti, 60 minuti, 120 minuti, 180 minuti) sono stati prelevati 500 µl di soluzione con siringa di vetro, filtrati con filtro da 0,22 µm e trasferiti in una seconda vials da 6 ml con tappo in silicone teflon sigillata. Abbiamo atteso 1 minuto che si creasse l'equilibrio tra la fase liquida e la fase vapore, poi abbiamo prelevato 0,25 ml (250 µl) di spazio di testa che è stato iniettato in colonna.

Per il calcolo della costante cinetica si è deciso, basandosi sulla letteratura esistente (Liu et al., 2005), su pubblicazioni specifiche (Tamburini & Flor, 2009), dato il rapporto molare dei reagenti (1:100 circa), di considerare la reazione come governata da una cinetica di pseudo primo ordine secondo la formula:

$$C/C^{\circ} = e^{-k_{\text{obs}} t}$$

ovvero

$$\ln (C^{\circ}/C) = k_{\text{obs}} t$$

### 3.3.4 Stabilizzazione mediante polimeri *green*

L'utilizzo di polimeri green come i polisaccaridi ad alto PM di natura colloidale (Gomma guar, gomma xantan, gomma arabica, PV3A, ecc.) è da tempo noto e dibattuto in letteratura (Soumya, Ghosh, & Abraham, 2010; Tiraferri & Sethi, 2008; Velimirovic, Chen, Simons, & Bastiaens, 2012).

La gomma di Guar è una sostanza naturale che in acqua può formare un idrocolloide. Viene ricavata dalla macinazione dell'endosperma dei semi del *Guar Cyamopsis tetragonoloba*, una pianta erbacea delle leguminose tipica dell'India e del Pakistan, i cui semi sono utilizzati localmente per scopi alimentari da secoli. La Gomma Guar è un polisaccaride idrocolloidale costituito da galattomannani ad alto PM. I galattomannani sono polimeri costituiti da catene lineari di monomeri di mannosio legati tra loro mediante legami glicosidici β- (1→4) che presentano ramificazioni con legami α- (1→6) con unità monosaccaridiche di galattosio.

Le percentuali dei due monomeri sono dell'ordine del 61% di mannosio e 39% di galattosio, mentre il peso molecolare del polisaccaride è dell'ordine di 180.000-200.000 Dalton

La stabilizzazione da parte della gomma Guar avviene probabilmente grazie all'azione chelante di gruppi OH vicinali nei confronti delle particelle di Ferro.

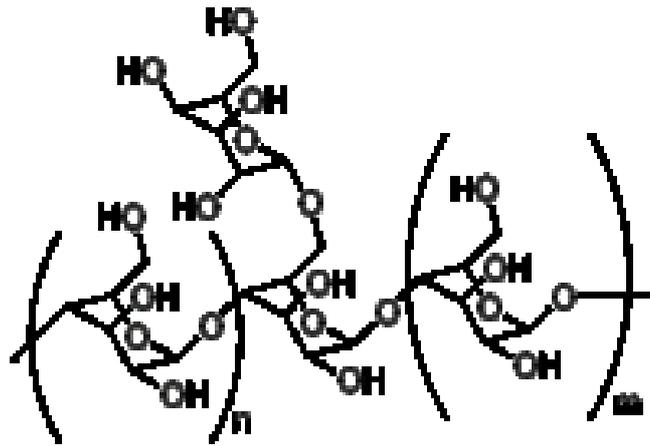


Fig 3.4 Galattomannano ad alto PM costituente la Gomma Guar.

E' riportato in letteratura (Tiraferri & Sethi, 2008; Velimirovic et al., 2012) come la gomma Guar effettivamente riduca il raggio idrodinamico delle particelle di nZVI e prevenga l'aggregazione delle stesse anche ad alte concentrazioni di sali come NaCl e CaCl<sub>2</sub>.

Confrontata con altri polimeri di natura colloidale, come ad esempio l'amido di patata e gli alginati, è evidente come la gomma Guar sia il polimero migliore sia in termini di aggregazione delle particelle che di sedimentazione delle stesse.

Poiché non ha gruppi funzionali dissociabili, la Guar rimane a carica neutra. Alcuni studi (L. Zhang & Fang, 2010) ne hanno dimostrato l'efficacia nell'incrementare la stabilizzazione della sedimentazione di alcuni fluidi magneto-reologici.

In sostanza, esistono due modi per stabilizzare una sospensione di nZVI tramite polimeri:

1. Elettrostatico: si tratta di un aumento della carica superficiale delle particelle per aumentarne la repulsione;
2. Sterico: si ottiene facendo assorbire sulla superficie della particella dei polimeri a lunga catena che tengono distanziate le particelle.

La Gomma Guar ha la capacità di ricoprire le particelle di Fe(0) creando un sottile strato a carica negativa, inoltre ha la capacità di stabilizzare le particelle di nZVI attraverso un fenomeno di repulsione sterica che stabilizza le dimensioni nanoscopiche delle particelle riducendo l'aggregazione e la sedimentazione (Tiraferri & Sethi, 2008).

I dati presenti in letteratura mostrano che tutti gli esperimenti riguardanti l'aggregazione delle particelle sono stati condotti ad una concentrazione di 154 mg/l di nanoparticelle e 500 mg/l di gomma guar (rapporto circa 3,25:1).

Quindi, si è proceduto con due diverse preparazioni di Ferro nZVI:

- nZVI preparato con il metodo usuale;
- preparazione commerciale RNIP.

Quest'ultima (*Reactive bare nanoiron particle*), è prodotta dalla Toda Kogyo Corp. (Matsui, 2008). Si tratta di una struttura a multilayer in cui un *core* di Ferro metallico nanoscopico è racchiuso in un guscio di magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Generalmente viene anche ricoperto da una piccola percentuale di un polimero con proprietà elettrosteriche (come l'acido polimaleico). Questa struttura mantiene la reattività del nZVI, ma permette di isolare la struttura reattiva rendendo il nZVI gestibile e trasportabile.

RNIP viene fornito come polvere e può essere disperso con una semplice procedura di laboratorio.

La semplicità nella preparazione e il basso costo rendono un composto particolarmente interessante per la applicazione in situ ma non è ancora chiarito se sia in grado di de-clorinare il TCE in maniera efficiente come il nZVI (Liu et al., 2005).

Secondo la procedura riportata in letteratura, (Tiraferrì & Sethi, 2008), si parte da una soluzione 300g/l di RNIP che viene diluita fino a 3 g/l.

Dal punto di vista operativo, quindi, la quantità prevista di nZVI e di RNIP è stata trasferita in matraccio e portata a 100 ml con acqua milli-Q, sonicate 30 minuti e poi lasciate decantare per 60 minuti, come riportato in letteratura: successivamente è stato raccolto il supernatante (100 ml) che è stato addizionato della soluzione di gomma Guar (100 ml) sotto atmosfera di azoto.

La dispersione di gomma Guar in acqua milli-Q viene preparata aggiungendo la Gomma Guar (0,05 g) a 100 ml di acqua mill-Q (0,5 g/l): la soluzione di Gomma Guar viene anch'essa sonicata per 15 minuti (appare leggermente lattescente ma non si vedono fiocchi macroscopici).

Dopo aver flussato sotto azoto le sospensioni così ottenute vengono poste in frigo.

### **3.3.5 Stabilizzazione con acido glutammico e con poligluttammato.**

L'acido glutammico è un amminoacido presente nella struttura di numerose proteine animali e vegetali. È chimicamente l'acido  $\alpha$ -amminoglutarico di formula:  $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$

La sostanza pura si presenta in cristalli bianchi, facilmente solubili in acqua. Possedendo un atomo di carbonio asimmetrico, l'acido glutammico esiste in due forme isomere otticamente attive. L'isomero più diffuso in natura è l'acido L(+)-glutammico.

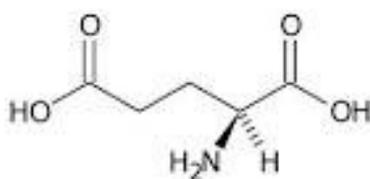


Fig 3.5: formula dell'acido L(+)-Glutammico

L'utilizzo dell'acido glutammico è riportato in letteratura al fine di stabilizzare le sospensioni di nZVI sia nei confronti dell'ossidazione sia nei confronti del fenomeno della aggregazione delle particelle (K. M. Siskova et al., 2013).

La scelta dell'acido glutammico è dovuta al fatto che gli amino acidi sono accettabili dal punto di vista ambientale ed è nota la capacità degli aminoacidi di creare legami chimici sulla superficie delle nano particelle di ferro (K. Siskova et al., 2012): in questo senso l'acido glutammico in particolare promuove la formazione e la stabilizzazione di Fe (=) rispetto agli altri aminoacidi grazie alla sua struttura recante due gruppi carbossilici (K. M. Siskova et al., 2013).

La presenza di acido glutammico nella classica reazione di sintesi del nZVI consente di ottenere una struttura i cui le particelle nanoscopiche di Fe(0) sono ricoperte da un sottile strato interno di ossidi e idrossidi di ferro amorfi e un secondo guscio costituito da acido glutammico (K. Siskova et al., 2012).

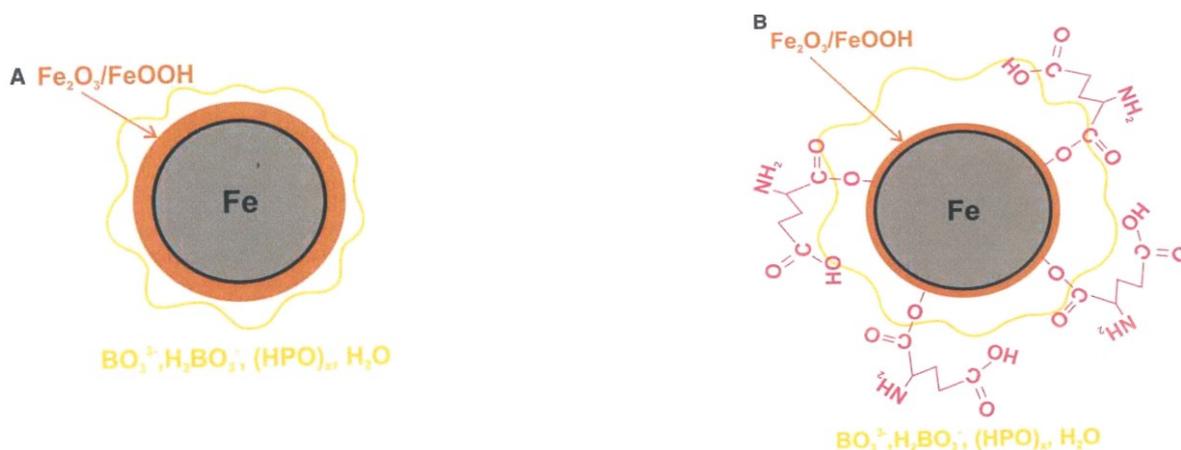


Fig 3.6: rappresentazione schematica del doppio guscio creato dagli ossidi-idrossidi di ferro e dall'acido glutammico. La dimensione del core di nZVI non è in scala con la molecola

La creazione di un secondo guscio di natura organica che si lega agli ossidi posizionati attorno al nZVI consente di stabilizzarle non solo nei confronti dell'ossidazione da parte dell'aria ma anche di prevenirne l'aggregazione.

Abbiamo preparato due tipi di formulazioni: una partendo dall'acido glutammico e una utilizzando un polimero, il poligluttammato.

10 mL di una soluzione acquosa di  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (50 mM) sono stati rapidamente aggiunti a 40 mL di una soluzione fredda (4°C) acquosa di  $\text{NaBH}_4$  (0.15 M) che è stato utilizzato come agente riducente (K. M. Siskova et al., 2013). Alla miscela di reazione sono stati addizionati 73,56 mg di acido L-glutammico, utilizzato come agente stabilizzante. Il sistema è stato mantenuto sotto intensa mediante agitatore rotante (800-1000 rpm) a temperatura ambiente. La sospensione ottenuta presentava una colorazione nera, tipica della formazione di nanoparticelle di Fe zero valente.

Per la preparazione con il poliglutamato le nanoparticelle di Fe(0) sono state preparate con la medesima strategia sintetica sopra descritta. In questo è stato però utilizzato il poliglutamato come agente stabilizzante .

### **3.4 Strumenti utilizzati per le diverse analisi**

Le particelle ottenute nelle varie preparazioni sono state caratterizzate sia tramite spettrometria di assorbimento atomico (per verificare le effettive percentuali di metallo nelle formulazioni bimetalliche e il suo grado di purezza) che mediante microscopia elettronica a trasmissione TEM, microscopia elettronica a scansione SEM e spettroscopia di foto correlazione PCS per valutare la struttura e le dimensioni delle particelle.

#### **3.4.1 Analisi dimensionali**

Le analisi con PCS sono state condotte usando un autocorrelatore Zetasizer N1000 (Santa Barbara, CA, USA), un modulo PMT e un raggio laser con lunghezza d'onda di 514,5 nm. Le misure di scattering sono state effettuate con un angolo di 90° (angolo tra il raggio incidente e quello diffuso) ad una temperatura di 20°C ( $\pm 0,2$  °C). I campioni sono stati preparati disperdendo una piccola quantità di polvere in etanolo assoluto e trattandolo con ultrasuoni per 5 minuti.

Questo strumento è in grado di determinare le dimensioni di particelle di dimensioni comprese tra 1 e 1000 nm. I risultati forniti da questa analisi sono espressi in diametri medi equivalenti in volume (dmv). Tutti i campioni, opportunamente diluiti, sono stati analizzati in triplicato.

#### **3.4.2 Analisi morfologiche**

Le analisi morfologiche sono state eseguite con l'ausilio del microscopio elettronico a trasmissione (TEM) (Philips EM 400T). Questo microscopio è costituito da una colonna cilindrica sottovuoto, all'interno della quale passa il fascio di elettroni. La parte superiore

della colonna contiene il catodo, un filamento di tungsteno che riscaldato agisce come fonte di elettroni che colpiscono il campione permettendo l'analisi dello stesso.

Quale supporto per il campione è stato utilizzato un retino di rame coperto da una pellicola di carbone necessaria per assicurare una maggiore stabilità della superficie del retino stesso al bombardamento elettronico.

Sul retino sono stati posti 10 µl di sospensione di nanoparticelle di Fe zero valente opportunamente diluita. La fase esterna acquosa è stata fatta evaporare a temperatura ambiente overnight. Il giorno successivo sono state quindi effettuate le analisi morfologiche.

Inoltre, le analisi morfologiche sono state eseguite mediante Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) usando un microscopio EO 1525 della ZEISS con colonna GEMINI. Con tale microscopio elettronico, un tubo a raggi catodici sincronizzato con un fascio di particelle cariche, soprattutto elettroni, che operano una scansione sulla superficie dell'oggetto sottoposto ad analisi, permette di elaborare la fotomicrografia. Per la preparazione del campione, una piccola quantità della polvere viene fatta aderire su uno stub di alluminio munito di supporto adesivo in carbone. Prima dell'analisi, il campione è stato sottoposto a rivestimento con cromo, (EMITECH K-550X sputter coater Ashford, Kent; Regno Unito). Il rivestimento è stato effettuato a 20 mA per 4 min.

### **3.5 Cinetiche di degradazione del TCE mediante l'utilizzo di diverse forme stabilizzate di Ferro zerovalente nanoscopico**

Le prove esplorative delle cinetiche di reazione di dealogenazione riduttiva con PCE e TCE come substrati-test, sono state condotte utilizzando un **GC/MS** Agilent 6890N Network GC Station su colonna VF23FACTOR4 e isoterma di temperatura a 35°C per 8 minuti.

Per le successive cinetiche le misure analitiche sono state eseguite utilizzando un sistema **GC/MS** costituito da un gas cromatografo HP 6890 equipaggiato con una colonna capillare in silice fusa HP-5MSI (crosslinked 5% Phenylmethylsiloxane -siliconica), lunga 30 m con diametro interno di 0,25 mm e spessore del film di 0,25 µm e da uno spettrometro di massa quadrupolare HP 5973N.

La separazione degli analiti è stata ottenuta con il seguente programma di temperatura: isoterma a 45°C per 3 min, seguita da un incremento della temperatura di 10°C/ min fino alla temperatura finale di 100°C. Le temperature della transfer line e dell'iniettore erano rispettivamente 280 e 200°C. Il flusso del gas di trasporto in colonna (elio) era mantenuto costante a 0,7 ml/min, mentre il volume di iniezione era 2 µl in condizioni split (1:1).

Le condizioni di esercizio del quadrupolo prevedevano ciclicamente (8,21 scan/sec) la registrazione, in condizioni scan, degli ioni generati per urto elettronico da elettroni a 70 eV, nell'intervallo di massa 46 – 200 daltons. La temperatura della sorgente ionica era 230°.

Per le prove cinetiche effettuate con il sistema **GC/FID** (gas cromatografia con rilevatore FID-*flame ionized detector*, detector a ionizzazione di fiamma) è stata utilizzata una colonna ZB-624 con una programmata di temperatura : 40°C iniziali mantenuti per 2 minuti, rampa di 8°C/min fino a 80°C e quindi 15°C/min fino a 150°C, mantenuti per 0,1 min. Sono stati iniettati 5 ul di campione in modalità splitless con T iniettore =195°C, flusso di azoto 1,15 ml (min, T fid= 250 °C).

Per le prove cinetiche effettuate con il sistema **GC/ECD** infine lo strumento utilizzato è un Gas-cromatografo Carlo Erba Fractovap 4160 equipaggiato con rilevatore a cattura di elettroni (ECD) Carlo Erba ECD 400. La colonna utilizzata è una colonna capillare Zebron ZB-624 (30 m, 0,32 mm, d.i. 1,80 µm) specifica per l'analisi dei VOC's.

Le condizioni cromatografiche sono le seguenti: Gas carrier: idrogeno con flusso pari a 1ml/min a flusso costante; Gas di make up: Azoto con flusso pari a 40 ml/min; Iniezione: splitless rapporto top/bottom 1:10; Programma forno: Temp iniziale T<sub>0</sub>= 40°C, hold time = 2 min., Temp finale T<sub>f</sub>= 90°C con rampa di temperatura di 9,0°C/min, Temp Detector =350°C , Temp Iniettore =250°C, quantità iniettata =20µl, standard interno utilizzato: Diclorometano (1µl in ogni vials).



Fig. 3.5. GC/ECD utilizzato per le prove cinetiche.

## **4. Risultati e discussione**

Di seguito sono riportati i risultati ottenuti per quanto riguarda la sintesi del ferro zerovalente nanoscopico (cfr. par 4.1 e 4.2), la sua cinetica (cfr. par 4.3), la sua stabilizzazione (cfr. par 4.4) e la sua sperimentazione nella reazione di degradazione del tricloroetilene e tetracloroetilene utilizzati come substrati-test (cfr. par 4.5).

### **4.1 Sintesi di ferro zerovalente nanoscopico**

Sono state effettuate analisi strutturali e dimensionali per la maggior parte delle formulazioni di nZVI realizzate in laboratorio e anche per quanto riguarda i campioni disponibili in commercio.

Tali analisi sono state eseguite al fine di selezionare il tipo di formulazione migliore, sia dal punto di vista della stabilità chimico-fisica che dal punto di vista della reattività.

Nelle figure 4.1-4.23 e relative tabelle, vengono riportati alcuni dei risultati ottenuti a partire dai quali sono state realizzate le formulazioni di nZVI utilizzate poi per i successivi studi di cinetica.

#### **4.1.1 Reazione di Ferro cloruro con sodioboroidruro in acqua**

Le analisi strutturali riguardanti le formulazioni di ferro descritte in materiali e metodi (cfr. par. 3.1) sono state condotte principalmente mediante microscopia elettronica a scansione (SEM) e spettroscopia di foto correlazione (PCS). Nello specifico, le analisi mediante PCS hanno permesso di valutare la distribuzione dimensionale delle particelle (in un range compreso tra 1 e 5000 nm).

Inoltre vengono riportate una serie di immagini di nZVI sintetizzato in laboratorio analizzate al TEM: si possono apprezzare le dimensioni nanoscopiche (figure 4.1 e 4.2).

Anche se la reazione di sintesi di nZVI viene condotta in condizioni controllate per evitare la presenza di ossigeno e mantenere il ferro nella sua forma Fe(0), il nZVI appena sintetizzato è instabile in condizioni atmosferiche e tende a formare ossidi e idrossidi nelle forme Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e FeOOH (Yuvakkumar, Elango, Rajendran, & Kannan, 2011; Zhang, 2003).

Le immagini al SEM delle particelle di nZVI sintetizzate mostrano come esse siano in forma nanoscopica e che esistano a contatto le une con le altre formando degli aggregati: la tendenza dimostrata dalle particelle di nZVI a formare aggregati microscopici è dovuta agli effetti magnetici che si originano tra le particelle.

L'orientazione lineare di queste strutture "a catena" è dovuta proprio alle proprietà magnetiche del nZVI (Feng & Lim, 2007).

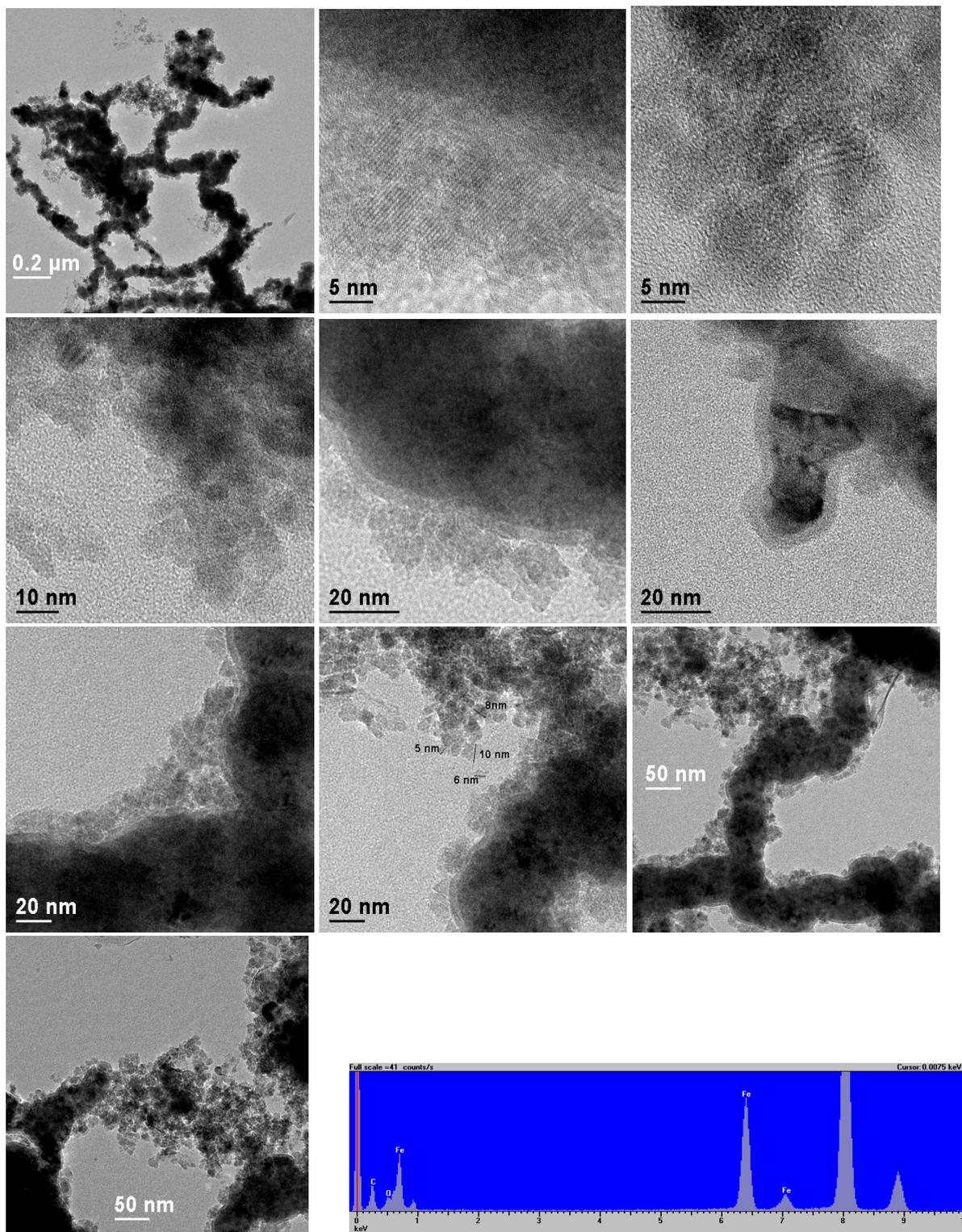
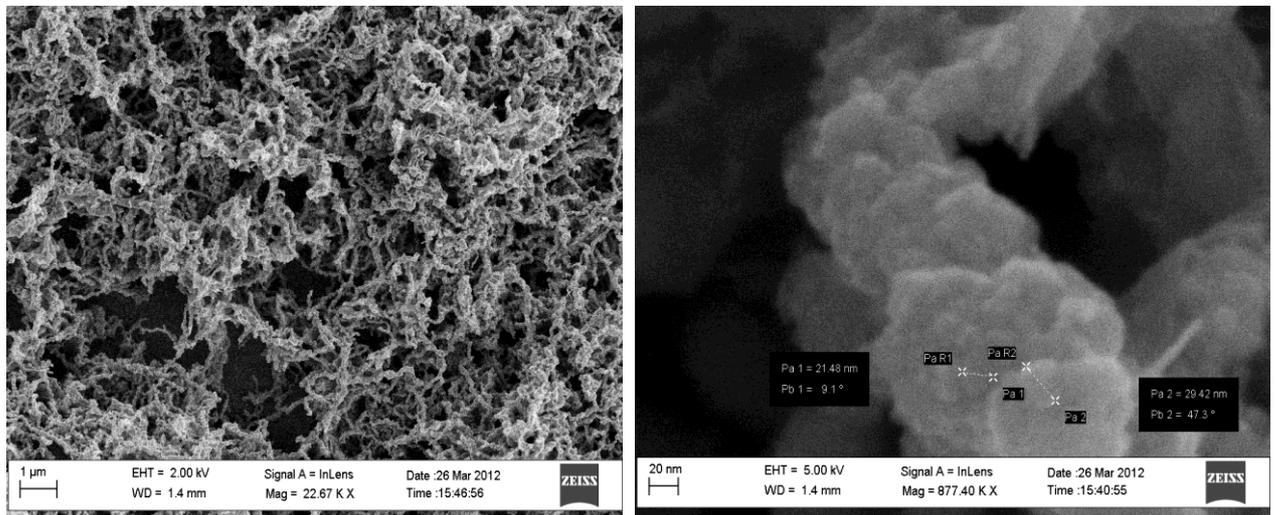


Fig 4.1: immagini realizzate mediante microscopia elettronica relative alle formulazioni di Fe(0) realizzate a partire dalla sintesi di ferro cloruro con sodioboroidruro in acqua.

Analizzando nel dettaglio le analisi strutturali e confrontandole con l'analisi di distribuzione dimensionale dei campioni considerati si può notare come le particelle di Fe(0) nel momento della sintesi siano di dimensioni nanoscopiche, tendendo successivamente a formare una struttura dendrimerica o "coral-like" (fig. 4.2).

Si ricorda che con il termine dimensione nanoscopica si riferisce a particelle di dimensioni che vanno da 1 a 100 nm.



**Fig 4.2:** aggregazione delle particelle di ferro, misurata al TEM, che formano una struttura dendrimerica (o "coral-like"). A maggiori ingrandimenti (SEM, immagine di destra) si nota chiaramente che la struttura dendrimerica è formata dall'aggregazione di particelle colloidali di ferro di dimensioni estremamente ridotte.

Le analisi di distribuzione dimensionale delle particelle di nZVI evidenziano la presenza di una popolazione molto abbondante in numero con dimensioni medie intorno 640 nm ed una seconda popolazione di dimensioni superiori ai 15 micrometri (fig.4.3), plausibilmente dovuta all'aggregazione di nanoparticelle durante la sintesi, la filtrazione, la disidratazione e/o la conservazione del campione.

Si suppone che la loro elevata energia superficiale e le interazioni magnetiche intrinseche facciano sì che già durante la sintesi delle nanoparticelle esse tendano spontaneamente a formare aggregati tali da abbassare l'area superficiale specifica e questo fenomeno è tanto più pronunciato quanto maggiore è il tempo che intercorre tra la preparazione della formulazione e l'utilizzo della stessa per le analisi strutturali, dimensionali e cinetiche.

Tale fenomeno è difficilmente evitabile a meno che, già durante la sintesi, non si aggiungano sostanze (idrocolloidi, emulsionanti etc) in grado di stabilizzare le dimensioni nanoscopiche delle particelle.



**Fig 4.3: distribuzione dimensionale degli aggregati della figura 4.24.2 Altri metodi preparativi**

Di seguito, sono elencati i risultati di analisi chimico-strutturali ottenuti attraverso diverse metodologie (AAS, PCS, SEM, TEM) al fine di verificare le caratteristiche dimensionali, strutturali e di composizione chimica delle diverse formulazioni di nZVI.

#### **4.1.2 Formulazioni di particelle nZVI bimetalliche**

La letteratura evidenzia come la presenza di un secondo metallo (Ni, Co, Pt, Pd) addizionato in piccole percentuali oltre al Fe possa avere un'azione catalitica nei confronti della dealogenazione riduttiva. Per questo motivo, sono state realizzate diverse formulazioni bimetalliche che sono state analizzate dal punto di vista chimico e strutturale.

L'analisi dei metalli è stata eseguita in spettroscopia di assorbimento atomico (AAS), al fine di valutare la reale % di bimetallo disperso sulle nanoparticelle di nZVI.

Per fare questo è stata preparata una soluzione di HNO<sub>3</sub> 0,1 M partendo da una quantità nota di formulazione solida e successivamente sono state valutate le percentuali in peso e molari effettive del metallo disperso sul Fe (0).

I risultati sono riportati in Tab 4.1.

**Tab. 4.1: Rapporti percentuali in peso e molari ottenuti nelle formulazioni bimetalliche.**

composto	PM	mmoli precursore	milligrammi teorici precursore	milligrammi effettivamente pesati	rapporto % w/w teorico	rapporto % molare teorico	mg/l dall'analisi AAS	PA metallo
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	278,02	2,7	760	760	3,0	3,2	116	55,85
NiSO <sub>4</sub> ·6H <sub>2</sub> O	262,85	0,08	22	23			4,1	58,58
FeCl <sub>3</sub>	162,2	1,8	292	292	1,6	1,1	145	55,85
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	237,9	0,02	4,3	4,7			1,9	58,93
FeCl <sub>3</sub>	162,2	1,8	292	293	1,4	1,0	143	55,85
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	237,9	0,02	4,3	4,2			1,4	58,93

I valori dimostrano come tutte le formulazioni contengano, al termine della preparazione, percentuali di metallo disperso che si aggirano attorno a quelle teoriche. La possibile umidità del solido è stata trascurata in quanto non interferisce significativamente nel calcolo del rapporto tra i metalli. Inoltre le aliquote sono state prelevate in modo più omogeneo possibile anche se questo non esclude l'eventualità di aver analizzato formulazioni più o meno "ricche" in metallo.

I dati riportati in tabella mostrano come tutte le procedure adottate permettano un'ottimale dispersione del secondo metallo sulle nanoparticelle di nZVI: questo risultato è di fondamentale importanza dal punto di vista sperimentale perché influenza la riproducibilità delle formulazioni.

#### 4.1.3 Utilizzo del Palladio come catalizzatore

Tra le varie formulazioni bimetalliche presentate in letteratura (C. J. Lin, Lo, & Liou, 2004; S. Wang et al., 2014), la formulazione con Palladio è risultata essere quella che maggiormente si è dimostrata idonea per l'utilizzo in questo contesto di ricerca.

Infatti, il Palladio è considerato un buon catalizzatore della reazione di dealogenazione riduttiva degli idrocarburi polialogenati e inoltre dimostra di avere un potere stabilizzante nei confronti del nZVI.

#### 4.1.4 Stabilizzazione mediante guscio (*shell*) di rivestimento.

E' stata valutata una formulazione presente in commercio denominata RNIP (*reactive bare nano iron particle*, paragrafo 3.4.3)(Matsui, 2008) al fine di valutare se la presenza di un guscio di ossidi di ferro attorno al *core* di Fe(0) possa, sia per effetto di ingombro sterico sia per effetto di repulsione elettrostatica, prevenire o rallentare l'aggregazione delle particelle di ferro zerovalente.

A tale scopo è stata eseguita un'analisi di distribuzione dimensionale del RNIP acquistato dalla Toda Kogyo Corp. Tale analisi è stata confrontata con l'analisi dimensionale di particelle di nZVI preparate in laboratorio.

Campione di nZVI in MeOH sintetizzato in laboratorio (Fig. 4.4 A)

La sospensione è risultata essere caratterizzata da due popolazioni dimensionali:

1<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 34,8 \pm 7,5$  nm (88,5%)

2<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 122,8 \pm 38,1$  nm (11,5%)

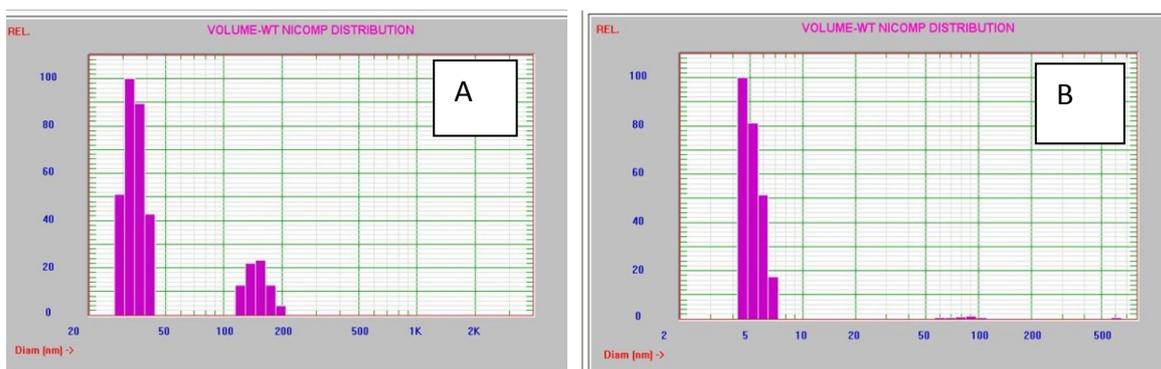
Campione RNIP (Fig. 4.4B)

La sospensione è risultata essere caratterizzata da tre popolazioni dimensionali:

1<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 5,5 \pm 0,6$  nm (99,2%)

2<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 83,0 \pm 7,5$  nm (0,6%)

3<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 717,4 \pm 4,1$  nm (0,2%)



**Fig 4.4 A,B** : immagini elaborate mediante PCS relative alla distribuzione dimensionale dei campioni di Ferro nanoscopico commerciale RNIP (B) e preparato in laboratorio (A) senza aggiunta di stabilizzanti. La formulazione RNIP presenta il 98,7% di particelle tra 1 e 5 nm mentre nZVI ha la maggior parte delle particelle (81%) intorno ai 30 nm.

Riassumendo:

**Tab 4.2: Risultati delle analisi dimensionali riportati come media dei diametri idrodinamici della popolazione maggiormente presente (> 80%  $\pm$ deviazione standard).**

PREPARAZIONE	Diametro idrodinamico medio ( $\pm$ d.s.)	Percentuale in volume sul totale ( $\pm$ d.s.)
RNIP	9,6 ( $\pm$ 7,0)	81 $\pm$ 15
nZVI	34,8 ( $\pm$ 7,5)	81 $\pm$ 15

Tutti i campioni presentavano almeno due popolazioni dimensionali distinte ma non può essere escluso che quelle a dimensioni maggiori non siano aggregati di particelle di dimensioni inferiori.

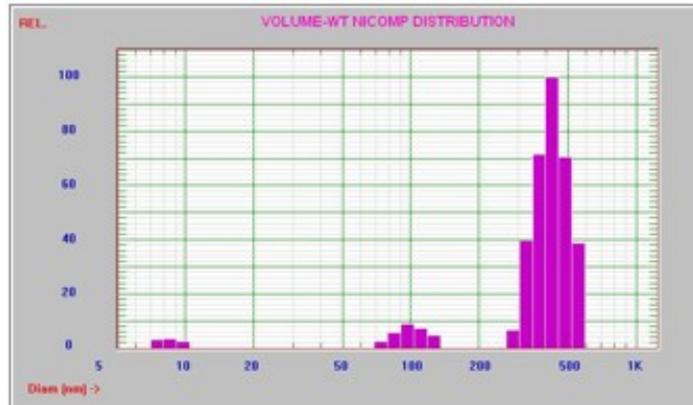
Dai dati riportati in tabella 4.2 si evince che in entrambe le formulazioni la popolazione preponderante è costituita da nanoparticelle con diametri medi che vanno da pochi nanometri (RNIP) a circa 40 nm. Le particelle della preparazione RNIP presentano una percentuale variabile, comunque molto bassa (15% circa) di aggregati e/o particelle più grandi. Dove presenti, esse cadono tra 50 e 100 nm ed in 1 caso 1-2  $\mu$ m.

Dall'analisi dimensionale si osserva che entrambi i campioni (Figg. 4.4 A, B) hanno una frazione maggioritaria al di sotto dei 100 nanometri. In particolare, RNIP sembra quello più promettente poiché presenta la quasi totalità delle particelle al di sotto dei 10 nanometri. Tali dimensioni dovrebbero garantire una maggiore efficienza di catalisi per via dell'elevata area superficiale.

#### **4.1.5 Stabilizzazione mediante emulsione *Tween-Span***

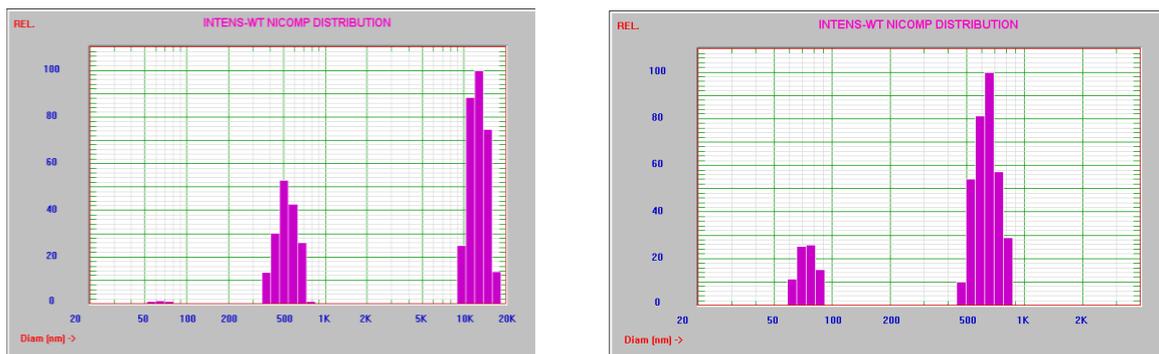
E' stato condotto un primo esperimento emulsionando le particelle nanoscopiche di ferro appena preparate (in concentrazione di 10 g/l) con una miscela composta da olii vegetali e surfattanti biodegradabili (olio di semi di soia 10% w/w e una miscela 3% w/w di Tween 40 e Span 80 ad HLB=8).

Lo studio effettuato mediante PCS e SEM ha evidenziato come le micelle presentino dimensioni medie superiori al micron (Fig. 4-5): ciò può essere spiegato sia con la spontanea aggregazione delle nZVI attorno alle quali si dispongono le micelle oppure all'aggregazione stessa di nZVI emulsionato (EnZVI) in strutture più grandi.



**Fig. 4.5: distribuzione dimensionale delle emulsioni di nZVI in olio di semi di soia più miscela di Tween+Span HLB= 8**

Le analisi PCS relative a nZVI e a EnZVI sono riportate di seguito:



**Fig 4.6: analisi di distribuzione dimensionale di nZVI non emulsionato (a sinistra) e confronto con la formulazione emulsionata EnZVI (a destra).**

La fig 4.6 mostra il confronto tra la distribuzione dimensionale delle particelle di solo nZVI (immagine a sinistra) e di nZVI in formulazione emulsionata (EnZVI, immagine a destra): si può apprezzare l'effetto di diminuzione della dimensione delle particelle (2 popolazioni da 500 nm e 10-20  $\mu\text{m}$  nel primo caso, 2 popolazioni da 50-100 nm e 0,5-1  $\mu\text{m}$  nel secondo caso).

In entrambi i casi otteniamo popolazioni di particelle nanoscopiche dell'ordine di 10 e 100 nm nel primo caso e 50-100 nm nel secondo caso; in entrambe le formulazioni però troviamo una popolazione consistente di dimensioni quasi microscopiche 500-1000 nm.

#### 4.1.6 Stabilizzazione mediante polimeri *green*- “Gomma Guar”

Al fine di approfondire le potenzialità della stabilizzazione di Ferro zerovalente nanoscopico ad opera di polimeri cosiddetti “green” sono state effettuate analisi strutturali mediante TEM, SEM e PCS di preparazioni contenenti nZVI addizionate con gomma guar (cfr. par 3.3.4.).

Due campioni differenti contenenti l’uno “RNIP” commerciale e l’altro nZVI sintetizzato in laboratorio entrambi stabilizzati con gomma guar sono stati analizzati dal laboratorio QiTechnology (Università di Perugia) in quanto, non conoscendo la viscosità della soluzione disperdente, non è stato possibile effettuare l’analisi in sede. Infatti, tra i parametri necessari per l’interpretazione del dato dimensionale, la viscosità è un dato fondamentale e una approssimazione di questo parametro avrebbe portato ad una misura non affidabile e sicuramente non confrontabile.

I risultati ottenuti e riportati di seguito sono espressi in diametro medio del volume sferico equivalente delle particelle ( $d_{mv}$ ). Tutti i campioni, opportunamente diluiti, sono stati analizzati in triplicato.

I campioni di nZVI e RNIP contenenti la gomma guar sono stati confrontati con campioni analoghi senza l’aggiunta di gomma guar per analizzare in dettaglio le variazioni nella struttura dimensionale.

#### Campione nZVI in Guar Gum

Questa sospensione di nanoparticelle di Fe metallico è stata analizzata sia dopo 15 minuti che dopo 105 minuti di sonicazione.

Analisi effettuata dopo 15’ di sonicazione Fig 4.7-A

La sospensione risulta essere caratterizzata da due popolazioni dimensionali:

1<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 267,4 \pm 9,9$  nm (16,9%)

2<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 908,2 \pm 1,6$  nm (83,1%)

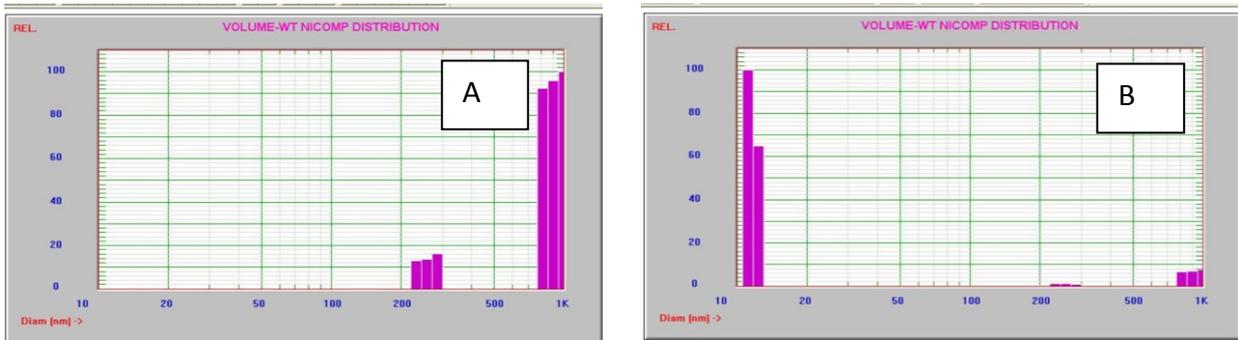
Analisi effettuata dopo 105’ di sonicazione Fig 4.7-B

La sospensione risulta essere caratterizzata da tre popolazioni dimensionali:

1<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 15,3 \pm 5,2$  nm (86,9%)

2<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 304,0 \pm 79,2$  nm (2,6%)

3<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 906,2 \pm 2,7$  nm (10,5%)



**Fig. 4.7A,B:** immagini ottenute mediante PCS relative alla distribuzione dimensionale di particelle di RNIP che sono state sottoposte a 15 minuti di sonicazione in presenza di gomma guar (A), relativo a particelle di Ferro sintetizzato in laboratorio che sono state sottoposte a 105 minuti di sonicazione in presenza di gomma guar (B), relativo a particelle di Fe(0) sintetizzato in laboratorio che sono state sottoposte a 105 minuti di sonicazione in presenza di gomma guar (C).

### Campione RNIP in Guar Gum

Anche in questo caso la sospensione è stata analizzata sia dopo 15 minuti che dopo 105 minuti di sonicazione.

Analisi effettuata dopo 15' di sonicazione – Fig 4.8-C

La sospensione risulta essere caratterizzata da due popolazioni dimensionali:

1<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 56,1 \pm 14,2$  nm (70,1%)

2<sup>a</sup> popolazione:  $d_{mv} = 397,0 \pm 31,8$  nm (29,9%)

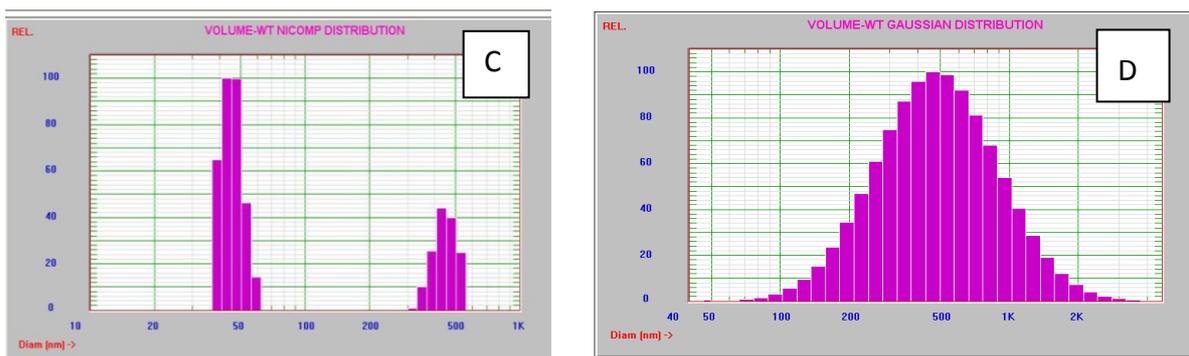
Analisi effettuata dopo 105' di sonicazione –Fig 4.8-D

La sospensione in questo caso risulta essere monodispersa (analisi in gaussian mode)

$d_{mv} = 671,1 \pm 30,4$  nm

A.G.(ampiezza della gaussiana)=  $406,7 \pm 28,3$  nm

In questo caso, l'aumento del tempo di sonicazione rende la sospensione monodispersa, ma si osserva un aumento delle dimensioni e dell'ampiezza della gaussiana. Questi dati mostrano un peggioramento delle caratteristiche del sistema che in seguito alla sonicazione tende a formare aggregati.



**Fig 4.8 C e D: Analisi dimensionale del RNIP in gomma guar dopo sonicazione di 15 minuti (C) e dopo 105 minuti (D). Sono evidenti le due popolazioni, una nanoscopica (intorno ai 50 nm) e una di dimensioni maggiori (intorno a 400 nm) in C e la sospensione monodispersa in D.**

L'aggiunta di Guar Gum allo scopo di stabilizzare le sospensioni ha mostrato un duplice effetto: all'inizio della dispersione il polimero porta alla formazione di aggregati a volte anche micrometrici ma dopo un blando trattamento con ultrasuoni (sonicatore a bagno, 50 Khz) le dimensioni nanometriche vengono ristabilite. Questo comportamento indica la formazione di aggregati lassi tra le catene polimeriche che stabilizzano le particelle e non l'aggregazione irreversibile tra le particelle di ferro.

I differenti risultati, ottenuti a diversi tempi di sonicazione, possono essere giustificati dalla possibile aggregazione delle nanoparticelle. I flocculati che si vengono a formare sono aggregati redispersibili solo dopo diversi minuti di sonicazione.

Le prove effettuate hanno quindi portato alle seguenti considerazioni:

1. Polimeri come la gomma Guar contribuiscono alla stabilizzazione della sospensione del nZVI. Questi polimeri creano una organizzazione "a nodo fisico" o a network all'interno della sospensione in cui la particella di nZVI è vincolata in una struttura reticolare che impedisce alle particelle di avvicinarsi le una alle altre ma non impegna i siti reattivi del nZVI a differenza dei polimeri di tipo polianionico (come ad esempio PV3A- polivinyl alcohol-co-vinyl-acetate-co-itaconic acid, PAA poly acrylic acid) (Y.-H. Lin, Tseng, Wey, & Lin, 2010; Sun, Li, Zhang, & Wang, 2007) i quali, conferendo alla soluzione di nZVI una stabilizzazione sia elettrica, a causa della loro carica negativa dovuta alla presenza di gruppi funzionali carbossilici e idrossilici, che sterica dovuta alle loro dimensioni e posizionamento nello spazio, probabilmente influenzano la reattività superficiale del nZVI;
2. Esiste una formulazione di nZVI stabilizzato, denominato RNIP che rende più gestibile l'utilizzo e la manipolazione del nZVI: esso risente in maniera positiva dell'aggiunta di polimeri di natura colloidale ma non risponde altrettanto bene alla sonicazione per tempi prolungati.

Lo studio fin qui condotto ha dimostrato che:

1. Le particelle di nZVI hanno una scarsa stabilità dimensionale e mostrano un'elevata tendenza ad aggregarsi a causa dell'alta energia superficiale e delle interconnessioni energetiche intrinseche, raggiungendo rapidamente dimensioni microscopiche. L'aggregazione osservata è dovuta alle attrazioni magnetiche a lungo raggio tra le nanoparticelle: si ipotizza quindi che la loro elevata area superficiale e le interazioni magnetiche intrinseche facciano sì che già durante la sintesi delle nanoparticelle esse tendano spontaneamente a formare aggregati tali da abbassare l'area superficiale specifica e questo fenomeno è tanto più pronunciato quanto maggiore è il tempo che intercorre tra la preparazione della formulazione e l'utilizzo della stessa per le analisi strutturali, dimensionali e cinetiche;

2- La realizzazione di una struttura *core-shell*, come si osserva nel RNIP, sembrerebbe portare ad una migliore dispersione delle particelle di Fe(0) a causa dell'effetto protettivo del guscio di magnetite che si crea intorno al nucleo attivo di Fe(0);

3- In entrambe le formulazioni l'aggiunta di polimeri colloidali come la gomma Guar permettono una buona dispersività delle particelle di nZVI e ne prevengono l'aggregazione attraverso la formazione, in acqua, di un network strutturato;

4- La dispersione delle particelle di nZVI in presenza di polimeri collodali migliora dopo sonicazione per cui anche dopo lunghi periodi di tempo gli aggregati possono essere ridispersi e riportati alle condizioni nanoscopiche originali se opportunamente sonicati per un tempo adeguato (più di un'ora).

5- L'unica eccezione al comportamento descritto è rappresentata da RNIP in Gomma Guar dove l'aumento del tempo di sonicazione rende la sospensione monodispersa ma si osserva un aumento delle dimensioni e dell'ampiezza della gaussiana. Questo dato mostra un peggioramento delle caratteristiche del sistema in cui la sonicazione sembra promuovere l'aggregazione. Una possibile ipotesi potrebbe essere che il RNIP è già una formulazione dove il nZVI risulta stabilizzato da un guscio di magnetite: la sonicazione potrebbe causare un contatto tra i gusci di magnetite favorendo l'aggregazione degli stessi attraverso interazioni sia di tipo elettrico che di tipo sterico.

Diventa indispensabile per gli studi dimensionali, strutturali e cinetici utilizzare protocolli che prevedano, immediatamente prima delle analisi sopradette, un adeguato periodo di sonicazione, al fine di riportare le particelle nelle condizioni dimensionali originarie: questo potrebbe comportare un incremento di riproducibilità e di efficienza nello studio delle cinetiche di dealogenazione riduttiva di idrocarburi plialogenati.

#### 4.1.7 Stabilizzazione mediante liposomi

Per ottenere delle strutture ancor più stabili si è focalizzata la ricerca sull'incapsulamento del nZVI all'interno di una membrana artificiale al fine di ridurre fisicamente l'aggregazione e proteggerlo dall'azione dei composti non target (par. 3.4.2).

E' stata condotta un'analisi mediante PCS. Il confronto dei risultati ottenuti con i liposomi prima e dopo aggiunta di nZVI è riportato nella Tabella 4.3 e nelle Figg. 4.8-4.20.

Nella Tabella 4.3 sono riportate le composizioni delle miscele esaminate e di eventuali pretrattamenti con ultrasuoni prima dell'analisi PCS, per di individuare il migliore protocollo di sintesi di nZVI (con e senza liposomi e gomma guar) al fine di ottenere una distribuzione dimensionale più nanoscopica possibile.

Tab.4.3: elenco dei campioni sui quali è stata condotta l'analisi PCS

Campione	Asolectina	nZVI	pretrattamento	Gomma guar
16	0,6 g	NO	No	No
17	2,4 g	no	No	No
18	0,6 g	10 mg	No	No
19	1,2 g	10 mg	No	No
20	2,4 g	10 mg	No	No
21	0,6 g	10 mg	si	No
22	1,2 g	10 mg	si	No
23	2,4 g	10 mg	si	No
24	0,6 g	10 mg	no	si
25	no	10 mg	si	si

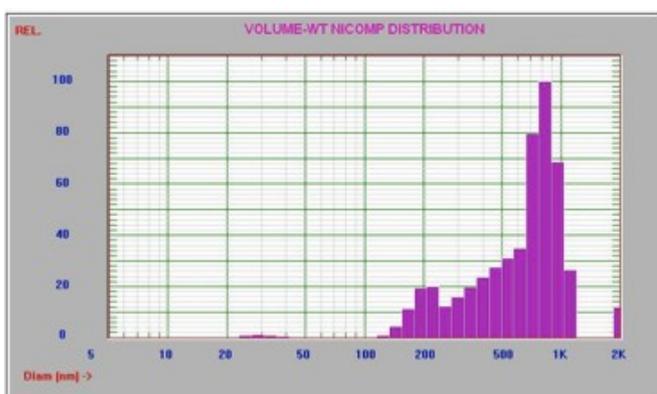
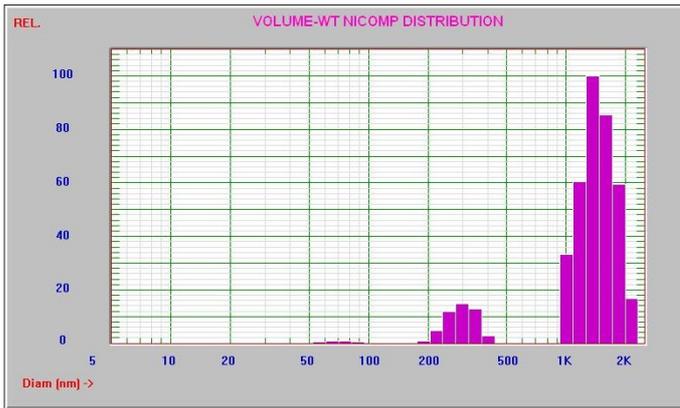
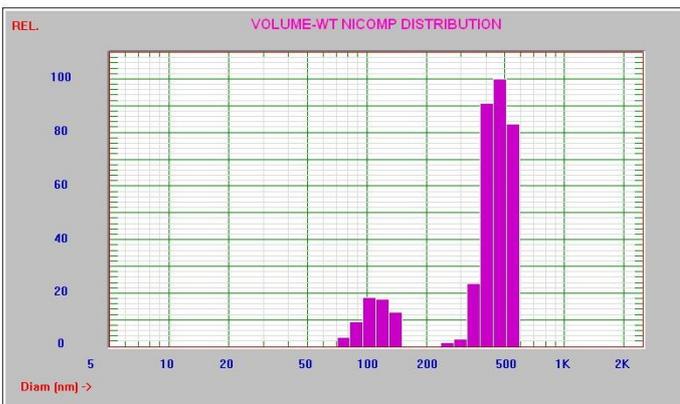


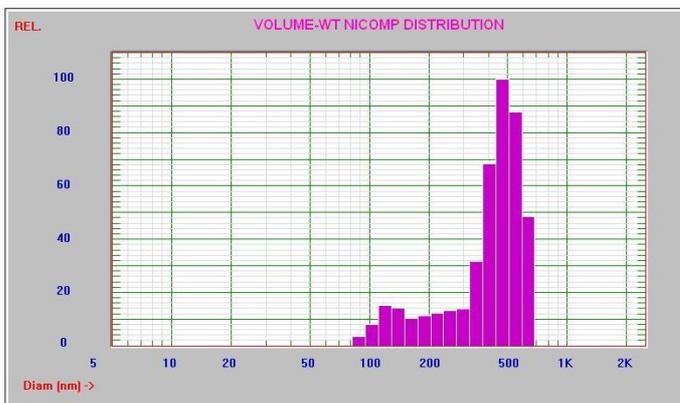
Fig 4.9: analisi PCS su campione 16 stabilizzato mediante 0,6 g di asolectina, privo di ferro zerovalente nanoscopico senza pretrattamento e senza gomma guar.



**Fig 4.10** analisi PCS su campione 17 stabilizzato mediante 2,4 g di asolectina, privo di ferro zerovalente nanoscopico senza pretrattamento e senza gomma guar.



**Fig 4.11:** analisi PCS su campione 18 stabilizzato mediante 0,6 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico senza pretrattamento e senza gomma guar.



**Fig 4.12:** analisi PCS su campione 19 stabilizzato mediante 1,2 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico senza pretrattamento e senza gomma guar.

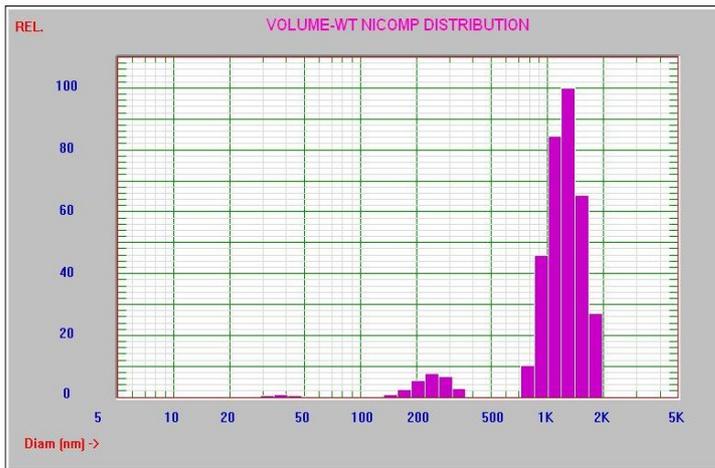


Fig 4.13: analisi PCS su campione 20 stabilizzato mediante 2,4 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico senza pretrattamento e senza gomma guar.

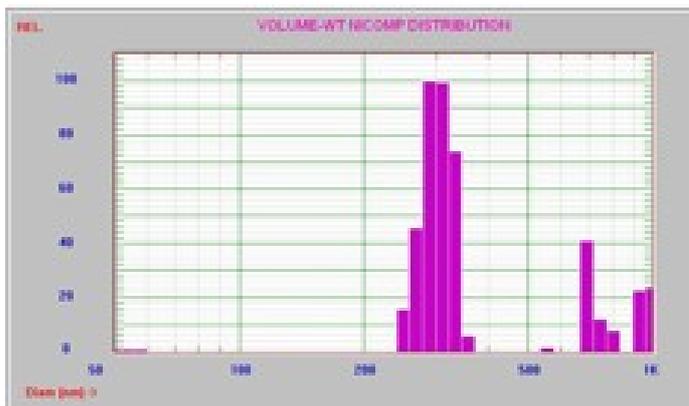


Fig 4.14: Analisi PCS su campione 21 stabilizzato mediante 0,6 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico, soggetto a pretrattamento e senza gomma guar.

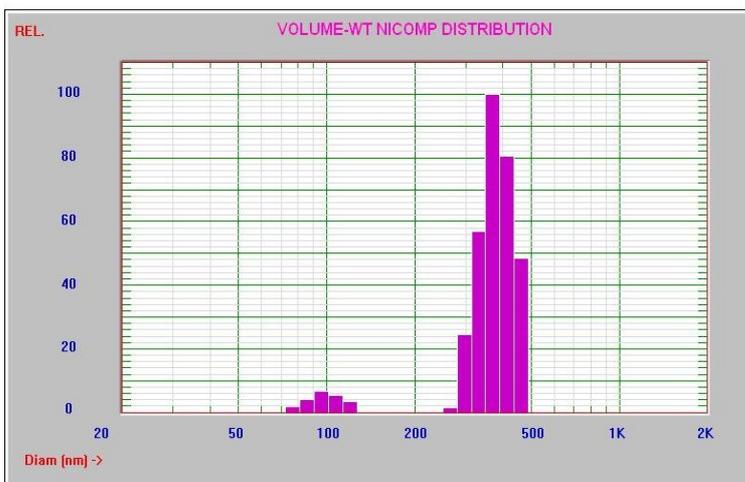
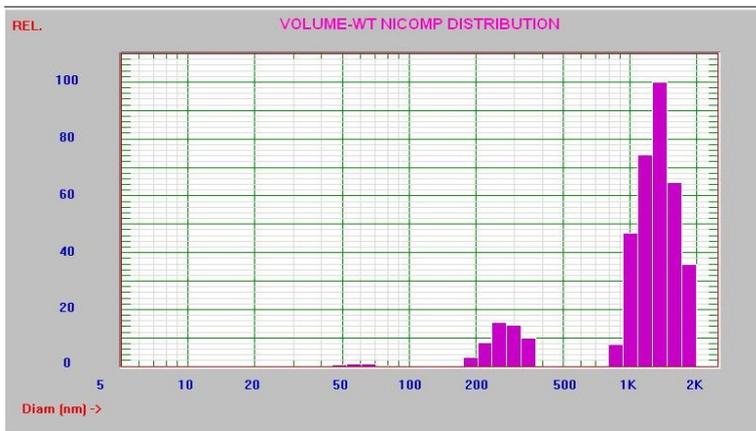
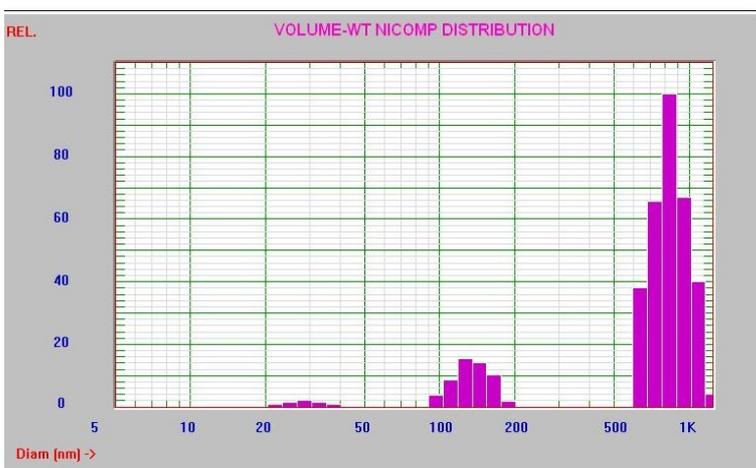


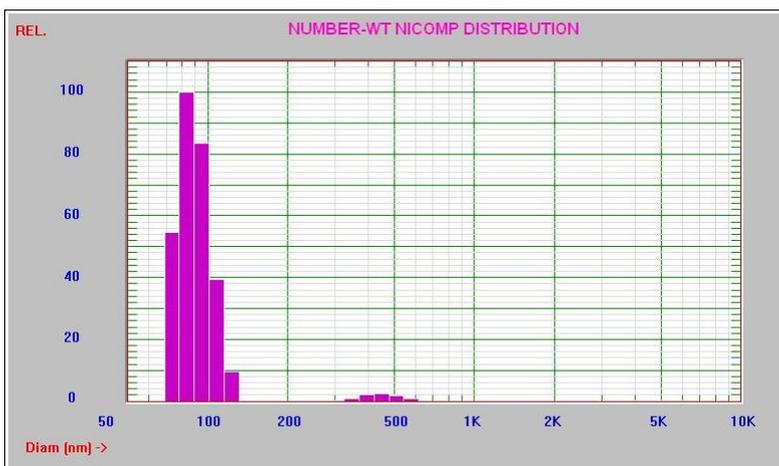
Fig 4.15: analisi PCS su campione 22 stabilizzato mediante 1,2 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico, sottoposto a pretrattamento e senza gomma guar.



**Fig. 4.16:** analisi PCS su campione 23 stabilizzato mediante 2,4 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico, con pretrattamento e senza gomma guar.



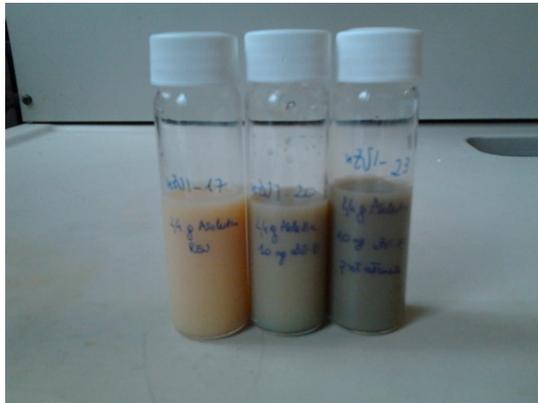
**Fig 4.17:** analisi PCS su campione 24 stabilizzato mediante 0,6 g di asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico, NON soggetto a pretrattamento e CON gomma guar.



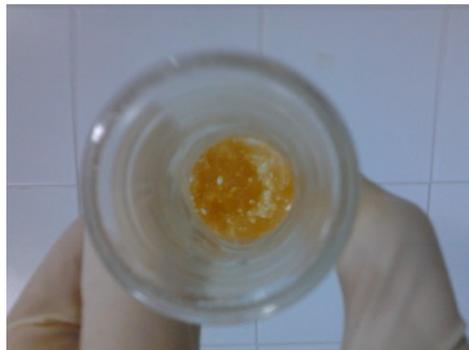
**Fig 4.18:** Analisi PCS su campione 25 stabilizzato SENZA asolectina, contenente 10 mg di ferro zerovalente nanoscopico, con pretrattamento a ultrasuoni e CON gomma guar.

Si nota come il ferro zerovalente modifichi le distribuzioni dimensionali dei liposomi: le vescicole infatti nel primo caso hanno una distribuzione piuttosto ampia che si attesta in due distribuzioni medie di circa 300 e 718 nm; con l'aggiunta di nZVI i due range predominanti sono di 110-120 nm e 510-560 nm.

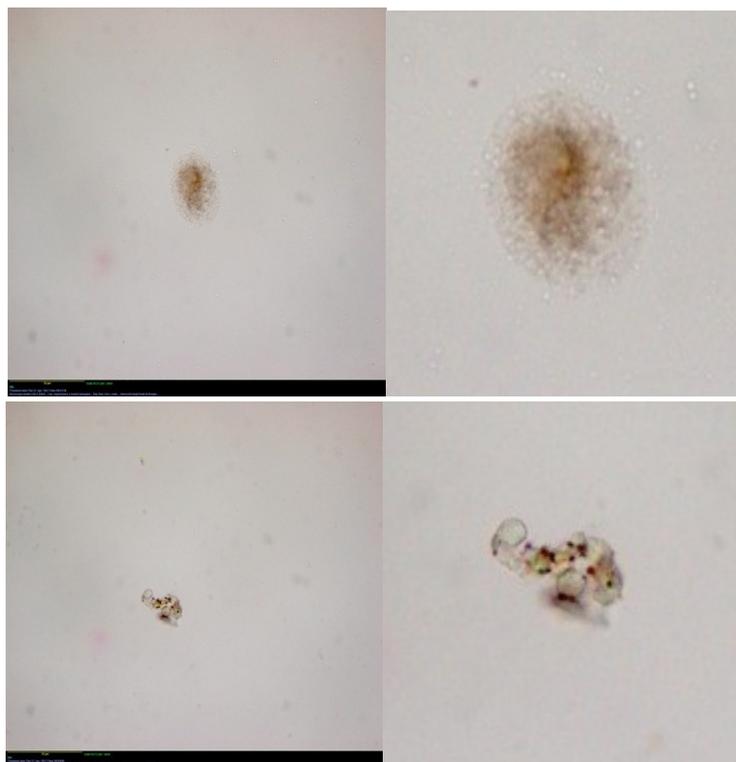
Si può presumere che solo queste ultime abbiano inglobato la formulazione metallica. La popolazione con dimensioni medie di 300 nm può essere plausibilmente ascritta a vescicole unilamellari e/o oligolamellari mentre quella con dimensioni intorno al micrometro a vescicole multilamellari. Nelle figure 4.18, 4.19, 4.20, è possibile apprezzare le caratteristiche macroscopiche di alcuni dei composti sopra descritti.



**Fig 4.19:** fotografia di tre dei campioni presi in considerazione (17, 20, 23) in cui si può apprezzare la formazione di una emulsione lattescente (1° vial a sinistra) contenente liposomi inglobanti nZVI (vial centrale campione 20 e vial sulla destra campione 23).



**Fig 4.20:** formazione dei liposomi (vescicole bianche).



**Fig 4.21:** immagini realizzate mediante TEM delle nano particelle di nZVI inglobate nelle strutture liposomiali: le immagini di destra sono ingrandimenti dei campioni rappresentati sulla sinistra.

#### **4.1.8 Stabilizzazione con acido L-glutammico e poliglutammico**

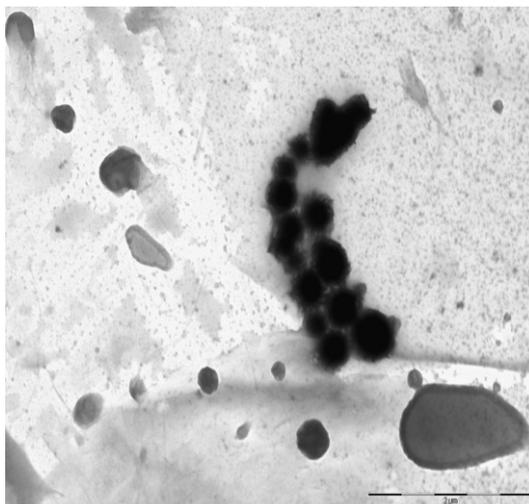
La sospensione di Fe zerovalente stabilizzato con acido L-glutammico è caratterizzata dalla presenza di due popolazioni dimensionali. La prima (3,5%) presenta un  $d_{mv}$  pari a  $873,5 \pm 5,4$  nm mentre la seconda (96,5%) è caratterizzata da un  $d_{mv}$  di  $16370 \pm 23$  nm. La sospensione stabilizzata con poliglutammato ha mostrato due popolazioni dimensionali ( $273,2 \pm 4,3$  nm, 11%;  $1518,2 \pm 10,7$ ).

Le analisi morfologiche sono state eseguite con l'ausilio del microscopio elettronico a trasmissione (TEM).

Quale supporto per il campione è stato utilizzato un retino di rame coperto da una pellicola di carbone necessaria per assicurare una maggiore stabilità della superficie del retino stesso al bombardamento elettronico.

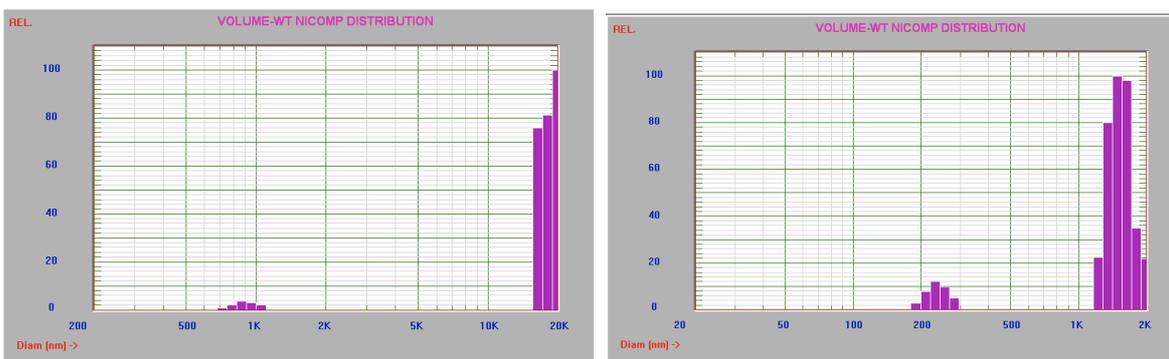
Sul retino sono stati posti 10  $\mu$ L di sospensione di nanoparticelle di nZVI opportunamente diluita. La fase esterna acquosa è stata fatta evaporare a temperatura ambiente overnight. Il giorno successivo sono state quindi effettuate le analisi morfologiche.

Le fotomicrografie TEM hanno permesso di ipotizzare la forma sferica delle nanoparticelle e la polidispersità della sospensione di nanoparticelle di Fe(0) addizionate con acido L-glutammico (fig. 4.22).



**Fig 4.22: fotomicrografia TEM della formulazione di nZVI addizionata con acido L-glutammico (scala 2  $\mu\text{m}$ ).**

L'analisi dimensionale mette in evidenza come le particelle funzionalizzate con acido poliglutammico raggiungano dimensioni più piccole rispetto a quelle trattate con acido glutammico.



**Fig 4.23: confronto tra la distribuzione dimensionale della formulazione di nZVI funzionalizzata con acido L-Glutammico (A, a sinistra) e con poliglutammato (B, a destra): si noti la minore dimensione delle particelle in presenza di poliglutammato (200 nm-2  $\mu\text{m}$ ) rispetto all'acido l-glutammico (1-20  $\mu\text{m}$ ).**

Confrontando l'immagine al TEM (fig 4.22) con le immagini relative alle distribuzioni dimensionali (fig.4.23) è possibile notare che anche in questo caso, come riportato già nel paragrafo 4.1.1., i campioni sono composti di nanoparticelle organizzate nella caratteristica struttura a catena dendrimerica che si origina a causa delle interazioni magnetiche tra le nanoparticelle.

Sulla scorta delle indagini strutturali, dimensionali e chimico-fisiche svolte sulle diverse formulazioni, è stata operata la scelta sulle formulazioni considerate migliori per gli studi di cinetica.

In particolare la sintesi è stata sempre eseguita a partire da Ferro cloruro con sodioboroidruro in largo eccesso operando in atmosfera inerte poiché si tratta di una sintesi che richiede condizioni di laboratorio semplici da realizzare e che garantisce una buona riproducibilità. Inoltre, i reagenti utilizzati sono di facile reperibilità e a basso costo. Anche in letteratura (Thangavadivel, Wang, Birke, & Naidu, 2013; Yuvakkumar et al., 2011) tale sintesi è preferita alle altre per la sua migliore resa, la sua versatilità e il suo minore impatto ambientale.

Inoltre essa è facilmente scalabile a livello industriale.

## 4.2 Cinetiche di degradazione di TCE e PCE mediante utilizzo di nZVI

Di seguito sono riportate le cinetiche di dealogenazione riduttiva di TCE e PCE ad opera di differenti formulazioni di nZVI.

### 4.2.1 Prove esplorative di reattività delle formulazioni di nZVI

#### Cinetiche di degradazione ad alta concentrazione di contaminante

La conferma delle caratteristiche nanoscopiche delle particelle è stata seguita dall'utilizzo delle stesse in prove cinetiche atte a valutare la reattività nella degradazione di TCE e PCE e ad ottimizzare le condizioni operative per la successiva sperimentazione in laboratorio.

Le prove cinetiche sono state effettuate attraverso analisi GC-FID e GC-MS dei campioni in cui le varie formulazioni di nZVI sono state trasferite in vials riempite con acqua milli-Q e disareate, a cui è stato aggiunto i polialogenati target, TCE e PCE. I campionamenti sono stati effettuati prelevando un volume noto e costante di miscela acquosa di reazione ed estraendo la stessa con un volume costante di solvente organico contenente uno standard interno (xilene). In questo modo è stato possibile ricavare le costanti cinetiche delle varie formulazioni (cfr. par. 3.5).

Il rapporto molare tra le quantità di Ferro e quella del composto target è stato volutamente scelto alto (eccesso di ferro) al fine di realizzare condizioni di reazione rappresentabili per semplicità con una cinetica di pseudo-primo ordine secondo la formula:

$$C/C_0 = e^{-k_{obs} t}$$

Le prime prove cinetiche utilizzate sono state condotte trasferendo la formulazione di nZVI in vials da 45 ml riempite con 30 ml di acqua milli-Q disareata e munite di tappo con setto di silicone-teflon per i campionamenti. Le vials così preparate sono state poste in agitazione su agitatore meccanico a 140 rpm. È stato successivamente introdotto il substrato policlorurato in esame tramite il setto della vial utilizzando una siringa di vetro.

I campionamenti sono stati effettuati prelevando con una siringa attraverso il setto di teflon un volume noto e costante di miscela acquosa di reazione ed estraendo la stessa con un volume costante di solvente organico n-esano contenente uno standard interno (xilene).

Con questo metodo sono state condotte prove di degradazione di TCE e PCE singolarmente, utilizzando la formulazione costituita da Pd/Fe 0,1 % molare dispersa mediante agitazione nell'ambiente di reazione.

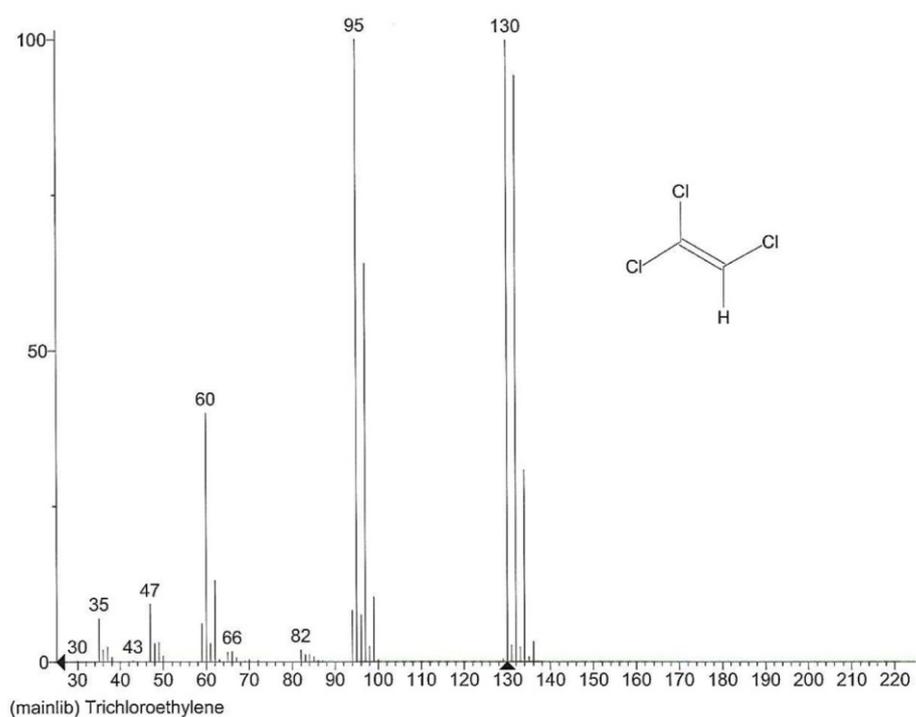
In queste prove preliminari le concentrazioni dei substrati sono state 750 mg/l per quanto riguarda il contaminante e 10 g/l di Pd/Fe 0,1% M.

Il rapporto molare tra la quantità di Pd/Fe e quella dell'idrocarburo policlorurato è volutamente alto (circa 30:1) al fine di realizzare, come detto, le condizioni di reazione rappresentabili con una cinetica di pseudo primo ordine.

La reazione è stata seguita campionando aliquote di soluzione acquosa da 250 µl ogni 5 minuti per la prima mezz'ora, successivamente ogni 30 minuti. Le aliquote acquose sono state estratte in n-esano, contenente anche lo standard interno xilene a concentrazione fissa di 100 mg/l.

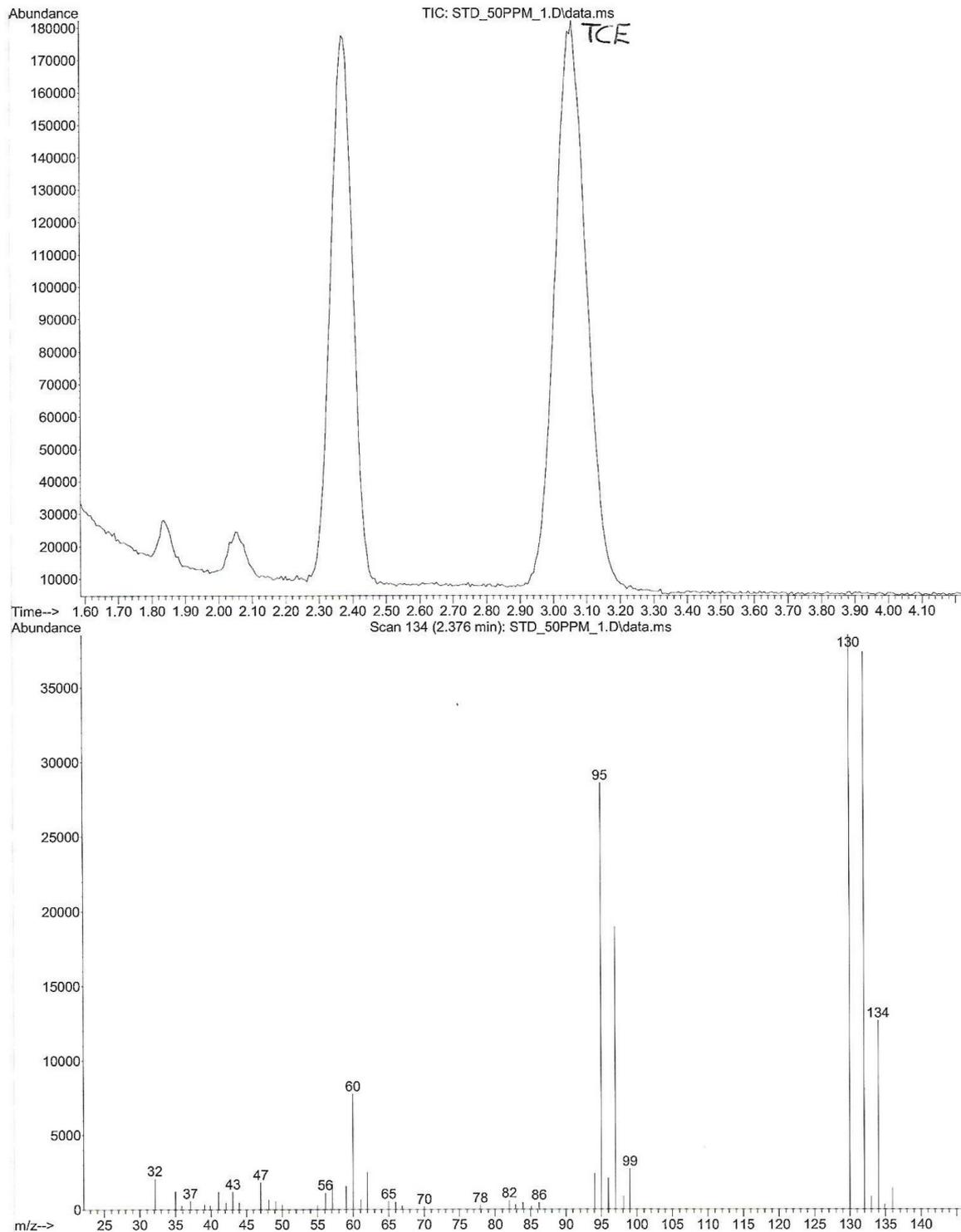
La concentrazione di TCE è stata calcolata dalla retta di calibrazione .

In figura 4.23a è rappresentato lo spettro di massa del TCE, così come riportato nella banca dati dello strumento, nella fig 4.23b invece è rappresentato il cromatogramma del campione analizzato in cui è visibile il picco del TCE accoppiato al suo spettro di massa.



**Fig 4.23 A: spettro di massa standard tipico del TCE così come riportato nella banca dati interna allo strumento.**

i  
Operator : max  
Acquired : 14 Oct 2011 11:58  
Instrument : GCMS5975  
Sample Name: Standard 50 ppm C2HCl3 + C2Cl4  
Misc Info : 35(7.5)  
Vial Number: 1



**Fig 4.23 B: Cromatogramma del TCE analizzato nella cinetica di reazione e spettro di massa accoppiato, in presenza di standard interno (esano) 50 ppm;**

Si può osservare come i frammenti relativi allo spettro campione qui rappresentati (fig 4.23A) siano perfettamente sovrapponibili con quelli del TCE da noi studiato (Fig 4.23B) e

che non si riscontri la presenza di frammenti diversi che potrebbero far pensare alla presenza di altri sottoprodotti di dealogenazione tipo DCE o VCM.

Nella Fig 4.24 è riportata la retta di taratura del TCE ottenuta preparando lo standard in acqua milli-Q e trasferendo 250 µl della stessa in vial da 1 ml di esano contenente lo standard interno xilene (100 mg/l). In Fig 4.26 è riportato l'andamento delle concentrazioni nel tempo, espresse come rapporto tra l'area dell'analita e l'area dello standard interno (xilene), in quanto direttamente proporzionali, ottenuti in alcune delle cinetiche preliminari condotte con il metodo sopra descritto.

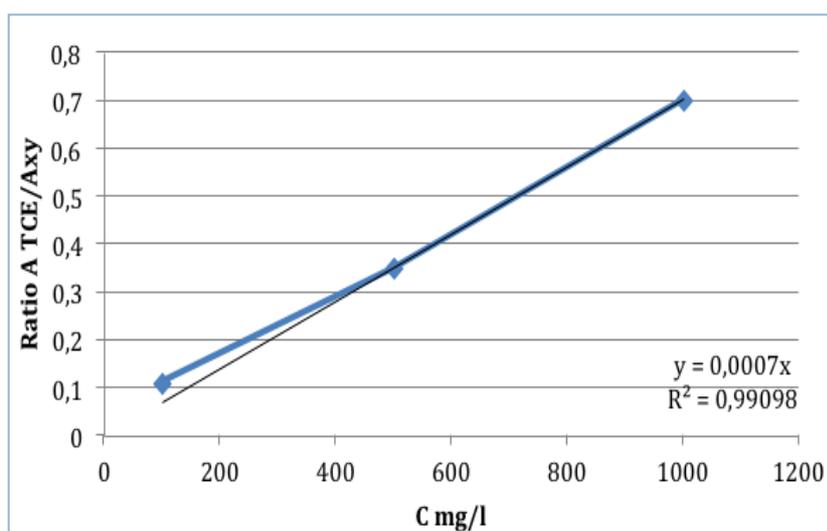


Fig 4.24: Retta di taratura del TCE effettuata in GC-MS prelevando TCE a diverse concentrazioni note

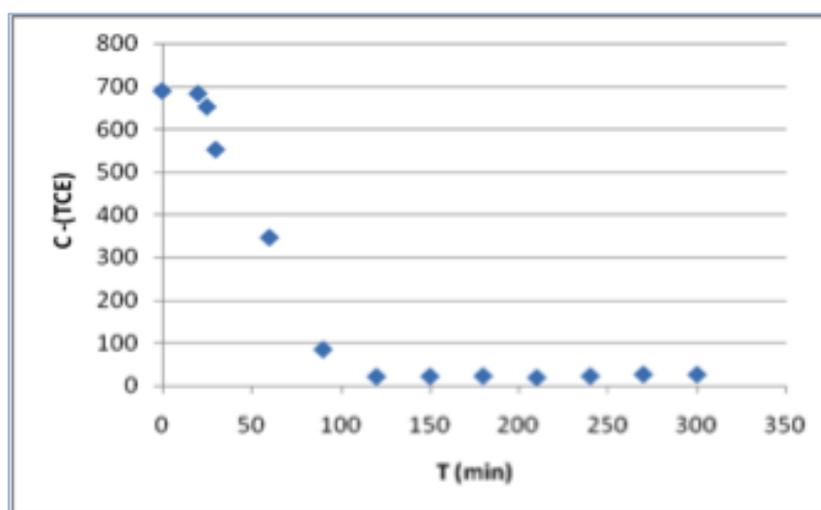


Fig 4.25: profilo di degradazione del TCE ottenuto con preparazione di nanoparticelle Pd/Fe 0,1%

Come si vede dalla Figura 4.25 che riporta a titolo di esempio l'andamento cinetico tipico ottenuto usando come substrato-test TCE, questo è completamente degradato in poco più di 2 ore.

I valori medi di k cinetica ottenuti nei vari esperimenti sono:

$$k_{\text{obs}} = 0.031 \text{ min}^{-1} = 1,9 \text{ h}^{-1}$$

La stessa reazione è stata ripetuta analizzando l'organoclorurato test PCE.

Si sono ottenuti i seguenti andamenti:

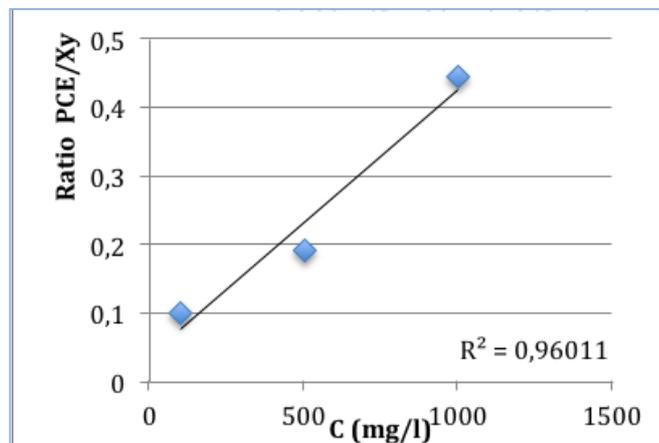


Fig 4.26: retta di taratura del PCE in soluzione acquosa con pretrattamento secondo la metodica analitica descritta (prelievo di 250 µl di soluzione acquosa e trasferimento in vials contenenti 1 ml di esano con standard interno xylene 100 mg/l).

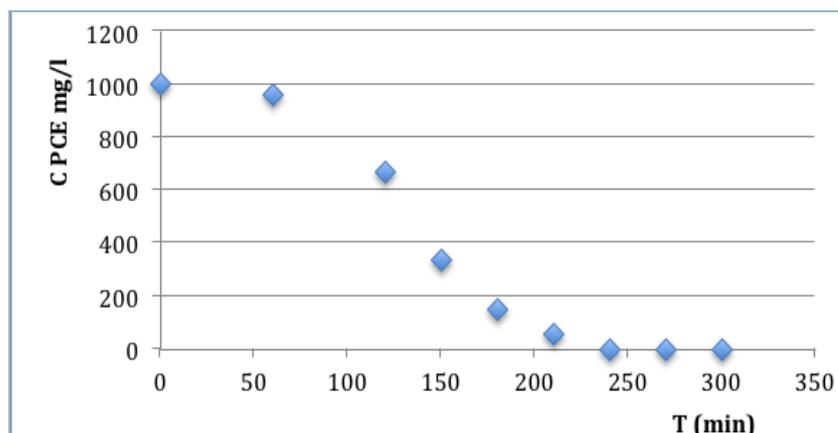


Fig 4.27: curva relativa alla cinetica dell'organoclorurato target PCE.

Anche in questo caso la reazione è relativamente veloce, con la completa degradazione del PCE in meno di tre ore. La costante cinetica misurata nel caso del PCE è:

$$k_{\text{obs}} = 0.025 \text{ min}^{-1} = 1,5 \text{ h}^{-1}$$

I risultati preliminari ottenuti si sono rivelati promettenti.

Tuttavia i dati ottenuti hanno evidenziato una scarsa riproducibilità probabilmente legata al fatto che le particelle di nZVI tendono ad aggregare rapidamente raggiungendo dimensioni micrometriche, come era stato dimostrato anche dalle analisi dimensionali (Fig 4.7a e 4.7b).

In base a questo fenomeno ci si aspetterebbe un forte calo delle costanti cinetiche e delle velocità della reazione di dealogenazione riduttiva degli organo-clorurati. Al contrario, le costanti cinetiche misurate sperimentalmente, sono risultate dello stesso ordine di grandezza di molti valori riportati in letteratura. Una possibile spiegazione di questa apparente contraddizione è venuta da un più attento e approfondito esame della struttura degli aggregati osservati con microscopia SEM e TEM (Figg. 4.1 e 4.2 paragrafo 4.1.1).

Infatti, la forte aggregazione delle particelle di nZVI a formare una struttura dendritica sembra essere avvenuta successivamente alla sintesi delle particelle di nZVI, durante lo stoccaggio, il trasporto e la preparazione del campione per lo studio di microscopia elettronica. Infatti, analizzando il campione a maggiori ingrandimenti, si nota chiaramente che la struttura è formata dall'aggregazione di particelle di nZVI originariamente di dimensioni molto più piccole (qualche decina di nanometri).

I valori relativamente alti delle costanti cinetiche misurate nella reazione di dealogenazione riduttiva di TCE e PCE potrebbero essere in parte spiegati dalla relativamente alta area superficiale specifica sviluppata dalla struttura dendritica e dalla superficie irregolare prodotta dalla aggregazione delle particelle colloidali.

E' quindi di cruciale importanza, a causa della grande mobilità e delle notevoli forze attrattive superficiali di nZVI (forze di Van der Waals e probabilmente forze di tipo magnetico), evitare che, durante la sintesi, la precipitazione e nelle fasi successive durante lo stoccaggio, il trasporto e l'applicazione in falda, si realizzino fenomeni di aggregazione; in alternativa sarebbe necessario controllarla in modo da mantenere le particelle ben distinte, disperse e con dimensioni il più possibile valori analoghe a quanto misurato durante la sintesi.

In questo contesto risulta efficace sottoporre le diverse preparazioni di nZVI all'azione di ultrasuoni prima del loro utilizzo nella reazione di dealogenazione riduttiva: infatti è stato descritto (paragrafo 4.2.6) come l'aggregazione delle particelle sia un processo reversibile per cui le particelle di nZVI sottoposte all'azione degli ultrasuoni per un periodo della durata di 105 minuti riprendono le dimensioni originali possedute al momento della loro sintesi.

Per ovviare a questo problema, che è tanto più grave quanto più la contaminazione è localizzata nel plume di contaminazione (dove la concentrazione di contaminante si abbassa), si è concentrata l'attenzione su altre formulazioni al fine di superare le criticità evidenziate ovvero:

- instabilità dimensionale e chimica delle soluzioni acquose del nZVI nel tempo;

- bassa riproducibilità dei risultati;
- variabilità delle costanti cinetiche;

a cui si aggiunge durante l'applicazione direttamente in campo, l'eventuale competizione con altri inquinanti non target presenti nella falda (nitrati, Cr(VI), etc...)

E' possibile ottenere ciò modulando opportunamente le intense forze superficiali che agiscono sulle nanoparticelle mediante l'aggiunta di additivi, emulsionanti, stabilizzanti e incapsulanti, trovando un giusto compromesso tra la reattività e la stabilità delle formulazioni di nZVI.

Successivamente si è voluto estendere lo studio della cinetica della reazione del nZVI con tricloroetilene (TCE) a concentrazioni molto più basse di quelle utilizzate nella fase esplorativa, al fine di valutarne il comportamento cinetico nelle condizioni di concentrazione il più vicine possibile a quelle riscontrabili nel plume di contaminazione delle acque di falda. Tenendo conto che i limiti di legge per le concentrazioni di TCE sono rispettivamente 10 ppb per le acque superficiali e 1 ppb per le acque sotterranee, si è deciso di utilizzare concentrazioni di contaminante fino a un massimo di 10.000 volte il valore soglia ammesso per legge (10- 20 mg/l) .

La quantità di nZVI utilizzata è di 100 volte maggiore rispetto al TCE ovvero si è deciso di lavorare in largo eccesso di nZVI sia per ridurre gli effetti dell'instabilità chimica del contaminante in soluzione acquosa e della sua eventuale ossidazione con substrati diversi dal TCE, sia per ridurre gli effetti di aggregazione del nZVI, sia per avere una cinetica di reazione riconducibile ad uno pseudo-primo ordine.

In questa seconda fase è stato deciso di focalizzare l'attenzione solo sul contaminante TCE essendo, oltre che uno dei principali contaminanti, anche uno dei principali prodotti di dealogenazione del PCE (Fagerlund, Illangasekare, Phenrat, Kim, & Lowry, 2012; Taghavy, Costanza, Pennell, & Abriola, 2010).

Le prove cinetiche sono state effettuate utilizzando un gas cromatografo accoppiato ad un spettrometro di massa e/o ad un rivelatore a ECD al fine di valutare la scomparsa del TCE e la eventuale comparsa di prodotti intermedi di reazione.

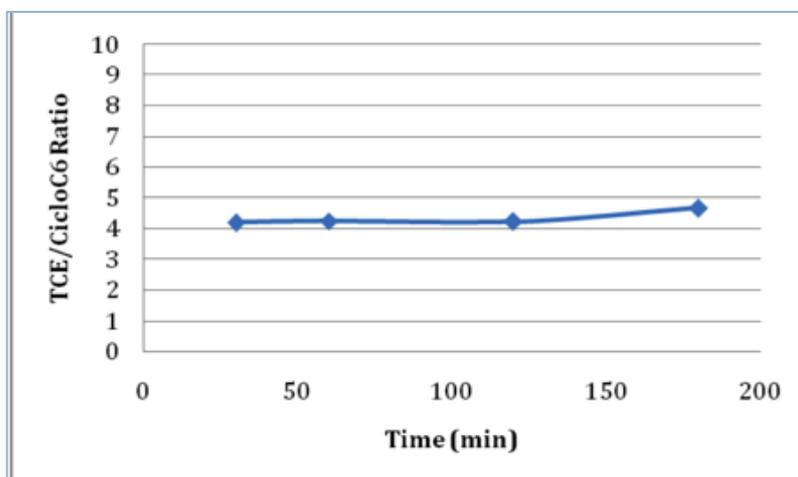
#### **4.2.2 Prove di reattività delle formulazioni di nZVI-realizzate con il metodo "bulk"**

Le prime prove cinetiche, di tipo esplorativo, sono state condotte lavorando in un unico bulk di reazione.

In una vial di vetro con tappo "crimp" e setto forato in silicone-teflon sono stati introdotti 20 mg di nZVI insufflando azoto per eliminare le tracce di ossigeno presenti. Successivamente, sono stati inseriti 19,8 ml di acqua milli-Q, a cui sono stati aggiunti 200 µl di soluzione di TCE in concentrazione 1 g/L in modo da ottenere una concentrazione finale di TCE di 10 mg/l. A tale sospensione sono stati aggiunti 60 µl di cicloesano come standard interno. La vial è stata sonicata per 5 minuti, posta in agitazione in stufa alla temperatura costante di 35°C e sono

stati effettuati prelievi dello spazio di testa a tempi stabiliti prelevando direttamente dalla vial 250  $\mu$ l.

L'analisi dello spazio di testa nel tempo ha dato i risultati riportati nella Fig 4.28:



**Fig 4.28** Rapporto tra l'area del picco relativo al TCE e quello del cicloesano valutato al passare del tempo: come si nota dal grafico, la quantità di TCE non mostra nessuna flessione nel tempo.

I risultati dimostrano che la reazione di dealogenazione riduttiva del TCE non avviene, infatti in tre ore la concentrazione del TCE nello spazio di testa non è cambiata. Una possibile spiegazione di tale risultato potrebbe venire dalla considerazione che, nelle condizioni operative utilizzate, prevalgono le reazioni competitive del nZVI (ossidazione ad opera dell'acqua con produzione di idrogeno molecolare, ossigenazione, reazione con nitati, aggregazione delle particelle...) sulla reazione di dealogenazione riduttiva del TCE la cui concentrazione tra l'altro è molto bassa rispetto a quella utilizzata nello studio cinetico della prima fase, mentre la quantità di acqua rimane la stessa.

Inoltre, il possibile spostamento del TCE nella fase vapore, può contribuire ulteriormente a diminuire gli urti tra particelle di nZVI e TCE in soluzione acquosa.

#### **4.2.3 Prove cinetiche esplorative utilizzando il metodo "batch"**

Per ovviare al problema incontrato con il metodo bulk si è deciso di lavorare in batch, riempiendo completamente le vials durante la reazione tra il contaminante e nZVI (Thangavadivel et al., 2013).

Il completo riempimento ha lo scopo di assicurare che non vi sia spazio di testa nelle vials.

La cinetica è stata condotta trasferendo le formulazioni di nZVI (5 mg) in 5 vials da 10 ml completamente riempite con una soluzione di TCE in acqua milli-Q alla concentrazione di 10 mg/l.

Le vials dotate di tappo in silicone-teflon sono state sigillate, sonicate per un paio di minuti a 20°C unicamente per consentire la dispersione del nZVI (par. 4.25 e 4.26), successivamente sono state trasferite in un agitatore posto in stufa termostata a 35°C e sono state agitate per tutto il tempo della reazione a 600 rpm (Thangavadivel et al., 2013).

A tempi diversi (15 minuti, 30 minuti, 60 minuti, 120 minuti, 180 minuti) sono stati prelevati 500 µl di soluzione con siringa di vetro, filtrati al fine di bloccare la reazione e prevenire l'eventuale interferenza con l'analisi, e trasferiti in una seconda vial da 6 ml con tappo in silicone-teflon sigillata. Si sono attesi 5 minuti al fine di raggiungere l'equilibrio tra la fase liquida e la fase vapore, successivamente sono stati prelevati 0,25 ml (250 µl) di spazio di testa che è stato iniettato in colonna.

Per il calcolo della costante cinetica si è deciso, basandosi sulla letteratura esistente (Liu, Majetich, Tilton, Sholl, & Lowry, 2005), su pubblicazioni specifiche (Tamburini & Flor, 2009) e considerando il rapporto molare dei reagenti (1:100 circa), di considerare la reazione come governata da una cinetica di pseudo primo ordine secondo la formula:

$$C/C^{\circ} = e^{-k_{\text{obs}} t}$$

ovvero

$$\text{Ln}(C^{\circ}/C) = k_{\text{obs}} t$$

L'andamento della diminuzione della concentrazione del TCE nel tempo è stato analizzato prelevando a tempi diversi 250 µl dello spazio di testa di ciascuna vial.

Sono stati ottenuti i risultati riportati in tabella 4.4.

**Tab 4.4: cinetica di reazione del campione 4, partendo da una concentrazione di TCE di 10,1 mg/l.**

campione	C (mg/l) TCE	t min
4.0	10,1	0
4.1	8,5	15
4.2	8,4	30
4.3	7,3	60
4.4	7,8	120
4.5	7,7	180

La stessa prova è stata ripetuta in un secondo batch di 5 vials, effettuando però per ciascuna vial due prelievi dello spazio di testa in tempi successivi al fine di verificare l'andamento nel tempo della concentrazione di TCE nello spazio di testa delle singole vials e l'influenza di un prelievo sui prelievi successivi.

Anche in questo caso si può vedere una diminuzione della concentrazione del TCE nel tempo, che risulta sovrapponibile alla prova precedente confermandone l'andamento.

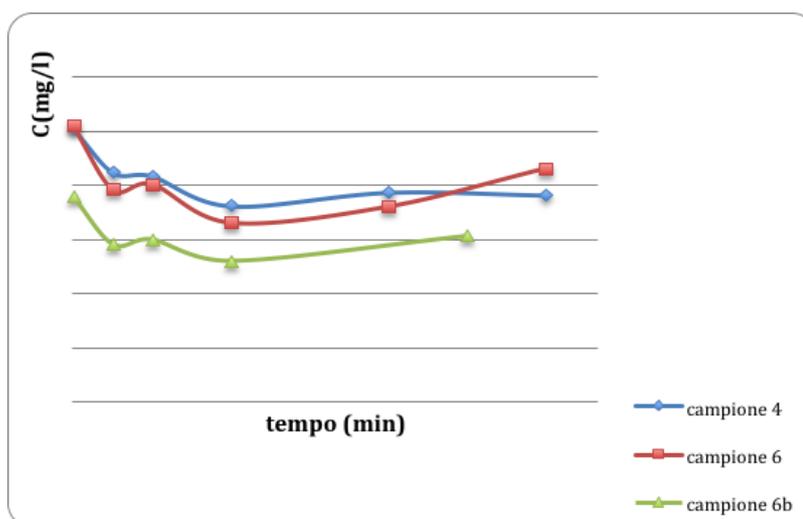
Anche il secondo prelievo effettuato nelle stesse vials conferma un andamento analogo (tab 4.5 e 4.6): le concentrazioni di TCE risultano ovviamente più basse poiché la concentrazione di TCE nello spazio di testa è stata impoverita a causa del primo prelievo effettuato. Nonostante questo, la pendenza e l'andamento della curva risulta sovrapponibile a quelle precedenti.

**Tab 4.5: cinetica di reazione del campione 6, partendo da una concentrazione di TCE di 10,23 mg/l.**

campione	C (g/l) TCE	t min
6.0	10,2	0
6.1	7,9	15
6.2	8,1	30
6.3	6,6	60
6.4	7,2	120
6.5	8,7	180

**Tab 4.6: replica della cinetica di reazione del campione 6 ottenuta effettuando un secondo prelievo dalla stessa vial: la concentrazione di TCE di partenza risulta ovviamente inferiore al primo prelievo.**

campione	C (g/l) TCE	t min
6.0bis	7,6	0
6.1bis	5,9	15
6.2bis	6,0	30
6.3bis	5,2	60
6.4bis	6,2	150



**Fig 4.29: andamento della concentrazione nel tempo dei campioni 4, 6 e 6 (2° prelievo dalla stessa vial).**

In tutte le cinetiche esaminate, e anche nella replica, il TCE è risultato subire una parziale degradazione dopo circa 1 ora, per poi stabilizzarsi e raggiungere un plateau.

I risultati ottenuti sono considerati non soddisfacenti: anche se all'inizio si osserva una diminuzione della concentrazione di TCE, tale diminuzione si arresta già dopo 60 minuti dall'inizio della reazione, segno che in qualche modo il nZVI diminuisce drasticamente la sua reattività: emerge quindi la necessità di ottimizzare il protocollo di trattamento delle particelle di nZVI prima di iniziare la cinetica di reazione, in modo da incrementare sia la dispersione delle particelle sia la loro stabilizzazione nelle dimensioni nanoscopiche per tutto il periodo della cinetica di reazione mediante l'utilizzo di idrocolloidi come la Gomma Guar o di stabilizzanti come l'acido glutammico.

Innanzitutto sono state eseguite diverse prove al fine di indagare le migliori condizioni sperimentali per condurre una cinetica in batch.

E' stato primariamente verificato se la quantità di nZVI utilizzata nelle prove preliminari, ovvero 5 mg su 10 ml (5g/l), fossero sufficienti per creare un largo eccesso di nZVI rispetto al TCE.

Si deve infatti considerare, trattando le nanoparticelle, che la quantità nominale o teorica spesso non corrisponde alla quantità realmente presente nell'ambiente di reazione proprio per l'estrema reattività che le caratterizza.

Con 5 mg di nZVI in 10 ml (5 g/l) abbiamo un rapporto molare tra TCE (10 mg/l) e nZVI di circa 1:100, vale a dire che il nZVI è nominalmente 100 volte il TCE. Testando concentrazioni crescenti di nZVI relativamente alla capacità di dealogenare il TCE si ottiene lo schema riportato nella tabella 4.7:

**Tab 4.7: prove di dealogenazione di TCE con quantità di nZVI crescenti a t= 20 minuti e t=112 minuti**

CAMPIONE	QUANTITA' DI nZVI teorica (mg)	QUANTITA' DI nZVI pesata (mg)	Rapporto molare TCE/nZVI	Area al tempo T=0	Area dopo 20 min	Area dopo 112 min
1	5	5,2	1:100	52107	29951	25722
2	15	16,7	1:350	51545	21696	21490
3	25	26,2	1:580	52665	21065	20615
4	50	50,7	1:1160	52173	20819	19708

L'aggiunta di 15 mg di nZVI determina un abbassamento della quantità di TCE maggiore rispetto a quello che si ottiene utilizzando 5 mg di nZVI: si può supporre che, nonostante anche con 5 mg il nZVI sia stechiometricamente in largo eccesso, forse per i fenomeni di aggregazione, di saturazione dei siti reattivi, di passivazione ad opera dell'ossigeno eventualmente presente nelle vials e di sedimentazione, esso non sia in reale eccesso. Ne è dimostrazione il fatto che lavorando con 15 mg di nZVI la quantità di TCE diminuisce maggiormente sia dopo 20 minuti che dopo 112 minuti. D'altra parte, una quantità ancora maggiore di nZVI (25 e 50 mg) non porta una variazione sostanziale nel consumo di TCE: la reazione infatti va a plateau a concentrazioni crescenti di reattivo.

Inoltre, mentre l'aumento della concentrazione di nZVI determina una maggiore dealogenazione all'inizio della cinetica, il fenomeno non si osserva per i punti a 112 minuti, segno che in tempi superiori all'ora, la aggregazione delle particelle prevale rispetto alla dealogenazione del contaminante target.

Si può quindi ipotizzare che esista una concentrazione limite di nZVI al di sopra della quale le particelle di nZVI entrino in contatto tra di loro e quindi sia favorita l'aggregazione e le altre reazioni competitive che risultano essere preponderanti rispetto alla reazione di dealogenazione con il TCE.

Questa prova ci dimostra che una delle cause del lento andamento della cinetica può essere imputata ad una quantità di nZVI non sufficiente per cui si è deciso di modificare la quantità di nZVI portandola a 15 mg.

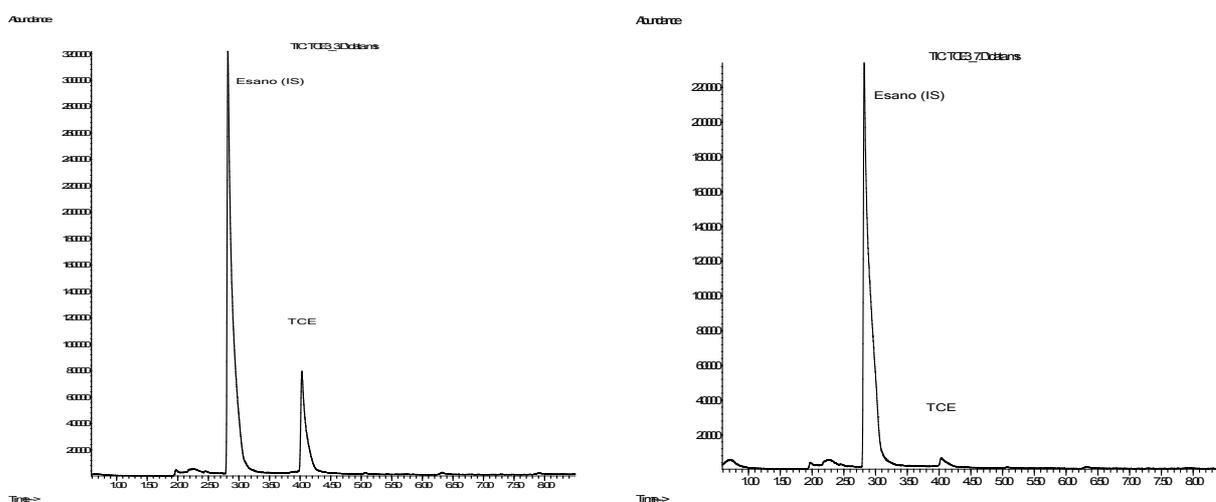
In letteratura (Cheng, Fernando, & Korte, 1997; Liu et al., 2005; Orth & Gillham, 1996) il rapporto tra la fase liquida e la fase vapore all'interno della vial dove avviene la reazione di dealogenazione è 1:2 o 1:3: questo significa che, utilizzando una vial da 8 ml, il massimo volume di liquido che possiamo introdurre è 2-3 ml, per favorire al massimo il passaggio del TCE rimasto nella soluzione, dopo filtrazione, dalla fase liquida alla fase vapore fino al raggiungimento dell'equilibrio di ripartizione.

Il tempo di equilibrio che è stato applicato per permettere il passaggio del TCE dalla fase liquida alla fase vapore non è stato mai inferiore ai 30 minuti.

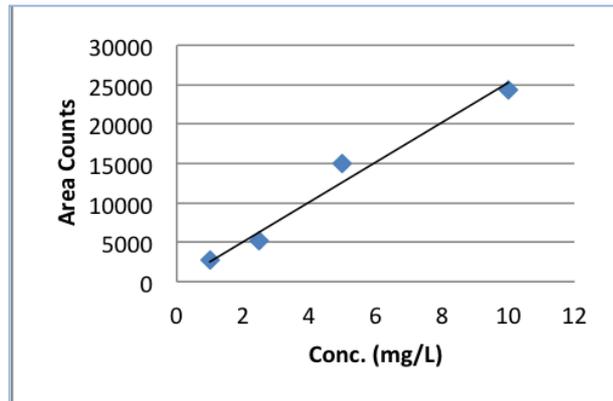
Per questo motivo, le prove cinetiche sono state ripetute modificando il metodo descritto nel precedente paragrafo ovvero:

1. utilizzando 15 mg di nZVI al posto di 5 mg;
2. prelevando un solo ml dal liquido di filtrazione e ponendolo nella seconda vial per permettere il raggiungimento dell'equilibrio;
3. Aumentando il tempo di equilibrio liquido/vapore da 5 minuti a 30 minuti.

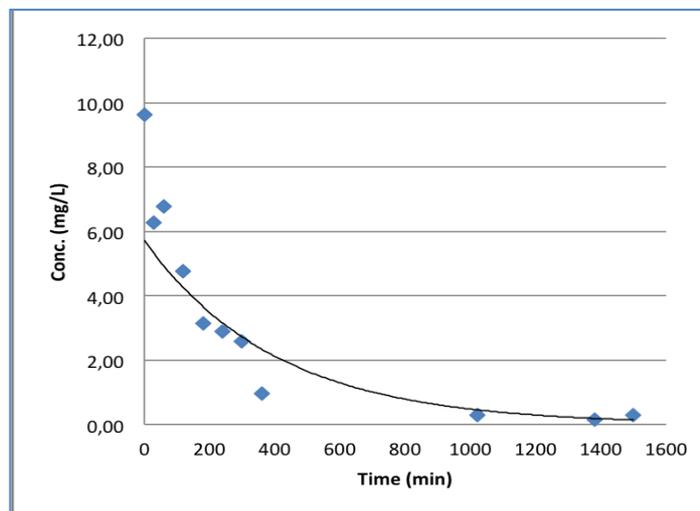
Applicando al metodo le modifiche sopra elencate, si è ottenuto il seguente risultato:



**Fig 4.30: Due cromatogrammi registrati a due diversi tempi della cinetica, in cui si può vedere l'attenuazione del segnale del TCE, segno della progressione della cinetica, e il picco dello standard interno esano perfettamente separato e di altezza costante nel tempo.**



**Fig. 4.31:** Retta di calibrazione del TCE a diverse concentrazioni (1 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l) in presenza di 60 µl di standard interno esano (334 ppm).



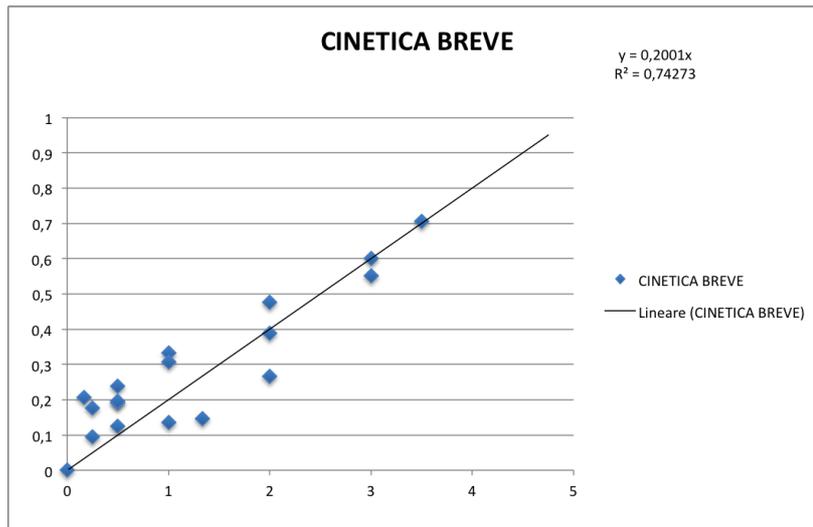
**Fig 4.32:** Andamento della concentrazione del TCE nel tempo

Le modifiche adottate hanno portato un netto miglioramento della cinetica della reazione.

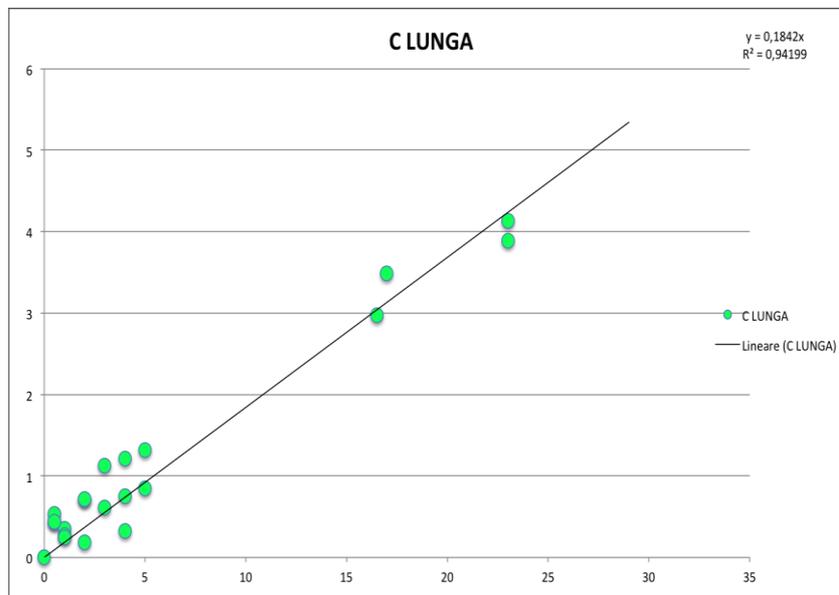
Utilizzando il metodo con le correzioni sopra descritte sono state condotte diverse prove cinetiche: alcune sono state seguite per tempi brevi, altre sono state seguite per tempi più lunghi, oltre le 20 ore.

Per comodità nell'interpretazione dei risultati le cinetiche sono state divise e raggruppate, quelle che sono state seguite per un periodo più breve (massimo 6 ore) sono state denominate "cinetica breve" mentre quelle che sono state seguite per un tempo oltre le 20 ore sono state denominate "cinetica lunga".

I risultati sono riassunti negli andamenti riportati nelle figg 4.33 e 4.34.



**Fig 4.34: Andamento delle cinetiche di degradazione del TCE seguite per 5 ore**



**Fig 4.35: andamento delle cinetiche di degradazione seguite per un periodo di 20 ore.**

Le costanti così ottenute misurano rispettivamente :

$K_{obs} = 0,2 \text{ h}^{-1}$  per la cinetica definita “corta”

$K_{obs} = 0,184 \text{ h}^{-1}$  per la cinetica definita “lunga”

I valori ottenuti sono piuttosto simili, sia che si tratti di una cinetica seguita “a completamente” sia che si tratti di una cinetica seguita soltanto nella sua prima parte.

#### 4.2.4 Cinetica relativa a un sottoprodotto intermedio della degradazione del TCE, il DCE

Contemporaneamente a queste analisi si è voluto verificare se durante la dealogenazione riduttiva da parte del nZVI sul TCE si formassero prodotti intermedi di dealogenazione (es il cis 1,2 DCE o il CVM).

Da diversi articoli in letteratura (Gillham & O'Hannesin, 1994; C. J. Lin et al., 2004; S.-M. Wang & Tseng, 2009) si evince che è possibile che si formino dei prodotti intermedi di dealogenazione riduttiva durante la cinetica di reazione, in particolare il cis-1,2 dicloroetilene e il cloruro di vinile.

La metodica che è stata utilizzata per lo studio cinetico, ovvero la gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa, consente di condurre anche una analisi di tipo qualitativo ovvero da la possibilità di vedere che tipo di sottoprodotti si formano durante la reazione e di caratterizzarli con precisione.

La Fig. 4.35 rappresenta un cromatogramma di una delle cinetiche studiate accoppiato allo spettro di massa relativo:

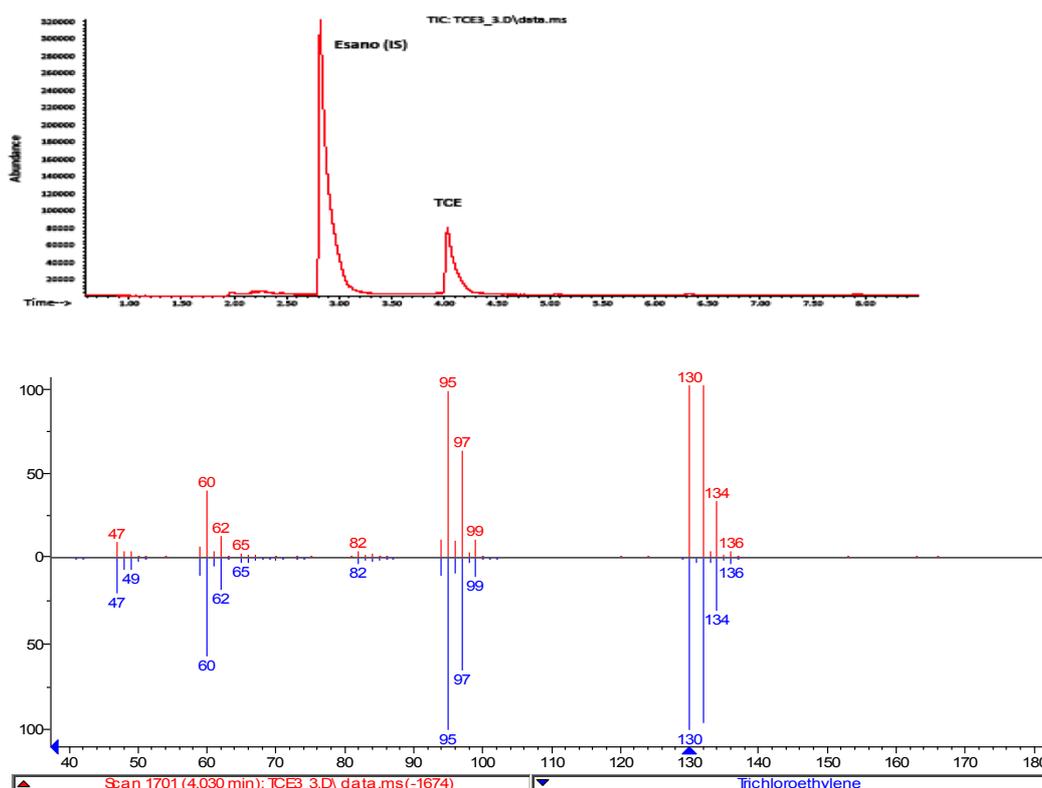


Fig 4.35: confronto tra lo spettro di massa del TCE del campione (in rosso) con quello standard (in blu).

Come si può vedere dal confronto tra lo spettro di massa del campione analizzato (fig 4.36-rosso) e lo spettro di massa del TCE come confronto (blu), i due spettri risultano perfettamente sovrapposti e indicano che non ci sono altri frammenti che possano far pensare alla presenza di prodotti intermedi di degradazione.

Come ulteriore conferma è stata analizzata una cinetica di uno dei supposti sottoprodotti di reazione, il 1,2-cis DCE.

La prova cinetica è stata effettuata utilizzando la stessa metodica applicata alle cinetiche del TCE: anche le concentrazioni sono state mantenute uguali, ovvero 10 mg/l di DCE e 20 mg di nZVI.

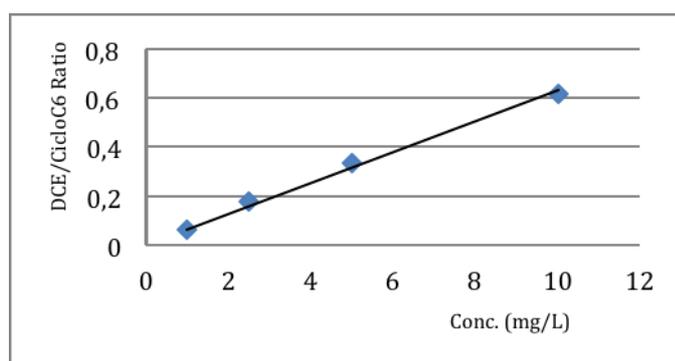


Fig 4.36: retta di calibrazione del DCE a quattro diverse concentrazioni (1mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l).

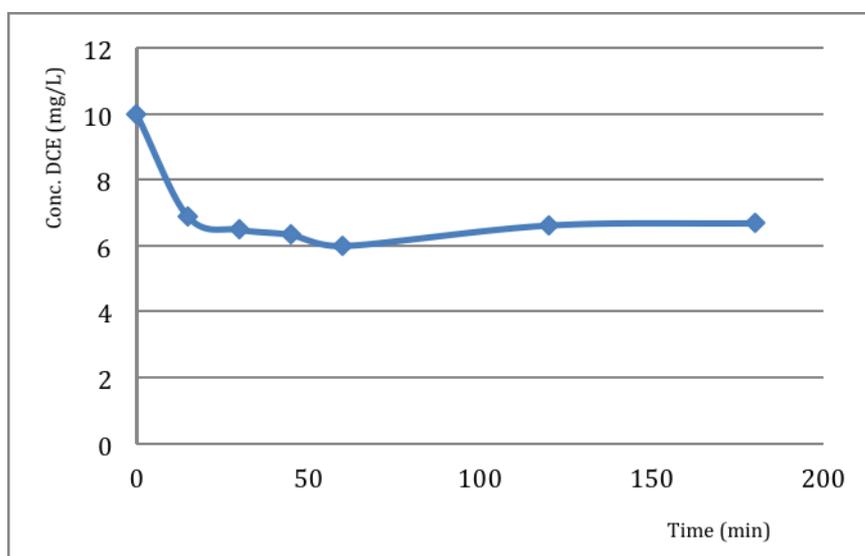
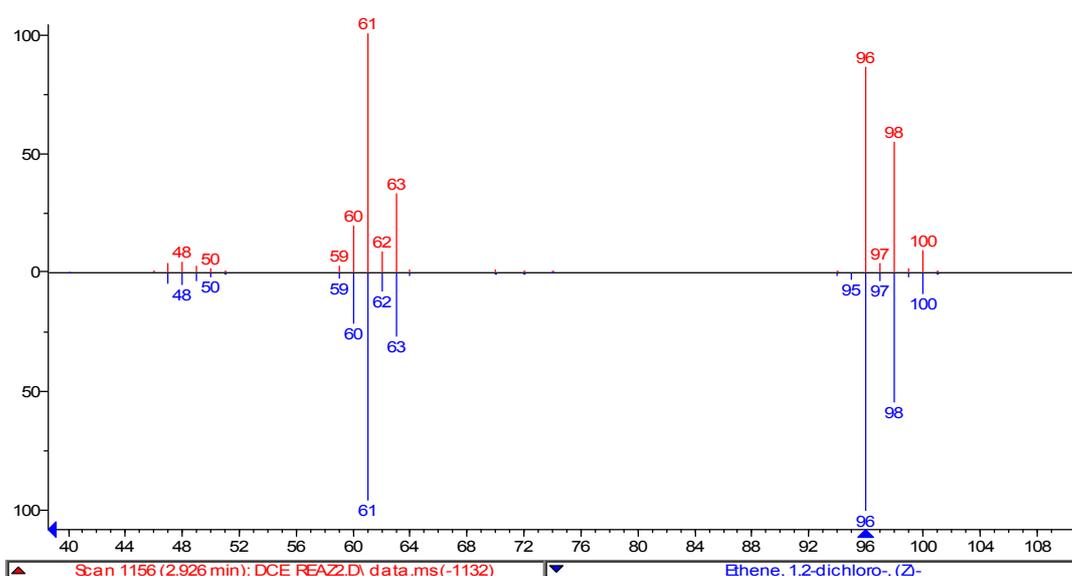


Fig 4.37: cinetica di dealogenazione del 1,2-cis DCE in presenza di 20 mg di nZVI.

La prova cinetica dimostra che anche il DCE è sensibile all'azione del nZVI. Poichè lo spettro di massa rappresenta l'insieme degli ioni-frammento contraddistinti per massa e abbondanza relativa, generati per urto elettronico da ogni determinata sostanza, si evince come sostanze diverse, diano spettri di massa differenti. Questa informazione è estremamente utile perché consente di effettuare, con rapidità e precisione, l'analisi qualitativa del campione in oggetto semplicemente interpretandone i frammenti o

confrontando lo spettro del composto analizzato con quello archiviato nella banca dati dello strumento o, meglio ancora, confrontandolo con lo spettro di massa di un composto noto che viene iniettato appositamente dall'operatore (Stillwell, Bryant, & Wishnok, 1987; Sturaro et al., 1992). Poiché la qualità dello spettro può essere influenzata dalla concentrazione, dalla temperatura della sorgente ionica, dall'energia degli elettroni bombardati e da altre variabili strumentali, l'attribuzione è sicuramente più attendibile se lo stesso composto, usato come standard, è rilevato nelle stesse condizioni sperimentali. Analizzando gli spettri di massa del cis 1,2-DCE nelle diverse vials in cui viene condotta la reazione di dealogenazione e confrontandoli con lo spettro del cis 1,2 DCE standard si nota come non siano presenti altri frammenti ionici se non quelli caratteristici del DCE.



**Fig 4.38 Spettro di massa del cis-1,2-DCE (campione -in rosso) in confronto con cis-1,2-DCE (riferimento-in blu): si nota la perfetta sovrapposizione dei picchi e l'assenza di altri frammenti indice della presenza di sottoprodotti diversi dal DCE in soluzione.**

Le prove condotte farebbero quindi supporre che nella reazione di dealogenazione del TCE ad opera del nZVI non vi sia la formazione di sottoprodotti organoclorurati, confermando quanto riportato in letteratura (Fagerlund et al., 2012; Taghavy et al., 2010).

#### 4.2.5 Cinetica di degradazione realizzata utilizzando la formulazione di nZVI con Fe/Pd

E' noto in letteratura come il palladio sia un catalizzatore e uno stabilizzatore delle formulazioni di nZVI e abbia la capacità di accelerare le cinetiche di reazione (Cheng et al., 1997; Lien & Zhang, 2001; Liu et al., 2005).

Poiché le cinetiche fin qui esaminate hanno dimostrato un comportamento piuttosto riproducibile caratterizzato da una buona reattività del nZVI all'inizio della reazione ma con un rallentamento della stessa dovuto probabilmente a fenomeni di aggregazione e

ossidazione del nZVI, che competono con la reazione di dealogenazione del TCE, si è deciso di testare l'azione del palladio.

A tale scopo sono state preparate particelle di Fe/Pd utilizzando due metodiche diverse.

#### 4.2.5.1. Cinetiche Fe/Pd metodica classica

In questo primo caso le particelle di Fe/Pd sono state sintetizzate come riportato in letteratura e come è stato ampiamente descritto nel paragrafo 3.2.4.

Le cinetiche di reazione sono state effettuate utilizzando la metodica in batch.

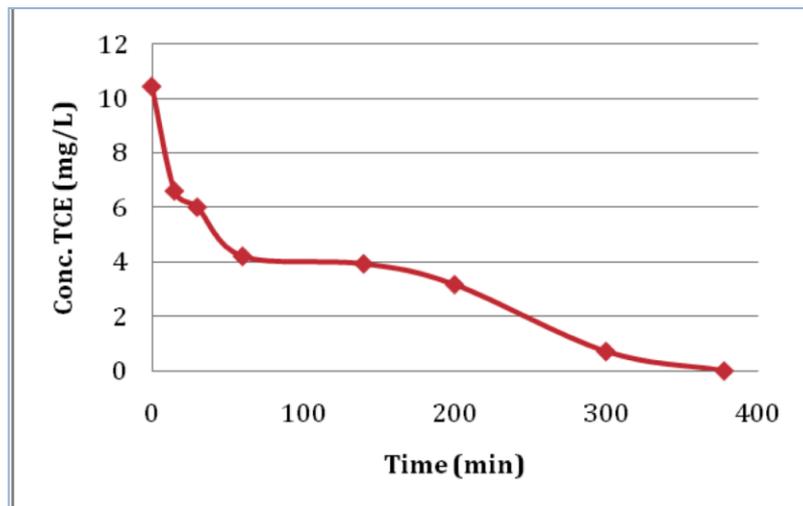


Fig 4.39: Cinetica di dealogenazione del TCE (10 mg/l) con Fe/Pd 20 mg con metodo in batch analizzata tramite GC/MS.

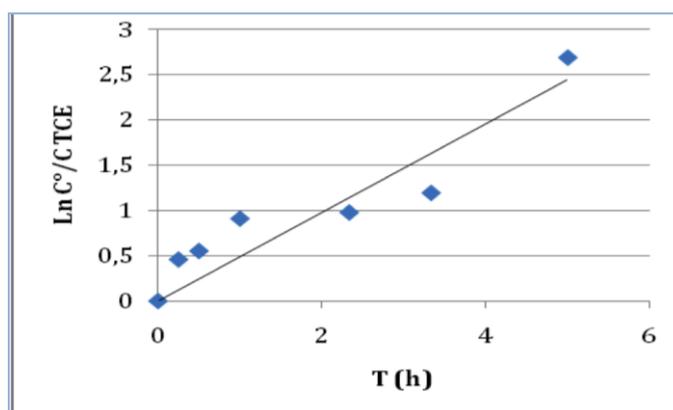


Fig 4.40: Andamento della cinetica di dealogenazione del TCE in presenza di nZVI/Pd effettuata in batch.

La costante così ottenuta misura :

$$K_{\text{obs}} = 0,49 \text{ h}^{-1}$$

#### 4.2.5.2 Cinetica Fe/Pd metodica inversa

Poiché in letteratura viene ribadita l'importanza che il sodioboro idruro, il riducente, sia in largo eccesso rispetto al sale ferrico, è stato sperimentato un metodo alternativo per la sintesi di nZVI nel quale, anziché aggiungere il riducente al sale ferrico, viene fatto il contrario, in modo che il riducente si trovi, fin dalle prime aggiunte di sale ferrico, in larghissimo eccesso: ciò dovrebbe favorire maggiormente la nucleazione rispetto alla crescita molecolare portando alla formazione di particelle nanoscopiche.

Quello che si è osservato è stato lo sviluppo di una grande quantità di idrogeno gassoso durante la reazione e la formazione di un solido nero simile ad un fango che risulta impossibile da filtrare. Il solido così ottenuto è stato allora centrifugato a 5000 giri/min per 10 minuti, è stato eliminato il supernatante costituito principalmente da acqua, è stato lavato prima con acqua mill-Q e successivamente con metanolo, ricentrifugato e successivamente addizionato con una soluzione di esacloropalladiato di potassio.

Il composto ottenuto è stato sottoposto nuovamente a centrifugazione per eliminare la parte liquida: il solido, di colore nero, dopo essere stato insufflato con azoto all'interno del dry box, è stato prelevato con una spatolina di metallo, raccolto in un vetrino da orologio e posto ad asciugare in stufa a 35°C per 1 ora.

Si è ottenuto un composto secco, di colore bruno non più nero, segno che una parte di nZVI ha subito una probabile ossidazione superficiale.

All'interno, il solido mostrava il suo caratteristico colore nero.

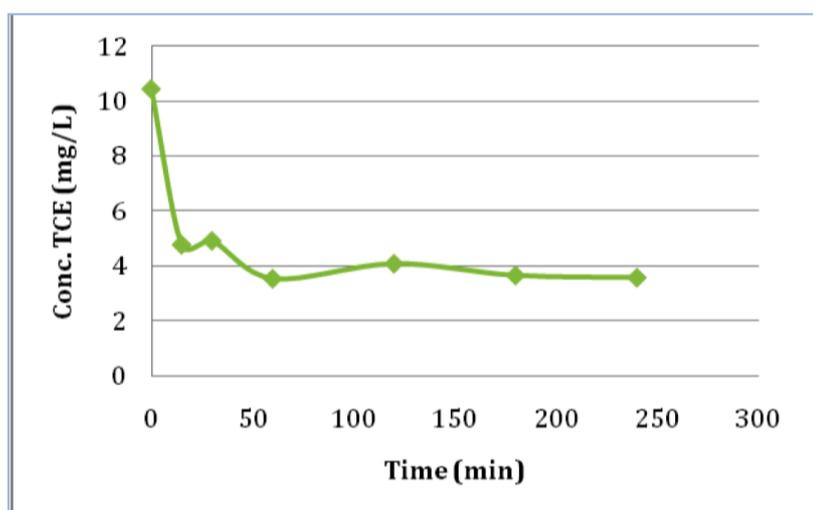
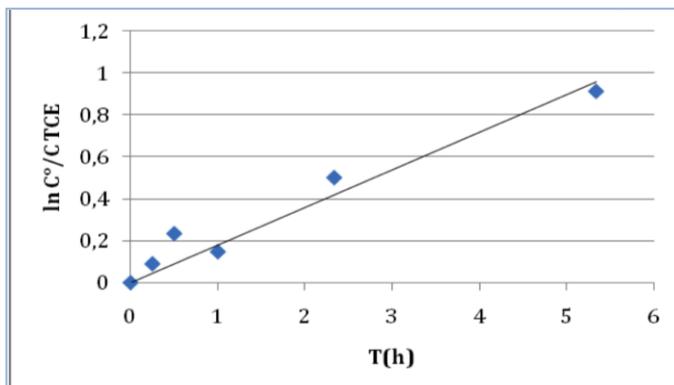


Fig 4.41: Cinetica di dealogenazione del TCE (10 mg/l) con Fe/Pd 20 mg ottenuta con procedura "inversa" analizzata con metodo in batch analizzata tramite GC/MS.

A differenza della cinetica precedente (fig 4.39), in questo caso la cinetica non è andata a completamento nonostante la presenza di Palladio, a dimostrazione che nZVI aveva probabilmente subito una parziale ossidazione con il trattamento in stufa che ne ha diminuito la reattività.

L'andamento della curva cinetica ricalca quello delle cinetiche effettuate in assenza del palladio: ad una prima fase in cui la diminuzione della concentrazione del TCE è molto rapida segue un appiattimento della curva e un rallentamento della reazione che si blocca dopo aver degradato il 60% del TCE.



**Fig 4.42: logaritmo del rapporto di concentrazioni di TCE nel tempo, in reazione con nZVI/Pd ottenuto con metodologia "inversa".**

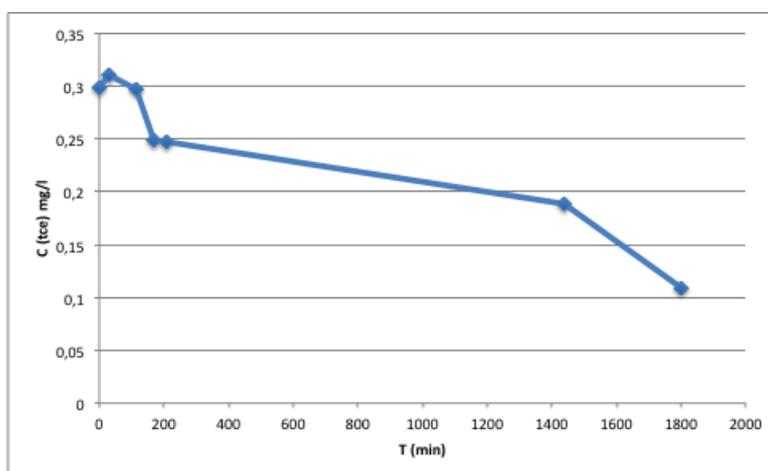
La costante così ottenuta misura :

$$K_{obs} = 0,18 \text{ h}^{-1}$$

Questo valore è in linea con quello misurato nelle reazioni in assenza di palladio segno che i fenomeni di ossidazione superficiali "annullano" l'effetto del catalizzatore.

L'esperimento è stato ripetuto facendo però seccare il nZVI/pd ottenuto con metodica "inversa" all'interno del dry box sotto atmosfera di azoto per una notte. Le analisi sono state condotte utilizzando un GC/ECD partendo da una concentrazione iniziale di TCE in soluzione pari a 1,463 mg/l.

I risultati ottenuti sono stati i seguenti:



**Fig 4.43: Cinetica di dealogenazione del TCE (1,463 mg/l) con Fe/Pd 20 mg ottenuta con procedura "inversa" analizzato con metodo in batch analizzata tramite GC/ECD.**

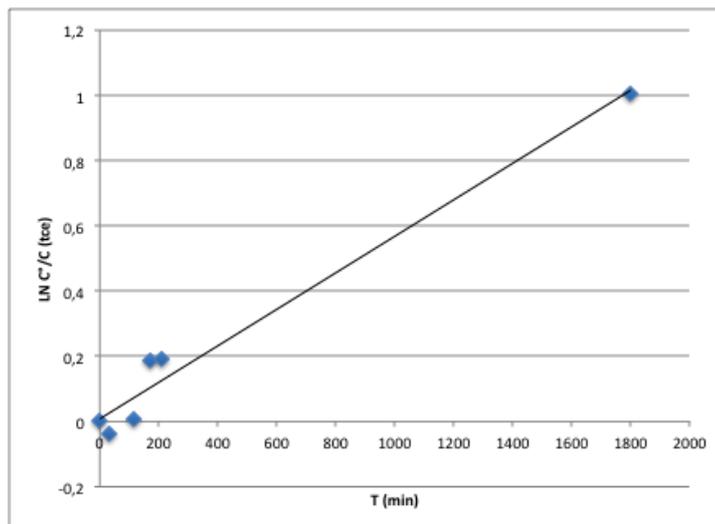


Fig 4.44: logaritmo del rapporto di concentrazioni di TCE nel tempo, in reazione con nZVI/Pd ottenuto con metodologia “inversa”.

La costante così ottenuta misura :

$$K_{obs} = 0,04 \text{ h}^{-1}$$

Confrontando le due metodiche, è possibile affermare che la formulazione con Fe/Pd ottenuta con il metodo classico ha dato i migliori risultati.

Paragonando la cinetica del Fe/Pd con la cinetica ottenuta utilizzando il solo nZVI si può notare come entrambe vadano a completamento, ma, mentre il nZVI da solo impegna quasi 24 ore per dealogenare completamente il TCE, il Fe addizionato a piccole percentuali di Palladio impiega meno di 6 ore. Inoltre si può apprezzare l’effetto stabilizzante del palladio che evita anomale oscillazioni dell’andamento della curva cinetica dovute probabilmente a fenomeni di aggregazione e disaggregazione del nZVI durante la reazione, come di passivazione dei siti reattivi ad opera di reazioni collaterali con ossigeno e con l’aqua.

Per quanto riguarda la formulazione “inversa”, è evidente come i fenomeni di ossidazione annullino completamente il contributo del palladio nella velocizzazione della reazione.

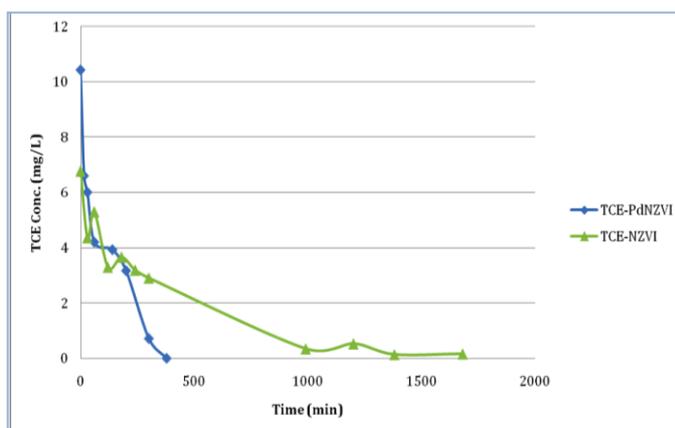


Fig 4.46: confronto tra le cinetiche di dealogenazione del TCE (10 mg/l) effettuate con 20 mg di nZVI (in verde) e con Fe/Pd (in blu) eseguite con metodo in batch e analizzate tramite GC/MS.

#### 4.2.6 Cinetica con acido poligluttammico

E' stato già descritto (paragrafo 3.3.5.) come l'utilizzo di polimeri come l'acido poligluttammico siano in grado di stabilizzare le formulazioni di nZVI prevenendo l'aggregazione delle particelle in soluzione e la competizione con le altre reazioni collaterali.

In questo caso si è deciso di provare ad effettuare la cinetica lavorando in un unico bulk di reazione: questo al fine di evitare la microfiltrazione che potrebbe interferire con la struttura creata dal poligluttammato ed inficiare la stabilità della formulazione.

Inoltre la soluzione di poligluttammato, pur non risultando viscosa come quella con la gomma guar, potrebbe creare problemi nella fase di filtrazione.

Dati i problemi riscontrati con la cinetica in bulk (par. 4.3.2.), è stata preventivamente svolta una prova per valutare quanti prelievi dello spazio di testa possono essere effettuati da una unica vial senza che gli equilibri tra fase liquida e fase vapore vadano ad interferire con la misura.

In una vial da 43 ml, in vetro, dotata di tappo a vite con setto forabile in teflon, sono stati introdotti 200 µl di soluzione di TCE 1 g/l e 60 µl di cicloesano, prelevati da una soluzione alla concentrazione di 433 ppm e portato a volume con acqua milli-Q. La soluzione così ottenuta è stata sonicata per 30 secondi e messa in agitazione all'interno della stufa termostata a 35°C per riprodurre esattamente le condizioni di reazione.

Sono stati fatti 5 prelievi alla distanza di 5 minuti l'uno dall'altra prelevando 250 µl di spazio di testa.

E' stato ottenuto il seguente risultato rappresentato in Fig.4.46:

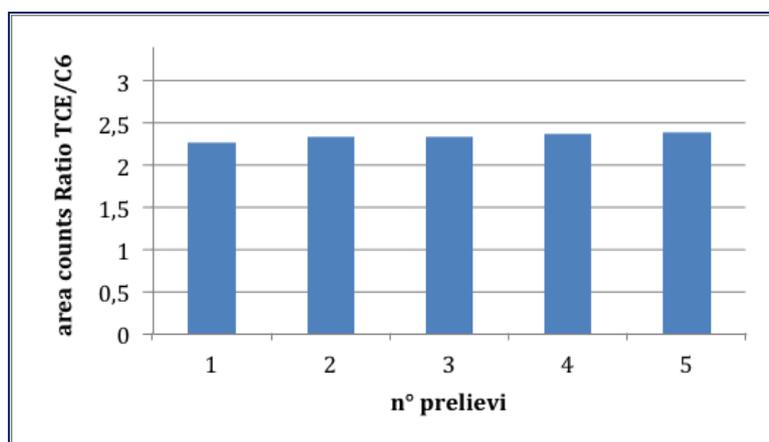


Fig 4.46: prova del numero di prelievi possibili dallo spazio di testa di un'unica vial da 43 ml.

L'analisi gascromatografica dello spazio di testa prelevato fornisce un risultato in termini di rapporto tra l'area del picco del TCE e dello standard interno che evidenzia come non ci sia una modifica sostanziale di comportamento fino a 5 prelievi.

Questa prova preliminare mostra come sia eseguire 5 prelievi in un'unica vial durante la cinetica di reazione a patto di operare nelle stesse condizioni.

In una vial di vetro con tappo a vite dotato di setto forabile in teflon sono stati introdotti 20 ml della preparazione di poligluttammato (pari a 11,2 mg di nZVI) e 10 ppm di TCE (200  $\mu$ l di una soluzione di 1 g/l di TCE in metanolo), a cui sono stati aggiunti 60  $\mu$ l di cicloesano (prelevati da una soluzione a concentrazione di 330 mg/l).

La preparazione viene sonicata per 5 minuti per favorire la dispersione delle particelle di nZVI e posta in agitazione in stufa termostata operando esattamente nella stessa maniera con cui sono state effettuate le cinetiche precedentemente descritte.

Sono stati effettuati 5 prelievi direttamente nella vial di reazione, prelevando 250  $\mu$ l direttamente dallo spazio di testa e sono stati iniettati in colonna.

Si è ottenuto il seguente risultato:

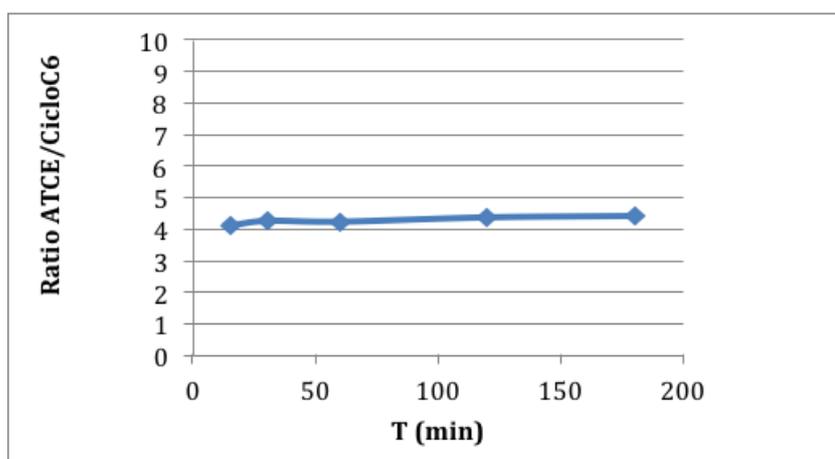


Fig 4.47: andamento della reazione di dealogenazione del TCE in presenza di nZVI-poligluttammato nel tempo.

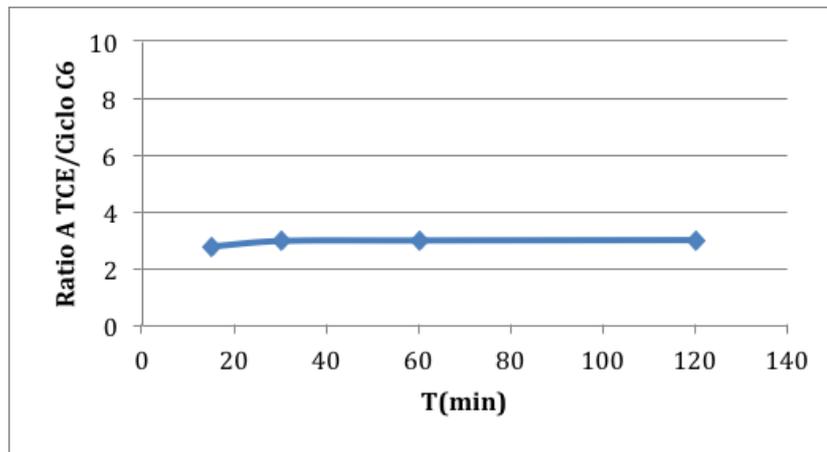
Il grafico mostra con sufficiente chiarezza che il nZVI associato al poligluttammato perde il suo potere riducente: la reazione non avviene.

La reazione sopra descritta è stata replicata utilizzando 15 ml di preparazione di poligluttammato (pari a 8,4 mg di nZVI) e 150  $\mu$ l di una soluzione di TCE 1 g/l in metanolo, utilizzando sempre 60  $\mu$ l di cicloesano come standard interno.

In questa seconda prova il campione non è stato sonicato per evitare la possibilità che gli ultrasuoni interferiscano con la struttura a guscio creata dal poligluttammato .

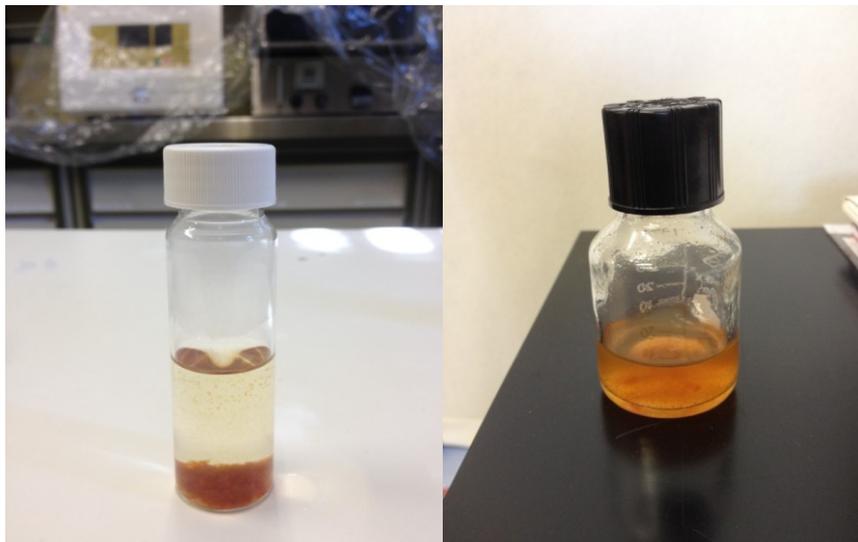
Sono stati sempre effettuati 5 prelievi con siringa da 250  $\mu$ l e lo spazio di testa prelevato è stato iniettato immediatamente in colonna.

La seconda prova ha sostanzialmente confermato i risultati della prima:



**Fig 4.48: Replica della reazione di dealogenazione del TCE con nZVI-poligluttammato.**

L'interpretazione del risultato non può prescindere dal fatto che la preparazione di nZVI e poligluttammato si presentava di colore rosso e non di colore nero, segno di una possibile ossidazione del Fe(0) con diminuzione della % di ferro zerovalente nella dispersione. Inoltre la cinetica può essere stata inficiata dal fatto di aver lavorato in bulk, metodo che non ha fornito risultati soddisfacenti nemmeno in assenza di poligluttammato .



**Fig 4.49: fotografia delle vials utilizzate nella prima (a sinistra) e nella seconda prova: il preparato di nZVI-poligluttammato è di colore rosso.**

Una considerazione va fatta anche nei confronti del pH dell'ambiente di reazione. In letteratura viene descritto come il valore di pH di reazione tra sale di ferro e  $\text{NaBH}_4$  ha un effetto significativo sulla formazione di nZVI in presenza di acido l-gluttammico: la accessibilità dei gruppi carbossilici e la presenza/assenza simultanea di una carica positiva sul gruppo amminico potrebbero infatti giocare un ruolo determinante nella formazione del complesso tra acido glutammico e sale di ferro (K. M. Siskova et al., 2013). In particolare, un pH intorno a 10 indurrebbe una rapida precipitazione di ioni ferrosi e determinerebbe la loro

conseguente ossidazione nella miscela prima che la reazione di riduzione con  $\text{NaBH}_4$  sia conclusa. (K. M. Siskova et al., 2013).

La presenza di un evidente precipitato rosso e la misura di un pH fortemente alcalino (intorno a 10) nella preparazione da noi analizzata possono far propendere per questa ipotesi per giustificare la scarsa o nulla reattività della preparazione di nZVI-poliglutammato nei confronti del TCE.

Infine, seppure l'acido poliglutammico non conferisca una viscosità particolarmente elevata, specie se paragonata alle formulazioni emulsionate, esso è un polimero ad alto peso molecolare che, formando una struttura a network attorno alla molecola di ferro zerovalente, potrebbe alterare le caratteristiche reologiche della sospensione e questo potrebbe ancora una volta rendere difficoltoso il contatto tra il contaminante target .

Per cercare di risolvere la problematica, la soluzione potrebbe essere duplice: da una parte utilizzare l'acido glutammico che, a differenza del poliglutammato, è un polimero a basso peso molecolare che non dovrebbe interferire con le caratteristiche reologiche della sospensione; dall'altra, utilizzare una formulazione di ferro bimetallico per favorire la reazione di dealogenazione rispetto ai fenomeni competitivi di aggregazione delle particelle di nZVI.

Saranno sicuramente necessarie ulteriori indagini per approfondire e capire a fondo il fenomeno osservato.

#### **4.2.7 Cinetica con acido L-glutammico**

L'acido L-glutammico, rispetto al poliglutammato, ha il vantaggio di poter essere filtrato, in quanto si tratta di una molecola più piccola e quindi permette lo studio cinetico in batch.

Se da una parte ha lo svantaggio di fornire particelle di dimensioni "meno nanoscopiche" rispetto a quelle che si ottengono con l'acido poliglutammico, dall'altra ha il vantaggio di permettere la cinetica in batch.

La cinetica è stata effettuata partendo da nZVI da solo e da Fe/Pd, per valutare l'effetto del catalizzatore nell' accelerare la reazione di dealogenazione riduttiva.

La metodica utilizzata per la sintesi del composto nZVI- glutammico è la seguente:

10 ml di una soluzione acquosa di  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (50 mM) sono stati rapidamente aggiunti, sotto cappa, a 40 ml di una soluzione acquosa di  $\text{NaBH}_4$  (0.15 M) mantenuta in bagno di ghiaccio per controllare la liberazione di idrogeno gassoso. Alla miscela di reazione sono stati addizionati 73,6 mg di acido L-glutammico, utilizzato come agente stabilizzante. La sospensione ottenuta presentava una colorazione nera, tipica della formazione di nanoparticelle di Fe zerovalente.

Nelle figure 4.50, 4.51, 4.52, 4,53 sono riportati i risultati ottenuti dallo studio cinetico.

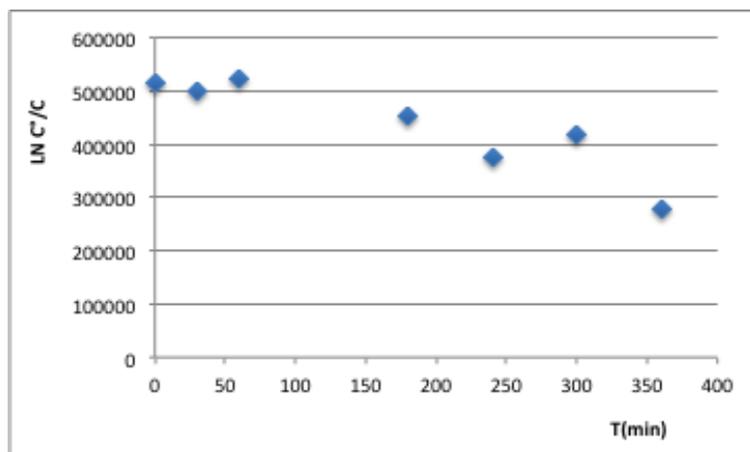


Fig 4.50: cinetica di reazione di TCE 10 mg/l in presenza di nZVI stabilizzato con acido glutammico.

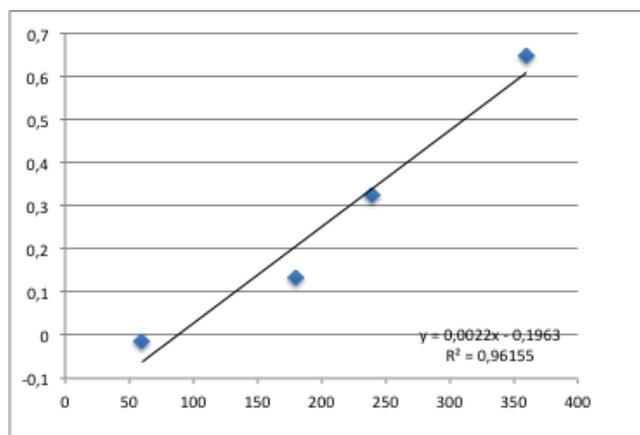


Fig 4.51: andamento della variazione della concentrazione (in scala logaritmica) del TCE trattato con nZVI stabilizzato con acido glutammico.

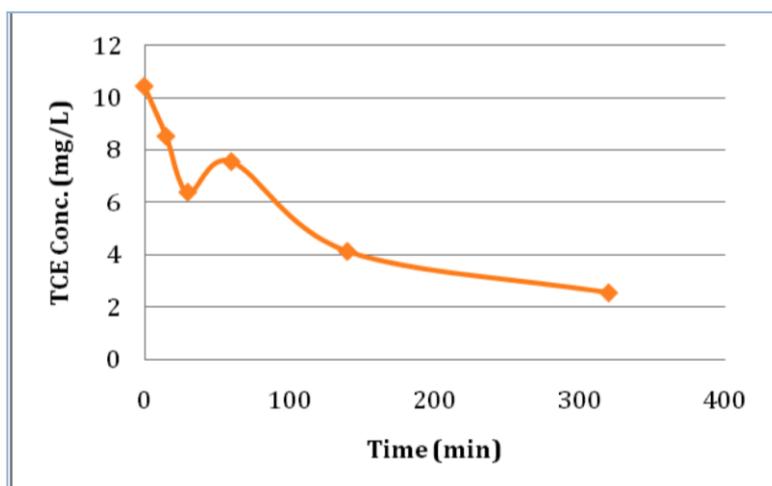


Fig 4.52: cinetica di reazione di TCE 10 mg/l in presenza di nZVI/Pd stabilizzato con acido glutammico.

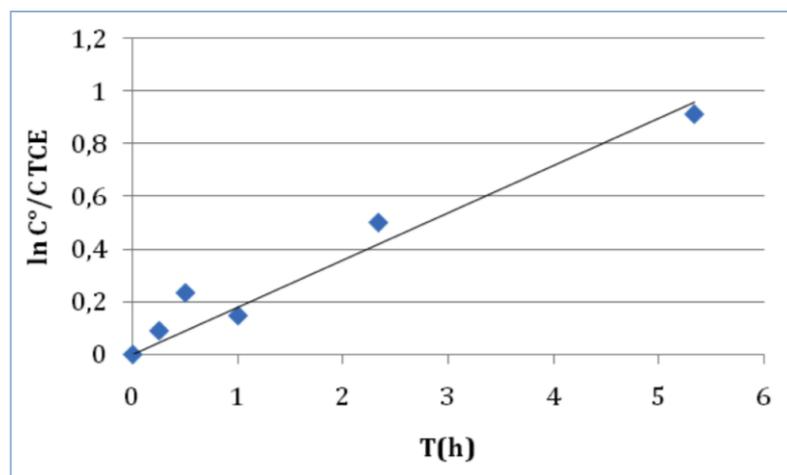


Fig 4.53: andamento della variazione della concentrazione (in scala logaritmica) del TCE trattato con nZVI-Pd stabilizzato con acido glutammico.

Le costanti così ottenute misurano:

$$\text{nZVI-GLU} \quad K_{\text{obs}} = 0,132 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{nZVI/Pd GLU} \quad K_{\text{obs}} = 0,179 \text{ h}^{-1}$$

Si può vedere come anche nel caso dell'acido glutammico, la presenza di palladio aumenti la stabilità e la reattività del nZVI e questo si riflette sul miglioramento della costante cinetica.

## 5. Conclusioni

L'utilizzo di nanoparticelle di ferro zerovalente per il risanamento di acque di falda contaminate da idrocarburi polialogenati è considerata una tecnologia estremamente promettente poiché è applicabile in situ in modo estremamente semplice, permettendo il diretto trattamento sia della sorgente di contaminazione primaria che quella secondaria riguardante il plume di contaminazione della falda.

Tuttavia, allo stato attuale, tale tecnologia presenta delle criticità che devono essere risolte per la sua applicazione su larga scala.

Tali criticità sono legate alla scarsa stabilità dimensionale e chimica delle nanoparticelle: esse tendono rapidamente ad aggregare, sono dimensionalmente instabili, dotate di bassa mobilità e quindi risultano scarsamente applicabili per il risanamento del plume di contaminazione; sono poco selettive in quanto tendono a reagire direttamente con acqua e con ossigeno e con numerosi contaminanti non target, richiedendo così un forte surplus di particelle per compensare la perdita dovuta alle reazioni competitive, aumentando così i costi dell'eventuale risanamento.

Il tricloroetilene ha una solubilità in acqua di 1100 mg/l a 25°C: è evidente come, mentre nella sorgente primaria di contaminazione esso tenderà a formare uno strato di DNAPL, cioè una fase liquida non acquosa concentrata di TCE che si stratificherà sul fondo dell'acquifero, nel plume di contaminazione, dove la sua concentrazione è molto più bassa, il TCE tenderà a solubilizzarsi in acqua e quindi a seguire il flusso di falda, andando ad inquinare porzioni di acquifero sempre maggiori anche molto distanti dalla fonte di contaminazione.

Mentre nel trattamento diretto della fonte di contaminazione, data l'alta concentrazione di TCE presente, la reazione prevalente di nZVI è probabilmente quella di dealogenazione riduttiva con il substrato rispetto alle potenziali reazioni competitive, il contrario sembra verificarsi nel trattamento del plume di contaminazione dove, realizzandosi livelli di concentrazione di TCE anche estremamente bassi, a causa della sua scarsa solubilità in acqua e della continua diffusione e diluizione nel plume di contaminazione, le reazioni di nZVI con H<sub>2</sub>O, O<sub>2</sub> e eventuali contaminanti non target competono e eventualmente prevalgono sulla reazione di dealogenazione riduttiva con TCE.

I risultati ottenuti dai nostri studi dimensionali, strutturali e cinetici supportano le considerazioni sopra effettuate.

Infatti lo studio cinetico effettuato ad alte concentrazioni di contaminante target (750 mg/l) ha permesso di ottenere delle costanti cinetiche di pseudo-primo ordine (cioè effettuate in forte eccesso di nZVI) con valori sufficientemente elevati e sufficientemente riproducibili ( $k = 1,9 \text{ h}^{-1}$ ).

Malgrado le elevate concentrazioni di nZVI utilizzate quindi malgrado il possibile effetto negativo dovuto al processo di aggregazione sul valore della  $k$  cinetica misurata, i valori sperimentali si sono mantenuti sempre sufficientemente alti con la formulazione utilizzata (bimetallica Fe/Pd).

I risultati ottenuti dallo studio strutturale e dimensionale delle nanoparticelle testate hanno dimostrato che le particelle di Fe(0) nel momento della sintesi sono di dimensioni nanoscopiche, ma già durante la sintesi stessa si aggregano tendendo a formare particolari associazioni di particelle nanoscopiche, assumendo strutture dendrimeriche o “coral-like” che mantengono una elevata area superficiale quindi una elevata disponibilità di siti reattivi: le cinetiche effettuate in queste condizioni hanno dimostrato come in effetti le particelle di nZVI rimangono sufficientemente reattive nonostante l’aggregazione.

I risultati ottenuti da studi cinetici a bassa concentrazione di contaminante (10 mg/l) hanno dato dei valori di costanti cinetiche molto bassi e scarsamente riproducibili (paragrafo 4.4.3.), difficilmente interpretabili con le alte concentrazioni nominali di nZVI impiegato, indipendentemente dal tipo di formulazione (nZVI, miscele bimetalliche, RNIP, acido glutammico etc).

Questi risultati possono essere attribuiti alla bassa concentrazione di TCE: in tali condizioni le reazioni competitive ad opera di acqua, ossigeno e eventuali composti non target ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , Cr(VI)), e i processi aggregativi delle particelle entrano in competizione ed eventualmente prevalgono sulla reazione di dealogenazione riduttiva del contaminante target.

entrano in competizione le reazioni con composti non target (ossigeno disciolto, , ma anche con la stessa acqua che, in condizioni di bassa concentrazione di inquinante come quelle del plume di contaminazione, risulta essere in largo eccesso rispetto all’inquinante stesso e quindi a competere con esso nella reazione di dealogenazione.

Le cinetiche ottenute lavorando a bassa concentrazione di TCE hanno effettivamente messo in evidenza come queste reazioni di competizione diminuiscano la velocità di reazione del nZVI (paragrafo 4.3.3.).

Al fine di superare queste criticità, gli studi dimensionali, strutturali e cinetici hanno evidenziato la necessità di:

1- utilizzare protocolli che prevedano, immediatamente prima delle analisi sopradette, un adeguato periodo di sonicazione, al fine di riportare le particelle nelle condizioni dimensionali originarie: questo potrebbe comportare un incremento di riproducibilità e di efficienza nello studio delle cinetiche di dealogenazione riduttiva di idrocarburi polialogenati,

2- aggiungere sostanze polimeriche come la gomma guar durante la sintesi: la gomma guar crea un network di tipo colloidale che, organizzandosi attorno alla particella reattiva di nZVI, la protegge dalle reazioni “collaterali”, ne impedisce l’aggregazione e ne facilita la veicolazione in ambiente acquoso aumentandone l’affinità per il plume di contaminazione, senza interferire con i siti reattivi del nZVI.

Purtroppo la viscosità di queste preparazioni colloidali ha reso difficoltoso lo studio cinetico dal momento che non è stato possibile eseguire la filtrazione, indispensabile per bloccare la reazione di dealogenazione riduttiva nel metodo batch.

Lo studio dimensionale condotto utilizzando il prodotto commerciale RNIP, nel quale il core di Fe(0) è protetto da un guscio di ossidi, ha dimostrato che la struttura tipo core-shell mantiene le dimensioni nanoscopiche: tuttavia, in assenza di stabilizzanti di tipo polimerico, le forze magnetiche attrattive sembrano ridurre la reattività nei confronti del contaminante target. Anche in questo caso i risultati cinetici ottenuti non sono stati soddisfacenti.

La funzionalizzazione con il palladio ha dato i risultati più promettenti: il palladio, analogamente a quanto osservato nel caso del RNIP, crea anch'esso una struttura core-shell dove il palladio da una parte si comporta da catalizzatore, facilitando la cessione di elettroni da parte del Fe(0), dall'altra crea un guscio protettivo attorno al Fe(0) che ne limita la reattività nei confronti dei composti non target.

Ciò è dimostrato dalle cinetiche nettamente migliori che si ottengono in presenza di palladio. ( $K=0,2 \text{ h}^{-1}$ ) ottenute anche con basse concentrazioni di TCE (10 mg/l).

Infine, tra le varie formulazioni di nZVI testate, quella ottenuta con l'acido glutammico si dimostra molto promettente.

È stato, infatti, ipotizzato in letteratura (K. M. Siskova et al., 2013) che l'acido l-glutammico sia in grado di aumentare la reattività del nZVI in acqua, incrementando la reazione di dealogenazione del TCE e mantenendo la stabilità del nZVI per lungo periodo.

Anche l'acido glutammico creerebbe con il Fe(0) una struttura a core-shell in cui il core sarebbe costituito dalle particelle di Fe (0) nanoscopico, e il guscio sarebbe costituito da un sottile strato interno di ossidi e idrossidi di ferro a cui si legherebbe chimicamente l'acido glutammico grazie ai suoi due gruppi carbossilici.

L'acido glutammico, come la gomma guar e a differenza del Pd, è una sostanza ecocompatibile: opportunamente aggiunto durante la reazione di sintesi di nZVI, faciliterebbe la formazione di particelle nanoscopiche promuovendone la generazione in soluzione acquosa stabilizzando le particelle di nZVI a contatto con l'aria (K. Siskova et al., 2012) eliminando così una potenziale reazione competitiva.

Lo studio cinetico da noi condotto stabilizzando con acido glutammico la formulazione bimetallica di nZVI (Fe/Pd) ha permesso di ottenere un valore di costante cinetica ( $K= 0,179 \text{ h}^{-1}$ ) abbastanza riproducibile e confrontabile con quello ottenuto con la preparazione di Fe/Pd nelle stesse condizioni di concentrazione di TCE.

In conclusione, il lavoro di tesi ha evidenziato l'importanza delle caratteristiche strutturali, dimensionali, chimiche e cinetiche delle particelle di nZVI nella reazione di dealogenazione riduttiva di idrocarburi polialogenati in soluzione acquosa.

Le problematiche più importanti derivano principalmente dalle dimensioni nanoscopiche delle particelle di nZVI che conferiscono alle stesse un'altissima superficie specifica ed una conseguente alta reattività, rendendole così instabili dimensionalmente e chimicamente, poco selettive, scarsamente mobili e rendendo problematica la loro applicazione per il trattamento di acque di falda contaminate.

I nostri risultati, ottenuti dallo studio dimensionale e cinetico del nZVI, hanno permesso di individuare una possibile soluzione che può derivare soltanto dalla opportuna modificazione

e funzionalizzazione del comportamento superficiale delle particelle, che le renda stabili dimensionalmente , adeguatamente mobili in soluzione acquosa, selettive mantenendole nello stesso tempo sufficientemente reattive.

## 6. Bibliografia

- AA.VV. (2009). *Assessing the use and application of Zero-Valent Iron Nanoparticle technology for remediation at contaminated sites*. Washington, DC. Retrieved from [www.epa.gov](http://www.epa.gov)
- Abbasi, S., & Azari, S. (2011). Efficiency of novel iron microencapsulation techniques: fortification of milk. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(9), 1927–1933. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02703.x
- Arnold, W. A., Burris, D. R., & Campbell, T. J. (1996). Reductive Elimination of Chlorinated Ethylenes by Zero-Valent Metals, *30*(8), 2654–2659.
- Arnold, W. A., & Roberts, A. L. (2000). Pathways and Kinetics of Chlorinated Ethylene and Chlorinated Acetylene Reaction with Fe ( 0 ) Particles, *34*(9), 1794–1805.
- Asashi, K., Miyata, H., Itoh, H., & Kinosita, K. (1996). Preparation of giant liposomes in physiological conditions and their characterization under an optical microscope. *Biophysical Journal*, *71*(6), 3242–50. doi:10.1016/S0006-3495(96)79517-6
- Barnes, R. J., Riba, O., Gardner, M. N., Scott, T. B., Jackman, S. a, & Thompson, I. P. (2010). Optimization of nano-scale nickel/iron particles for the reduction of high concentration chlorinated aliphatic hydrocarbon solutions. *Chemosphere*, *79*(4), 448–54. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.01.044
- Barnes, R. J., van der Gast, C. J., Riba, O., Lehtovirta, L. E., Prosser, J. I., Dobson, P. J., & Thompson, I. P. (2010). The impact of zero-valent iron nanoparticles on a river water bacterial community. *Journal of Hazardous Materials*, *184*(1-3), 73–80. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.08.006
- Bonomo, L. (2005). *Bonifica di siti contaminati - Caratterizzazione e tecnologie di risanamento*. McGraw-Hill Education (Italy) srl.
- Cheng, I. F., Fernando, Q., & Korte, N. (1997). Electrochemical Dechlorination of 4-Chlorophenol to Phenol. *Environmental Science & Technology*, *31*(4), 1074–1078. doi:10.1021/es960602b
- Crane, R. a., & Scott, T. B. (2012). Nanoscale zero-valent iron: Future prospects for an emerging water treatment technology. *Journal of Hazardous Materials*, *211-212*, 112–125. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.11.073
- Cullen, W. R., & Reimer, K. J. (1989). Arsenic speciation in the environment. *Chemical Reviews*, *89*(4), 713–764. doi:10.1021/cr00094a002

- Cundy, A. B., Hopkinson, L., & Whitby, R. L. D. (2008). Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: a review. *The Science of the Total Environment*, 400(1-3), 42–51. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.002
- Di Molfetta, A., & Sethi, R. (2000, October 5). Metodologie di bonifica di siti contaminati. *SITI CONTAMINATI*. Retrieved from <http://porto.polito.it/1399502/>
- Fagerlund, F., Illangasekare, T. H., Phenrat, T., Kim, H.-J., & Lowry, G. V. (2012). PCE dissolution and simultaneous dechlorination by nanoscale zero-valent iron particles in a DNAPL source zone. *Journal of Contaminant Hydrology*, 131(1-4), 9–28. doi:10.1016/j.jconhyd.2011.08.011
- Foldvari, M., Faulkner, G., & Mezei, M. (1988). imaging liposomes at electron microscopic level encapsulated colloidal | DeepDyve. *Journal of Microencapsulation*, 5(3), 234–241. Retrieved from <http://www.deepdyve.com/search?query=imaging+liposomes+at+electron+microscopic+level+encapsulated+colloidal>
- Gaspar, D. J., Lea, A. S., Engelhard, M. H., Baer, D. R., Miehr, R., & Tratnyek, P. G. (2002). Evidence for Localization of Reaction upon Reduction of Carbon Tetrachloride by Granular Iron, (10), 7688–7693.
- Gillham, R. W., & O'Hannesin, S. F. (1994). Enhanced degradation of halogenated aliphatics by zero-valent iron.
- Gmbh, A. E., Mueller, M. J., Strasse, D., & Hrb, O. (2010). *Review of Observatory NANO Focus Report 2010 "Nano zero valent iron - THE solution for water and soil remediation?"* Retrieved from [www.ADVENTUS.eu](http://www.ADVENTUS.eu)
- Gotpagar, J., Lyuksyutov, S., Cohn, R., Grulke, E., & Bhattacharyya, D. (1999). Reductive Dehalogenation of Trichloroethylene with Zero-Valent Iron: Surface Profiling Microscopy and Rate Enhancement Studies, (12), 8412–8420.
- Johnson, T. L., Fish, W., Gorby, Y. A., & Tratnyek, P. G. (1998). Degradation of carbon tetrachloride by iron metal: Complexation effects on the oxide surface.
- Karlsson, M. N. a., Deppert, K., Wacaser, B. a., Karlsson, L. S., & Malm, J.-O. (2004). Size-controlled nanoparticles by thermal cracking of iron pentacarbonyl. *Applied Physics A*, 80(7), 1579–1583. doi:10.1007/s00339-004-2987-1
- Karn, B., Kuiken, T., & Otto, M. (2009). Nanotechnology and in situ remediation: a review of the benefits and potential risks. *Environmental Health Perspectives*, 117(12), 1813–31. doi:10.1289/ehp.0900793

- Kim, J. S., Shea, P. J., Yang, J. E., & Kim, J.-E. (2007). Halide salts accelerate degradation of high explosives by zerovalent iron. *Environmental Pollution (Barking, Essex): 1987*, 147(3), 634–41. doi:10.1016/j.envpol.2006.10.010
- Laban, G., Nies, L. F., Turco, R. F., Bickham, J. W., & Sepúlveda, M. S. (2010). The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology (London, England)*, 19(1), 185–95. doi:10.1007/s10646-009-0404-4
- Li, X., Elliott, D. W., & Zhang, W. (2006). Zero-Valent Iron Nanoparticles for Abatement of Environmental Pollutants: Materials and Engineering Aspects. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 31(4), 111–122. doi:10.1080/10408430601057611
- Lien, H., & Zhang, W. (2001). Nanoscale iron particles for complete reduction of chlorinated ethenes, 191, 97–105.
- Lin, C. J., Lo, S. L., & Liou, Y. H. (2004). Dechlorination of trichloroethylene in aqueous solution by noble metal-modified iron. *Journal of Hazardous Materials*, 116(3), 219–228. doi:10.1016/j.jhazmat.2004.09.005
- Liu, Y., Majetich, S. a, Tilton, R. D., Sholl, D. S., & Lowry, G. V. (2005). TCE dechlorination rates, pathways, and efficiency of nanoscale iron particles with different properties. *Environmental Science & Technology*, 39(5), 1338–45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15787375>
- Ludwig, R. D., Su, C., Lee, T. R., Wilkin, R. T., Acree, S. D., Ross, R. R., & Keeley, A. (2007). In situ chemical reduction of Cr(VI) in groundwater using a combination of ferrous sulfate and sodium dithionite: a field investigation. *Environmental Science & Technology*, 41(15), 5299–305. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17822094>
- Matheson, L. J., & Tratnyek, P. G. (1994). Reductive dehalogenation of chlorinated methanes by iron metal. *Environmental Science & Technology*, 28(12), 2045–53. doi:10.1021/es00061a012
- Matsui, T. (2008). *Preparative procedure for dispersing magnetite coated nanoscale  $\alpha$ -iron particles in water* (pp. 1–2).
- Maynard, A. D., & Wilson, W. (2008). *Living with nanoparticles* (Vol. 3, p. 2008).
- Michael Riediker. (2009). Chances and risks of nanomaterials for health and environment. *Nano-Net*, 128–133. Retrieved from [http://scholar.google.com/citations?view\\_op=view\\_citation&hl=ru&user=FlbUQm0AAA AJ&cstart=40&citation\\_for\\_view=FlbUQm0AAAAJ:MXK\\_kJrjxJIC](http://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=ru&user=FlbUQm0AAA AJ&cstart=40&citation_for_view=FlbUQm0AAAAJ:MXK_kJrjxJIC)

- Muftikian, R., Fernando, Q., & Korte, N. (1995). A METHOD FOR THE RAPID DECHLORINATION OF LOW MOLECULAR WEIGHT CHLORINATED HYDROCARBONS IN WATER. *Water Research*, 29(10), 2434–2439.
- Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution (Barking, Essex): 1987*, 150(1), 5–22. doi:10.1016/j.envpol.2007.06.006
- Oberdörster, E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health Perspectives*, 112(10), 1058–62. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1247377&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Orth, W. S., & Gillham, R. W. (1996). Dechlorination of Trichloroethene in Aqueous Solution Using Fe 0, 30(1), 66–71.
- Pupeza, M., Cernik, M., & Greco, M. (2005). De-chlorination of chlorinated hydrocarbons by zero-valent iron nano-particles, 21–22.
- Quagliarella, D. (2012). *Nanotecnologie: esiste la normativa europea e la definizione di "nanomateriale"*. Retrieved from <http://www.quagliarella.com/rei16.html>
- Schrack, B., Blough, J. L., Jones, A. D., & Mallouk, T. E. (2002). Hydrodechlorination of Trichloroethylene to Hydrocarbons Using Bimetallic Nickel - Iron Nanoparticles, (15), 5140–5147.
- Siskova, K. M., Straska, J., Krizek, M., Tucek, J., Machala, L., & Zboril, R. (2013). Formation of Zero-valent Iron Nanoparticles Mediated by Amino Acids. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 809–817. doi:10.1016/j.proenv.2013.04.109
- Siskova, K., Tucek, J., MacHala, L., Otyepkova, E., Filip, J., Safarova, K., ... Zboril, R. (2012). Air-stable nZVI formation mediated by glutamic acid: Solid-state storable material exhibiting 2D chain morphology and high reactivity in aqueous environment. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(4), 805. doi:10.1007/s11051-012-0805-9
- Smith, C. J., Shaw, B. J., & Handy, R. D. (2007). Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 82(2), 94–109. doi:10.1016/j.aquatox.2007.02.003
- Soumya, R. S., Ghosh, S., & Abraham, E. T. (2010). Preparation and characterization of guar gum nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(2), 267–9. doi:10.1016/j.ijbiomac.2009.11.003

- Stillwell, W. G., Bryant, M. S., & Wishnok, J. S. (1987). GC/MS analysis of biologically important aromatic amines. Application to human dosimetry. *Biomedical & Environmental Mass Spectrometry*, *14*(5), 221–7. doi:10.1002/bms.1200140505
- Sturaro, A., Parvoli, G., Zanchetta, S., Doretto, L., Gori, G., & Bartolucci, G. B. (1992). Mass spectrometric and gas and high-performance liquid chromatographic behaviour of an impurity in 2,5-hexanedione. *Journal of Chromatography A*, *590*(2), 223–233. doi:10.1016/0021-9673(92)85385-7
- Sun, Y.-P., Li, X.-Q., Zhang, W.-X., & Wang, H. P. (2007a). A method for the preparation of stable dispersion of zero-valent iron nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *308*(1-3), 60–66. doi:10.1016/j.colsurfa.2007.05.029
- Sun, Y.-P., Li, X.-Q., Zhang, W.-X., & Wang, H. P. (2007b). A method for the preparation of stable dispersion of zero-valent iron nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *308*(1-3), 60–66. doi:10.1016/j.colsurfa.2007.05.029
- Taghavy, A., Costanza, J., Pennell, K. D., & Abriola, L. M. (2010). Effectiveness of nanoscale zero-valent iron for treatment of a PCE-DNAPL source zone. *Journal of Contaminant Hydrology*, *118*(3-4), 128–142. doi:10.1016/j.jconhyd.2010.09.001
- Tamburini, U. A., & Flor, G. (2009). Appunti di cinetica chimica. In P. university Press (Ed.), *Lesson Note*.
- Thangavadivel, K., Wang, W. H., Birke, V., & Naidu, R. (2013). A Comparative Study of Trichloroethylene (TCE) Degradation in Contaminated Groundwater (GW) and TCE-Spiked Deionised Water Using Zero Valent Iron (ZVI) Under Various Mass Transport Conditions. *Water, Air, & Soil Pollution*, *224*(12), 1718. doi:10.1007/s11270-013-1718-7
- Tian, J., Wong, K. K. Y., Ho, C.-M., Lok, C.-N., Yu, W.-Y., Che, C.-M., ... Tam, P. K. H. (2007). Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem*, *2*(1), 129–36. doi:10.1002/cmdc.200600171
- Tiraferrri, A., & Sethi, R. (2008). Enhanced transport of zerovalent iron nanoparticles in saturated porous media by guar gum. *Journal of Nanoparticle Research*, *11*(3), 635–645. doi:10.1007/s11051-008-9405-0
- Velimirovic, M., Chen, H., Simons, Q., & Bastiaens, L. (2012). Reactivity recovery of guar gum coupled mZVI by means of enzymatic breakdown and rinsing. *Journal of Contaminant Hydrology*, *142-143*, 1–10. doi:10.1016/j.jconhyd.2012.09.003

- Wang, C.-B., & Zhang, W. (1997). Synthesizing Nanoscale Iron Particles for Rapid and Complete Dechlorination of TCE and PCBs. *Environmental Science & Technology*, 31(7), 2154–2156. doi:10.1021/es970039c
- Wang, S., Zhang, D., Ma, Y., Zhang, H., Gao, J., Nie, Y., & Sun, X. (2014). Aqueous solution synthesis of Pt-M (M = Fe, Co, Ni) bimetallic nanoparticles and their catalysis for the hydrolytic dehydrogenation of ammonia borane. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(15), 12429–35. doi:10.1021/am502335j
- Wang, S.-M., & Tseng, S.-K. (2009). Dechlorination of trichloroethylene by immobilized autotrophic hydrogen-bacteria and zero-valent iron. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107(3), 287–92. doi:10.1016/j.jbiosc.2008.11.010
- Xu, X., Zhou, M., He, P., & Hao, Z. (2005). Catalytic reduction of chlorinated and recalcitrant compounds in contaminated water. *Journal of Hazardous Materials*, 123(1-3), 89–93. doi:10.1016/j.jhazmat.2005.04.002
- Xu, Y., & Zhang, W. (1997). Subcolloidal Fe / Ag Particles for Reductive Dehalogenation of Chlorinated Benzenes. *Indus. Eng. Chem. Res.*, 39, 2238–2244.
- Yang, G. C. C., & Chang, Y.-I. (2011). Integration of emulsified nanoiron injection with the electrokinetic process for remediation of trichloroethylene in saturated soil. *Separation and Purification Technology*, 79(2), 278–284. doi:10.1016/j.seppur.2011.03.004
- Yuvakkumar, R., Elango, V., Rajendran, V., & Kannan, N. (2011). PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ZERO VALENT IRON. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*, 6(4), 1771–1776.
- Zhang, M., Bacik, D. B., Roberts, C. B., & Zhao, D. (2013). Catalytic hydrodechlorination of trichloroethylene in water with supported CMC-stabilized palladium nanoparticles. *Water Research*, 47(11), 3706–15. doi:10.1016/j.watres.2013.04.024
- Zhang, W., Wang, C.-B., & Lien, H.-L. (1998). Treatment of chlorinated organic contaminants with nanoscale bimetallic particles. *Catalysis Today*, 40(4), 387–395. doi:10.1016/S0920-5861(98)00067-4
- Zhang, W.-X. (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. *Journal of Nanoparticle Research*, 5, 323–332.
- Zin, M. T., Borja, J., Hinode, H., & Kurniawan, W. (2013). Synthesis of Bimetallic Fe / Cu Nanoparticles with Different Copper Loading Ratios, (12), 678–682.