

**POLITECNICO DI MILANO**

Facoltà di Ingegneria Civile Ambientale e Territoriale

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria per l'Ambiente e il Territorio



**IL BIOCHAR COME MATERIALE DI ACCUMULO DEL  
4-NONILFENOLO NELLE ACQUE E NEL TERRENO**

Relatore: Prof. Sabrina Saponaro

Co-relatore: Ing. Andrea Filippo Mastorgio

Tesi di Laurea di:

Marianna Landolfi (Matr. 822545)

Anno accademico 2015/2016



# INDICE

<b>INDICE</b> .....	<b>3</b>
<b>INDICE DELLE FIGURE</b> .....	<b>6</b>
<b>INDICE DELLE TABELLE</b> .....	<b>8</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>1</b>
<b>1) IL NONILFENOLO</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Caratteristiche chimico fisiche</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2 Trasporto nelle matrici ambientali</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3 Evidenze ambientali</b> .....	<b>9</b>
1.3.1 Effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue .....	9
1.3.2 Fanghi .....	12
1.3.3 Suolo .....	16
<b>1.4 Tossicità</b> .....	<b>18</b>
1.4.1 Valutazione del rischio di esposizione per gli ecosistemi e la salute pubblica.....	18
1.4.2 Studi di tossicità sul corpo umano .....	20
<b>2) TRASFERIMENTO DEL NONILFENOLO NEI VEGETALI</b> .....	<b>24</b>
<b>2.1 Meccanismi generali di trasferimento dei contaminanti organici</b> .....	<b>24</b>
<b>2.2 Studi di trasferimento del NP da soluzione idroponica a vegetali</b> .....	<b>25</b>
<b>2.3 Studi di trasferimento del NP da terreni ammendati con fanghi a vegetali</b> .....	<b>29</b>
<b>2.4 Modello di migrazione di Legind et al. 2011: trasferimento dei contaminanti organici dal terreno ai vegetali</b> .....	<b>33</b>
2.4.1 Introduzione .....	33
2.4.2 Le equazioni differenziali del modello .....	34
2.4.3 Soluzione del sistema di equazioni differenziali.....	38
<b>3) IL BIOCHAR COME MATERIALE DI ACCUMULO DEI CONTAMINANTI</b> .....	<b>41</b>
<b>3.1 Origine e potenzialità del biochar</b> .....	<b>41</b>
<b>3.2 Il biochar come materiale di accumulo del NP</b> .....	<b>46</b>
<b>SCOPO DEL LAVORO</b> .....	<b>50</b>
<b>4) CARATTERIZZAZIONE DEL BIOCHAR</b> .....	<b>51</b>
<b>4.1 Introduzione</b> .....	<b>51</b>
<b>4.2 Materiali e metodi</b> .....	<b>51</b>
4.2.1 Selezione granulometrica.....	51
4.2.2 Umidità .....	52
4.2.3 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico.....	53
4.2.4 Contenuto di ceneri .....	53
4.2.5 pH .....	54
4.2.6 Densità apparente.....	54

<b>4.3 Risultati e discussione</b> .....	<b>55</b>
4.3.1 Umidità .....	55
4.3.2 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico.....	56
4.3.3 Contenuto di ceneri .....	56
4.3.4 pH .....	57
4.3.5 Densità apparente.....	57
<b>5) PROVE DI RIPARTIZIONE SOLIDO-LIQUIDO</b> .....	<b>59</b>
<b>5.1 Introduzione</b> .....	<b>59</b>
<b>5.2 Materiali e metodi</b> .....	<b>59</b>
5.2.1 Preparazione dei materiali .....	59
5.2.2 Allestimento delle prove .....	60
5.2.3 Processamento ed analisi del campione .....	64
<b>5.3 Stima del coefficiente di distribuzione solido-liquido “K<sub>d</sub>”</b> .....	<b>65</b>
<b>5.4 Risultati e discussione</b> .....	<b>66</b>
<b>6) APPLICAZIONE DEL MODELLO SUL TRASFERIMENTO DEL NONILFENOLO DAL TERRENO A PIANTE DI LATTUGA</b> .....	<b>71</b>
<b>6.1 Esperimenti di coltivazione</b> .....	<b>71</b>
6.1.1 Materiali e metodi.....	71
6.1.2 Risultati delle prove di coltivazione .....	74
<b>6.2 Applicazione del modello di Legind et al. 2011 per il 4-nonilfenolo su piante di lattuga</b> .....	<b>75</b>
6.2.1 Il sistema di equazioni differenziali del trasferimento del 4-nonilfenolo su piante di lattuga .....	75
6.2.2 Soluzione analitica del sistema di equazioni differenziali .....	76
<b>6.3 Taratura del modello sul primo e sul secondo set di coltivazione</b> .....	<b>78</b>
6.3.1 Metodo di taratura.....	78
6.3.2 Risultati di taratura.....	81
<b>6.4 Validazione del modello</b> .....	<b>84</b>
<b>6.5 Applicazioni previsionali</b> .....	<b>85</b>
<b>CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI</b> .....	<b>88</b>
<b>ALLEGATO A: MAGNETIZZAZIONE DEL BIOCHAR</b> .....	<b>91</b>
<b>ALLEGATO B: RISULTATI PROVE DI CARATTERIZZAZIONE DEL BIOCHAR</b> .....	<b>92</b>
<b>B.1 Umidità</b> .....	<b>92</b>
<b>B.2 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico</b> .....	<b>94</b>
<b>B.3 Contenuto di ceneri</b> .....	<b>94</b>
<b>B.4 Densità apparente</b> .....	<b>95</b>
<b>B.5 pH</b> .....	<b>96</b>
<b>ALLEGATO C: PROCESSAMENTO DEL CAMPIONE</b> .....	<b>97</b>
<b>ALLEGATO D: STIMA DELL’INCERTEZZA</b> .....	<b>99</b>
<b>ALLEGATO E: TARATURA E VALIDAZIONE DEL MODELLO</b> .....	<b>101</b>

<b>E.1 Calcolo del KWS.....</b>	<b>101</b>
<b>E.2 Dati in input per taratura del modello.....</b>	<b>104</b>
<b>E.3 Dati in input per validazione del modello.....</b>	<b>106</b>
<b>E.4 Analisi di sensitività del modello .....</b>	<b>110</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>114</b>
<b>SITOGRAFIA .....</b>	<b>124</b>

## INDICE DELLE FIGURE

Figura 1: Struttura chimico fisica del 4-nonilfenolo.....	4
Figura 2: a. Tasso di mineralizzazione in funzione delle concentrazioni di NP e delle profondità di suolo analizzato: i simboli rappresentano i dati sperimentali, la curva l'applicazione dell'equazione cinetica di Michaelis-Menten ai dati sperimentali; b. mineralizzazione a diverse profondità in funzione del tempo e delle concentrazioni di NP nel suolo (Roberts et al. 2006).....	8
Figura 3: Concentrazioni di NP ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ ) lungo il profilo di suolo. I rombi, i cerchi, i triangoli e i quadrati rappresentano rispettivamente gli scenari di controllo e di carico pari a 16,8, 33,6 e 67,2 $\text{mg}_{\text{dw}} \text{ha}^{-1} \text{anno}^{-1}$ .....	18
Figura 4: Sezione radicale (try.iprase.tn.it).....	24
Figura 5: a. Percentuale di rimozione cumulata di 14C-bisfenolo A (A), 14C-diclofenac (B), 14C-naproxen (C), or 14C-nonilfenolo (D) da soluzione nutriente di lattuga (■), cavolo (■), controllo(▲) per 21 giorni. b. Bilancio di massa, espresso in percentuale, di 14C-bisfenolo A, 14C-diclofenac, 14C-naproxen e 14C-nonilfenolo tra tessuto della pianta(■), soluzione nutriente (■), perdite o attività non considerate(▲), Dodgen et al. 2013.....	26
Figura 6: Comparti e processi considerati nel modello a cascata (Legind et al. 2011) .....	33
Figura 7: Principali parametri di processo in funzione della tipologia di pirolisi (Ahmad et al. 2014) .....	41
Figura 8: Meccanismi di interazione tra contaminanti organici e biochar (Ahmad et al. 2014) .....	44
Figura 9: Isotherme di Freundlich del NP su biochar e sedimenti più biochar (Liping et al. 2014)....	46
Figura 10: Composizione della comunità batterica in suoli contaminati senza biochar (SC), con biochar (BCA) e nel campione di controllo .....	49
Figura 11: Triturazione del biochar tal quale in mortaio .....	52
Figura 12: Biochar tal quale granulometrie ottenute post-triturazione: < 124 $\mu\text{m}$ e 1000-2000 $\mu\text{m}$ .52	
Figura 13: Umidità delle frazioni di biochar testate espressa come % in $\text{g}_w/\text{g}_{\text{s.s}}$ .....	55
Figura 14: Densità delle frazioni di biochar testate espresse in $\text{kg}/\text{m}^3$ .....	58
Figura 15: Preparazione soluzione madre di NP.....	60
Figura 16: Disposizione delle soluzioni finali su stirrer magnetico.....	60
Figura 17: Pesate di biochar.....	61
Figura 18: Campioni su dispositivo agitatore .....	62
Figura 19: Dispositivo filtratore in vetro con filtro GF-C in quarzo .....	64
Figura 20: Coefficiente di distribuzione solido-liquido in funzione della tipologia di biochar testato, della concentrazione iniziale e della matrice liquida .....	69
Figura 21: Schema dei comparti del modello di trasferimento del NP a piante di lattuga .....	76
Figura 22: a. Sviluppo della massa vegetale nel tempo; b. Flusso di traspirazione.....	81
Figura 23: Andamento delle concentrazioni di NP nel terreno, nelle radici e nelle foglie nei due set di coltivazione.....	83

Figura 24: (a,b) Bilanci di massa del NP nei due set di taratura.....	83
Figura 25: Concentrazione di NP attesa alla raccolta in funzione del quantitativo di biochar in terreno (set 1) .....	85
Figura 26: Concentrazione di NP attesa alla raccolta in funzione del quantitativo di biochar in terreno (set 2) .....	86
Figura 27: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di $K_{oc}$ .....	111
Figura 28: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di $K_{oc}$ .....	111
Figura 29: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di $T_c$ .....	112
Figura 30: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di $T_c$ .....	112
Figura 31: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di $K_{RW}$ .....	113
Figura 32: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di $K_{RW}$ .....	113

## INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1: Proprietà chimico-fisiche del nonilfenolo.....	4
Tabella 2: Concentrazioni di NP presenti in uscita da impianti di trattamento delle acque reflue da letteratura .....	10
Tabella 3: Concentrazioni di NP in ammendati agricoli provenienti da fanghi stabilizzati. ....	14
Tabella 4: Concentrazioni di NP nei campioni di suolo analizzati da Chen et al. 2011 .....	17
Tabella 5: Studi tossicologici per esposizione acuta a NP (EC 2002) .....	19
Tabella 6: Studi tossicologici per esposizione cronica a NP (EC 2002).....	19
Tabella 7: Concentrazioni di NP nel tessuto delle piante espresse in $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ .....	26
Tabella 8: Concentrazioni di NP rilevate nelle piante di gramigna espresse in $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ .....	27
Tabella 9: Concentrazioni, masse, e percentuali di distribuzione del NP nelle piante di lattuga in funzione della modalità di esposizione del vegetale al contaminante .....	28
Tabella 10: Concentrazioni, masse, e percentuali di distribuzione del NP nelle piante di pomodoro in funzione della modalità di esposizione del vegetale al contaminante .....	28
Tabella 11: Contenuto di NP e NP mono e dietossilato negli ammendanti.....	29
Tabella 12: Concentrazioni di NP nel suolo alla piantumazione in funzione della tipologia di contaminazione. ....	30
Tabella 13: Percentuali di NP rimanente nel suolo trascorsi 30 giorni dalla piantumazione. finale e NP mono e dietossilato negli ammendanti.....	31
Tabella 14: Concentrazioni di NP nel suolo e nelle piante al termine del periodo di coltivazione (Dettenmaier e Doucette 2007) .....	31
Tabella 15: Concentrazioni di NP rilevate nel suolo e nei tessuti delle piante al termine della coltivazione (Sjostrom et al 2008) .....	32
Tabella 16: Concentrazioni di NP nei tessuti e vegetali e rispettivi valori di BCF (Cai et al. 2012) ..	32
Tabella 17: Specifiche di sperimentazione riguardanti test di ripartizione di NP su carbone attivo e biochar.....	47
Tabella 18: Contenuto di umidità delle tre granulometrie di biochar testato.....	55
Tabella 19.....	57
Tabella 20: pH delle fasi liquide utilizzate nelle prove di ripartizione .....	61
Tabella 21: Specifiche di allestimento delle prove di ripartizione.....	63
Tabella 22: Concentrazioni di NP nell'acqua di rete, nel biochar e nella soluzione madre di NP ....	66
Tabella 23: Concentrazioni di NP in fase liquida all'equilibrio .....	66
Tabella 24: Stima di " $K_{\text{d best}}$ " .....	68
Tabella 25: Stima dell'incertezza del coefficiente di distribuzione solido-liquido " $\delta K_{\text{d}}$ " .....	69
Tabella 26: Stima della capacità di adsorbimento del biochar.....	70



Tabella 27: Caratteristiche chimico-fisiche del suolo nei tre set di coltivazione (media $\pm$ deviazione standard di n replicati).....	72
Tabella 28: Modalità di coltivazione delle lattughe nelle annate 2014-2015, .....	73
Tabella 29: Concentrazioni (media $\pm$ dev. st) di NP e sottoprodotti nelle terre ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{d.w}}$ ) e nelle piante di lattuga ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{f.w}}$ ) al momento del trapianto e della raccolta_ Primo anno.....	74
Tabella 30: “kdeg” e “km,L” tarati sul primo e sul secondo set di esperimenti.....	82
Tabella 31: Confronto tra concentrazioni stimate dal modello e derivanti dalle analisi del terzo set di sperimentazione .....	84
Tabella 32: Concentrazioni di NP nelle lattughe stimate dal modello per il secondo (senza biochar) e terzo set (con biochar) .....	85
Tabella 33: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .....	92
Tabella 34: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione 1000-2000 $\mu\text{m}$ ) .....	92
Tabella 35: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (biochar t,q).....	93
Tabella 36: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 40°C (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .....	93
Tabella 37: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .....	93
Tabella 38: Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico del biochar (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .	94
Tabella 39: Contenuto di ceneri del biochar (frazione <124 $\mu\text{m}$ ).....	94
Tabella 40: Densità apparente di biochar (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .....	95
Tabella 41: Densità apparente di biochar (frazione 1000-2000 $\mu\text{m}$ ) .....	95
Tabella 42: Densità apparente di biochar tal quale .....	95
Tabella 43: pH biochar (frazione <124 $\mu\text{m}$ ) .....	96
Tabella 44: Analisi della concentrazione di NP in fase liquida per valutazione dell'effetto della filtrazione sul trattenimento del contaminante.....	97
Tabella 45: Dati utilizzati per la stima dell'incertezza .....	97
Tabella 46: Caratteristiche chimico fisiche del NP.....	104
Tabella 47: Caratteristiche chimico fisiche delle diverse matrici solide e rispettivi coefficienti di ripartizione acqua-terreno. ....	104
Tabella 48: Caratteristiche delle piante di lattuga.....	105
Tabella 49: Caratteristiche chimico fisiche del NP.....	106
Tabella 50: Caratteristiche chimico fisiche del biochar applicato al terreno da coltivo .....	107
Tabella 51: Caratteristiche chimico fisiche delle diverse matrici solide e rispettivi coefficienti di determinazione del coefficiente di ripartizione acqua-terreno.....	107
Tabella 52: Caratteristiche delle piante di lattuga.....	108
Tabella 53: Variazione dei parametri in input e confronto con range di valori in letteratura.....	110



## INTRODUZIONE

L' US Environmental Protection Agency (USEPA) ha definito gli interferenti endocrini come “agenti esogeni che interferiscono con la sintesi, la secrezione, il trasporto, il legame, l'azione e l'eliminazione di ormoni naturali che ricoprono la funzione di mantenimento dell'omeostasi, riproduzione, sviluppo e comportamento”. Gli interferenti endocrini sono composti biologicamente attivi, che provocano effetti di tossicità e fenomeni di bioaccumulo negli organismi viventi, nonché perdita di biodiversità negli ecosistemi (Zhang et al. 2015). In questo gruppo di composti chimici i più diffusi in ambiente risultano alcuni estrogeni naturali, ma anche composti sintetici e prodotti chimici industriali tra cui il nonilfenolo. Questi microinquinanti sono classificati come “contaminanti emergenti”, in grado di provocare effetti negativi sulla salute umana e sull'ambiente anche a bassissime concentrazioni (Zhang et al. 2015). Il termine “emergenti” non indica sostanze sintetizzate in tempi recenti, bensì rilevate nell'ambiente e nell'organismo umano grazie ai progressi tecnologici degli ultimi anni nel campo della chimica analitica. I progressi hanno consentito di individuare composti che prima non si palesavano perché al di sotto dei limiti di rilevabilità degli strumenti disponibili. Nell'ultimo decennio gli interferenti endocrini sono stati costantemente rilevati nelle acque superficiali e sotterranee, nei sedimenti e nei suoli impattati dagli effluenti e dai fanghi provenienti dagli impianti di trattamento delle acque reflue, principali bacini d'accumulo di tali contaminanti (Zhang et al. 2015). Gli effluenti degli impianti di trattamento per le acque reflue rappresentano una valida risorsa idrica in zone aride o semi-aride, in cui le riserve d'acqua si stanno impoverendo a causa del cambiamento climatico e dell'urbanizzazione. Il riutilizzo di tali acque in agricoltura porta i microinquinanti ad interagire con la matrice solida del suolo, ad un possibile trasporto verso la falda acquifera ed al trasferimento nella catena trofica. Tale aspetto desta attenzione in termini di protezione ambientale, legislazione e salute pubblica (Dodgen et al. 2013). Il trasferimento di questi composti in vegetali edibili, dovuto anche all'utilizzo di ammendanti agricoli derivanti da fanghi prodotti negli impianti di trattamento delle acque reflue, è stato, di recente, oggetto di studio e valutazione (Dodgen et al. 2013, Lu et al. 2014).

La pirolisi dei residui vegetali consente di ottenere il biochar, che se interrato nel suolo fornisce consistenti quantità di sostanza organica stabile e costituisce pertanto un importante ammendante agricolo. In questi ultimi anni sono stati condotti diversi studi che hanno messo in luce la capacità del biochar di trattenere diversi contaminanti organici, per adsorbimento superficiale e intrappolamento nella struttura porosa della matrice solida. L'adsorbimento su biochar si propone come una potenziale

tecnica per il controllo dei microinquinanti organici nelle acque e nei suoli, tra cui il nonilfenolo, che risulta uno dei composti organici maggiormente rilevati negli effluenti e nei fanghi provenienti da tali impianti, a causa del diffuso utilizzo industriale e non di nonilfenoli etossilati (NPEs), che ne sono i precursori. (Lou et al. 2015, I-CHAR)

Nei primi tre capitoli della trattazione si riassumono i diversi aspetti del contaminante emergente oggetto di studio, come: caratteristiche chimico-fisiche, tossicità, trasporto e evidenze nelle matrici ambientali, trasferimento e modellistica del trasporto nei vegetali, ponendo un accento sull'utilizzo del biochar come tecnica di trattamento terziaria delle acque reflue e matrice di accumulo nel suolo. Nei capitoli sperimentali sono state descritte le prove di caratterizzazione del biochar, le prove di ripartizione, finalizzate alla stima di un coefficiente di distribuzione solido-liquido del NP su biochar, ed infine la taratura e la validazione del modello di Legend et al. 2011 per descrivere il trasferimento del NP dal terreno arricchito con biochar a piante di lattuga.

# 1) IL NONILFENOLO

Il nonilfenolo è stato sintetizzato per la prima volta nel 1940 e l'utilizzo è cresciuto quasi esponenzialmente con il passare degli anni (Zhang et al, 2015). Nel 1994 negli Stati Uniti il consumo di alchifenoli etossilati ha superato le 250000 tonnellate (La Guardia et al. 2001). La produzione annua di nonilfenolo ha raggiunto quantità pari a 154200 tonnellate negli Stati Uniti (2001), 73500 tonnellate in Europa, 16500 tonnellate in Giappone (2001) e 16000 tonnellate in Cina (2004) ed è tuttora in aumento (Zhang et al, 2015). Complessivamente circa 500000 tonnellate di nonilfenolo vengono prodotte annualmente in tutto il mondo e circa il 60% confluisce nell'ambiente acquatico (Ying et al. 2002). I nonilfenoli sono utilizzati per la produzione di pesticidi come coformulanti, di oli lubrificanti come additivi, di resine come catalizzanti, per produrre in passato nonilfenolo etossilato (NPEs) impiegato come tensioattivo, detergente, agente deinchiostrante, antischiuma ed antistatico in campo industriale (EC 2002; Ying et al. 2002; Careghini et al. 2015).

## 1.1 Caratteristiche chimico fisiche

I nonilfenoli sono composti xenobiotici organici, appartenenti alla famiglia degli alchilfenoli. Presentano vari isomeri e strutture differenti che li rendono elementi molto versatili e pertanto, applicabili in diversi campi. Allo stato attuale sono note 211 combinazioni strutturali possibili. Gli isomeri sono formati da una catena alchilica, costituita da nove atomi di carbonio, legata all'anello benzenico del fenolo (Careghini et al. 2015). La struttura di questi composti può variare in due modi (Soares et al. 2008):

- posizione della catena alchilica  $C_9H_{19}$  sulla molecola di fenolo (anello benzenico legato ad un gruppo ossidrilico  $-OH$ );
- caratteristiche del gruppo alchilico, che può essere a sua volta lineare o ramificato, a lunga o corta catena.

L'isomero maggiormente prodotto e rilevato in ambiente è il 4-nonilfenolo (NP) che è costituito da un anello di fenolo e da una catena a nove atomi di carbonio in posizione para, come mostrato in Figura 1.

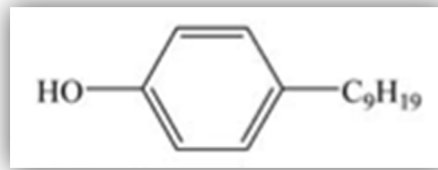


Figura 1: Struttura chimico fisica del 4-nonilfenolo

In Tabella 1 sono riassunte le principali caratteristiche chimico-fisiche del NP.

Tabella 1: Proprietà chimico-fisiche del nonilfenolo

Proprietà	Valore	Riferimento bibliografico
Stato fisico a 0°C, 1 atm	Liquido viscoso	EC 2002
Peso molecolare	220,34 g/mol	EC 2002; Zhang et al. 2015
Punto di fusione	-8°C	EC 2002
Punto di ebollizione	290-300 °C	EC 2002;
Densità relativa	0,95 a 20°C	EC 2002;
Pressione di vapore	0,3 Pa a 20°C;	EC 2002;
Log K <sub>ow</sub>	4,48-5,71	EC 2002; Lu et al. 2015; Careghini et al. 2015
K <sub>oc</sub>	38900 /kg	Ying et al. 2003; Chen et al. 2011
Solubilità in acqua	4,9;-6,4 mg/l a 25°C	Lu et al. 2014; Zhang et al. 2015
Costante di Henry	11,02 (Pa m <sup>3</sup> /mol)	EC 2002;
pK <sub>a</sub>	10,3	Careghini et al. 2015; Zhang et al. 2015
Viscosità	2500 mPa a 20°C	EC 2002;

Proprietà	Valore	Riferimento bibliografico
Autoinfiammabilità	Sostanza non infiammabile	EC 2002;
Esplosività	Sostanza non esplosiva	EC 2002;
Proprietà ossidative	Agente non ossidante	EC 2002;

A seconda del processo di produzione (EC-2002), il NP si presenta a temperatura e pressione ambiente come un liquido viscoso di colore giallo pallido con un leggero odore fenolico. È una sostanza poco solubile in acqua: in letteratura sono stati riportati diversi valori del coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ( $\log K_{OW}$ ), ma tutti evidenziano la caratteristica idrofoba del NP, espressa dagli elevati valori di tale indice ( $\log K_{OW} > 4$ ) (EC 2002, Lu et al. 2014, Careghini et al. 2015). Valori variabili si riscontrano anche per il coefficiente di ripartizione carbonio organico-acqua ( $\log K_{OC}$ ), generalmente compresi tra 3,4 e 5,6 (Careghini et al. 2015). Il NP presenta un valore di  $pK_a$  pari a 10.3 (Zhang et al. 2015, Careghini et al. 2015), pertanto nelle varie matrici ambientali è principalmente in forma non ionica.

## 1.2 Trasporto nelle matrici ambientali

La degradazione degli alchifenoli etossilati nelle acque reflue porta alla produzione di composti etossilati più tossici e persistenti dei precursori tra cui gli alchifenoli, classe a cui appartengono i nonilfenoli mono e poli etossilati (La Guardia et al. 2001, Ying et al. 2002). Durante le fasi aerobiche negli impianti di trattamento delle acque reflue, gli alchifenoli sono progressivamente degradati a nonilfenoli mono e dietossilati per azione dei microorganismi, che riducono le catene etossilate idrofile. Tali composti vengono successivamente degradati a nonilfenolo, principalmente in condizioni aerobiche (Mortensen et al. 2002, Careghini et al. 2015). Gli scarichi di tali impianti rappresentano pertanto la maggiore sorgente di dispersione di nonilfenolo nelle matrici ambientali (Soares et al. 2008). Vie di migrazione secondarie sono rappresentate dall'applicazione di pesticidi, fanghi e acque reflue trattate a scopo agricolo (Careghini et al., 2015).

La persistenza in fase liquida del 4-nonilfenolo dipende dall'equilibrio fra fase acquosa e fase solida. L'equilibrio è un processo chimico-fisico complesso che dipende da diversi fattori (Gibson et al. 2010):

- caratteristiche chimico-fisiche del NP;
- caratteristiche chimico-fisiche della matrice solida: superficie specifica, pH e presenza di siti disponibili di adsorbimento, rappresentati dalle parti refrattarie della sostanza organica (catene di acidi carbossilici);
- quantità di sostanza organica disciolta in acqua.

La costante di Henry, pari a  $8.39 \times 10^{-1}$  Pa m<sup>3</sup>/mol, indica come il NP sia un composto difficilmente soggetto a volatilizzazione (EC 2002). Una volta trasferito in atmosfera può essere nuovamente trasportato nell'ecosistema terrestre e acquatico per deposizione umida (Soares et al. 2008, Chen et al. 2011), nonostante il breve tempo di dimezzamento stimato in atmosfera, pari a 0,3 giorni (EC 2002). E' caratterizzato da un comportamento "idrofobo" che lo porta a migrare in via preferenziale verso la sostanza organica del suolo e dei sedimenti (Soares et al. 2008), con mobilità ridotta in tali matrici (Murillo-Torres et al. 2012).

Studi condotti da Liao et al. (2014) e Roberts et al. (2006) hanno riportato come la quantità di materia organica contenuta nel terreno influenzi la capacità di adsorbimento del NP; Gibson et al. (2010) hanno valutato il destino del 4-nonilfenolo tramite studi in colonne di suolo, a diverso contenuto di sostanza organica ed irrigati periodicamente con acqua contaminata. I risultati emersi dalle analisi del percolato delle colonne hanno confermato un trattenimento del NP più efficiente in suoli a maggiore contenuto di sostanza organica, sebbene una relazione lineare non sia del tutto evidente (Careghini et al. 2015). Risultati concordanti sono stati ottenuti da esperimenti in reattori batch di Yang et al. (2011), in cui il coefficiente di ripartizione solido-liquido "K<sub>D</sub>" mostra una correlazione positiva con il contenuto di sostanza organica delle diverse tipologie di sedimenti.

Le caratteristiche chimico-fisiche influenzano i processi di degradazione del NP (Soares et al. 2008). Nella chimica in fase acquosa entra in gioco la fotolisi; Martínez-Zapata et al. (2013) hanno riscontrato come il NP si degradasse, secondo una cinetica di primo ordine, in acqua ultra pura per fotolisi tramite riproduzione della radiazione solare, a cui corrisponde una lunghezza d'onda pari a 300-800 nm. Ulteriori analisi riguardo la fotolisi del NP, effettuate da Li et al. (2013), evidenziano come in acqua deionizzata la costante di degradazione diminuisce da  $6.73 \times 10^{-3}$  a  $1.57 \times 10^{-3}$  l/min all'aumentare della concentrazione iniziale da 40 mg/m<sup>3</sup> a 5.0 g/m<sup>3</sup>. Esperimenti di Li et al. (2013) hanno rilevato come il tasso di fotolisi in acqua marina fosse leggermente inferiore rispetto a quello in acqua pura, ciò può essere attribuito alla presenza di specie competitive in acqua marina (Careghini et al., 2015).

Il NP è soggetto anche a biodegradazione aerobica in acqua, suolo e sedimenti (Mortensen et al. 2002,



EC 2002); elevate concentrazioni di tale composto possono risultare tossiche per i microrganismi, rendendolo maggiormente persistente (Sjostrom et al. 2008). La degradazione del NP nel suolo dipende dalla disponibilità di ossigeno e dall'attività microbiologica: il NP presente in fase acquosa o adsorbito sulla superficie delle particelle solide si degrada molto più velocemente della componente adsorbita in profondità nella struttura porosa, a causa della maggiore attività batterica sulla superficie delle particelle solide. Questo fenomeno comporta un notevole tasso di degradazione iniziale nel suolo con successivo rallentamento della velocità di degradazione che tende ad annullarsi in presenza di una componente persistente (Sjostrom et al. 2008). Lu and Gan (2014) hanno confrontato la cinetica di biodegradazione di un gruppo di isomeri del NP in sedimenti fluviali, sia in condizioni aerobiche, sia anossiche. Il tempo di dimezzamento nei sedimenti è risultato di 0.9-13.2 giorni in condizioni aerobiche e di 15.1-20.1 giorni in condizioni leggermente riducenti. Invece in ambiente fortemente riducente è stato riscontrato come la biodegradazione sia pressoché trascurabile (Lu and Gan 2014, La Guardia et al. 2001). Studi a scala di laboratorio su terreni contaminati da NP, in seguito all'applicazione di fanghi stabilizzati come ammendanti, hanno riscontrato una duplice cinetica di biodegradazione, ben descritta da un modello bifasico. La duplice cinetica consiste in un rapido decadimento iniziale, seguito da una lenta degradazione, attribuita alla frazione recalcitrante del composto (Roberts et al. 2006, Sjostrom et al. 2008, Langdon et al. 2011). Le principali cause della frazione recalcitrante sono da attribuire: alla presenza di zone anaerobiche della matrice solida, ed al fenomeno di adsorbimento del NP sui siti affini dei fanghi e del terreno, che lo rende non biodisponibile per i microrganismi (Langdon et al. 2012). Sjostrom et al. 2008 hanno stimato la percentuale della frazione recalcitrante, pari a circa il 26-35% della concentrazione iniziale, e il rispettivo tempo di dimezzamento pari a 49 giorni, con un periodo di scomparsa di un anno. Langdon et al. 2011 hanno riscontrato la persistenza della frazione recalcitrante pari al 17-21% per tutto il periodo di studio di 32 settimane. Studi condotti dalla Danish EPA hanno evidenziato la capacità di persistenza del NP in suolo a seguito della miscelazione del terreno con fanghi digestati, mostrando come le concentrazioni nel suolo durante il periodo di studio di 28 giorni restino circa costanti. Risultati contrastanti sono emersi da una sperimentazione di Roberts et al. 2006 in colonne di suolo; seppure abbiano confermato la duplice cinetica di degradazione del NP non riscontrano un'elevata persistenza del composto, stimando tempi di dimezzamento differenti in funzione delle profondità di suolo analizzato: nei primi 15 cm di profondità il tempo di dimezzamento è risultato in un range tra 1,4-10,6 giorni per concentrazioni tra i 1-1000 mg/kg; a profondità maggiori il tempo di dimezzamento ha subito una forte variazione a seconda della concentrazione iniziale di NP : tra 1-3 giorni per concentrazioni tra 1-10 mg/kg e tra 10-42 giorni per concentrazioni tra 10-1000 mg/kg. Brown et al. 2009 hanno confrontato il tempo dimezzamento del NP e la percentuale di frazione

persistente in suoli coltivati o meno da piante di grano (*Triticum aestivum* L.) in serra, per un periodo di coltivazione di 45 giorni. Il tempo di dimezzamento varia da 16 giorni per le colonne di suolo coltivate fino a 23 giorni per le colonne non coltivate: al termine del periodo di coltivazione è stato evidenziato come la frazione di NP persistente nelle colonne di suolo coltivate (15%) risulti inferiore a quella riferita alle colonne non coltivate (30%). Questi risultati trovano conferma in uno studio precedente di Mortensen et al. 2002, in cui la frazione recalcitrante in suoli con coltivazioni di colza (*Brassica napus*) risultava decisamente inferiore (13%) rispetto ai suoli in assenza delle piante (26%). In più tipologie di suolo, agricoli e non, appartenenti alla tundra canadese, è stato riscontrato anche il fenomeno di mineralizzazione; Roberts et al. 2006 hanno verificato il processo in colonne di suolo a diverse profondità e concentrazioni, evidenziando un elevato tasso di mineralizzazione per concentrazioni di NP dell'ordine dei 100-1000 mg/kg. Il processo di mineralizzazione seppur rapido nei primi 10 giorni di sperimentazione, ha subito un notevole rallentamento nei giorni successivi (Figura 2)

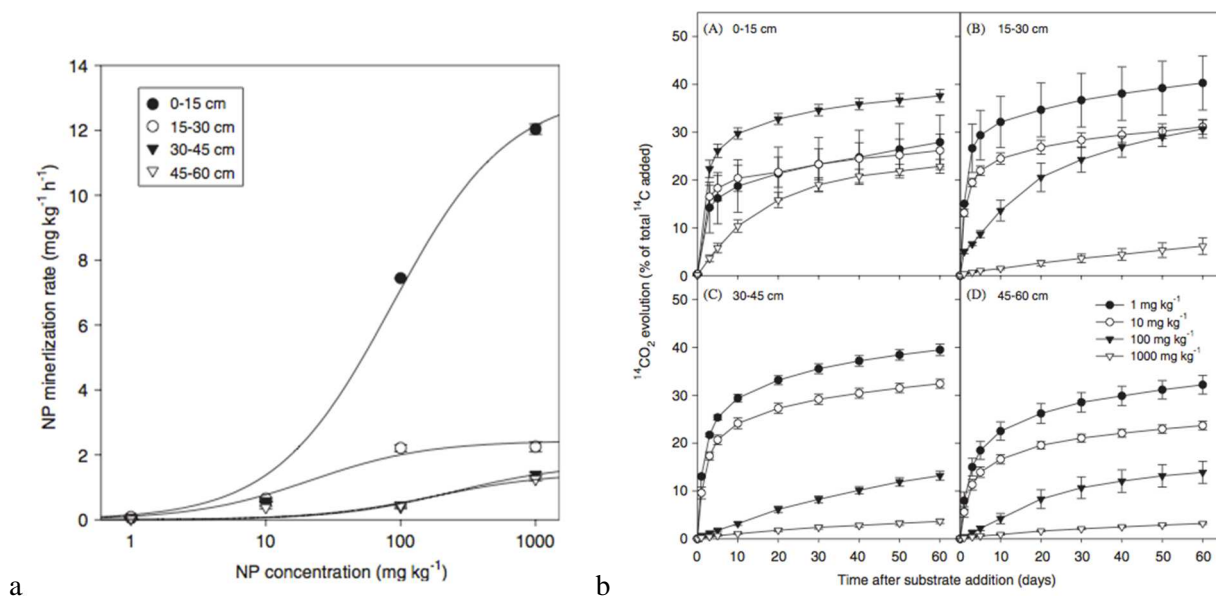


Figura 2: a. Tasso di mineralizzazione in funzione delle concentrazioni di NP e delle profondità di suolo analizzato: i simboli rappresentano i dati sperimentali, la curva l'applicazione dell'equazione cinetica di Michaelis-Menten ai dati sperimentali; b. mineralizzazione a diverse profondità in funzione del tempo e delle concentrazioni di NP nel suolo (Roberts et al. 2006)

## 1.3 Evidenze ambientali

### 1.3.1 Effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue

Da analisi condotte in impianti di trattamento per le acque reflue è stato evidenziato come il 60-65% dei composti nonilfenolici in ingresso all'impianto di trattamento sia stato rilasciato in ambiente per il 19% come nonilfenoli carbossilati, 11% come nonilfenoli etossilati a catena corta, 25% come nonilfenolo e l'8% come composti non trattati (Soares et al. 2008). La degradazione di nonilfenolo polietossilato (NPEO) in impianti di trattamento di acque reflue costituisce la principale via di formazione di nonilfenoli (Soares et al. 2008). Gli scarichi di tali impianti rappresentano pertanto la maggiore sorgente di dispersione di tali contaminanti nelle matrici ambientali (Soares et al. 2008) e le principali vie di contaminazione sono (Careghini et al., 2015):

- lo scarico di acque trattate o parzialmente trattate in fiumi o laghi, che coinvolgerà principalmente le acque superficiali ed i sedimenti;
- l'utilizzo in agricoltura di ammendanti, derivati dalla stabilizzazione dei fanghi e, di acqua trattata da tali impianti: in questo caso la matrice maggiormente impattata è il suolo.

In Tabella 2 si riportano a titolo d'esempio concentrazioni di NP da analisi in effluenti di impianti di depurazione nell'ultimo decennio.

Vethaak et al. 2005 hanno condotto analisi di estrogeni xenobiotici su effluenti di impianti di trattamento delle acque reflue in Olanda: il NP è stato rilevato solo in un impianto con concentrazioni nel range 550-1500 ng/l. Concentrazioni dello stesso ordine di grandezza (100-1000 ng/l) sono state riscontrate in effluenti secondari di 5 impianti di trattamento nell'area di Tokyo (Nakada et al. 2006). Hohne et al. 2008 hanno analizzato influenti ed effluenti negli impianti di trattamento di Francoforte e Main riscontrando un notevole abbattimento delle concentrazioni di NP in seguito all'applicazione della direttiva europea EC/53/2003 passando da <10-14444 ng/l a <10 a 3031 ng/l. In una review di Soares et al. 2008 sono state riportate concentrazioni di NP negli effluenti da studi precedenti all'applicazione della direttiva europea CE/53/2003: le concentrazioni più elevate sono state rilevate in Svizzera (15-43,5 µg/l) e nel Regno Unito (32-63 µg/l), livelli decisamente inferiori sono stati riscontrati in 2 impianti in Spagna e 18 in Germania, 5,5-6,6 µg/l e 0,25-2,3 µg/l rispettivamente.

Studi più recenti di Gibson et al. 2010 sono stati effettuati su acque reflue non trattate destinate direttamente all'irrigazione di campi in una regione arida come quella della Tula Valley, Messico. I livelli di NP nelle acque non trattate raggiungono concentrazioni molto elevate (1989-39326 ng/l). Il

gruppo di ricerca di Chen et al. 2011 ha condotto analisi su acque reflue trattate destinate all'irrigazione di terreni da coltivo nella regione di Hebei, Cina. Dalle analisi degli impianti di Changzou, Baoding e Shijiazhuang sono emerse concentrazioni medie pari a 460, 3167 e 4870 ng/l. Clara et al. 2012 hanno condotto un'analisi su 90 microinquinanti organici (PS e PHS) per cui la commissione europea ha definito degli standard di qualità ambientale per le acque: concentrazioni fino a 1,8 µg/l sono state rilevate, più elevate di un ordine di grandezza rispetto allo standard di qualità definito dalla direttiva europea pari a 0,3 µg/l (EC 2008). Nella review di Zhang et al. 2015 sono stati raccolti diversi studi di analisi di effluenti di acque reflue: dalle analisi sono emersi range di concentrazioni di NP pari a: 11,5-42,2 ng/l in Cina (Huang et al. 2014), 30-200 ng/l (Ra et al. 2010), 1,3-3,3 µg/l in Francia (Pasquini et al. 2013), 126-1965 ng/l in Grecia (Pothitou et al. 2008), 112 ng/l in Italia (Liscio et al. 2009), 0,33-2,07 µg/l in Spagna (Céspedes et al. 2006), 19,7-33,2 ng/l nel Regno Unito (Jiang et al. 2005), 125-1136 ng/l in Australia (Tan et al. 2007), 1,59-90 µg/l in Canada (Fernandez et al. 2007).

Studi recentissimi riportano concentrazioni pari a: 4,2-4,6 ng/l negli effluenti dell'impianto di trattamento delle acque di Lisbona (Carvalho et al. 2016), 121-1150 ng/l negli effluenti di Shangai, Cina, e 6-36 ng/l in quelli del Regno Unito (Xu et al. 2016)

**Tabella 2: Concentrazioni di NP presenti in uscita da impianti di trattamento delle acque reflue da letteratura**

Impianti analizzati	Sito	Matrice	Concentrazioni	Fonte bibliografica
-	Canada	Effluente finale	<0,02-15,1 µg/l	(Environmental Canada, 2002)
-	Olanda	Effluente finale	<550-1500 ng/l	(Vethaak et al 2005)
-	UK	Effluente finale	19,7-33,2 ng/l	(C. Zhang, Li, Wang, Niu, & Cai, 2016)
1	Tokyo, Giappone	Effluente finale	100-1000 ng/l	(Nakada et al 2006)
-	Spagna	Effluente finale	0,33-2,07 µg/l	(C. Zhang et al., 2016)

Impianti analizzati	Sito	Matrice	Concentrazioni	Fonte bibliografica
5	Canada	Effluente finale	1,59-90 µg/l	(C. Zhang et al., 2016)
-	USA	Effluente finale	125-1136 ng/l	(C. Zhang et al., 2016)
-	Australia	Effluente finale	125-1136 ng/l	(C. Zhang et al., 2016)
2	Francoforte e Main, Germania	Effluente finale	<10-3031 ng/l	(Höhne & Püttmann, 2008a)
11	Svizzera	Effluente primario	43,5 µg/l	(Soares, Guieysse, Jefferson, Cartmell, & Lester, 2008b)
		Effluente secondario	15 µg/l	
18	Germania	Effluente finale	0,25-2,3 µg/l	(Soares et al., 2008b)
2	Spagna	Effluente finale	5,5-6,6 µg/l	(Soares et al., 2008b)
1	UK	Effluente finale	32-63 µg/l	(Soares et al., 2008b)
-	Grecia	Effluente finale	126-1965 ng/l	(Pothitou et al., 2008)
-	Italia	Effluente finale	112 ng/l	(Liscio et al., 2009)
1	Messico	Effluente finale	1989-39326 ng/l	(Gibson et al 2010)
-	Corea del Sud	Effluente finale	30-200 ng/l	(Ra et al., 2010)
1	Changzou, Cina	Effluente finale	460 ± 18,8 ng/l	(Chen et al. 2011)
1	Baoding, Cina	Effluente finale	3167 ± 233 ng/l	(Chen et al. 2011)
1	Shijiazhuang, Cina	Effluente finale	4879 ± 167 ng/l	(Chen et al. 2011)
9	Austria	Effluente finale	< L.O.D-1,8 µg/l	(Clara et al. 2012)

Impianti analizzati	Sito	Matrice	Concentrazioni	Fonte bibliografica
-	Pont-à-mousson, Francia	Effluente finale	1,3-3,3 µg/l	(Pasquini et al. 2013)
6	Dianchi Lake, Cina	Effluente finale	11,5-42,2 ng/l	(Huang et al. 2014)
1	Lisbona, Portogallo	Effluente finale	4,2-4,6 ng/l	(Carvalho et al., 2016)
4	Shangai, Cina	Effluente finale	121-1150 ng/l	( Xu, et al., 2016)
-	UK	Effluente finale	6-36 ng/l	( Xu, et al., 2016)

Il riutilizzo in agricoltura dell'acqua trattata in impianti di trattamento con unità terziarie presenta numerosi vantaggi; attualmente in Europa circa il 33% dell'acqua che passa dagli impianti di trattamento delle acque reflue viene reimpiegata a scopo agricolo. Tuttavia questa percentuale è destinata a crescere in futuro a causa delle pressioni del cambiamento climatico, con lo scopo di mitigare i più frequenti fenomeni di siccità e gli impatti dovuti allo smaltimento di tali acque. Inoltre l'aumento della richiesta del riutilizzo agricolo di tali acque è atteso per il previsto aumento della popolazione e i cambiamenti nella dieta alimentare (BIO by Deloitte 2015). Tuttavia uno dei principali ostacoli all'ampiamiento del riutilizzo in agricoltura dell'acqua proveniente dagli impianti di trattamento, consiste nella mancanza di un quadro legislativo completo dei vari stati sulla qualità di tali acque destinate a tale scopo.

### ***1.3.2 Fanghi***

I fanghi oltre ad essere ricchi di sostanza organica, sono un'ottima fonte di nutrienti indispensabili per le piante (Kinney et al. 2006, La Guardia et al. 2001). L'utilizzo di fanghi digerati come ammendanti agricoli risulta una tecnica in crescita negli ultimi anni in Europa (Andreu et al. 2007). L'USEPA ha stimato che circa il 50 % dei fanghi prodotti negli Stati Uniti vengono applicati ai terreni, non solo per scopi agricoli, ma anche paesaggistici, la parte restante è sottoposta a processi di incenerimento o smaltimento in discarica dopo opportuni trattamenti (Kinney et al. 2006).

Nel 2000 la Commissione Europea ha pubblicato la terza bozza del “Working Document on Sludge”, documento che propone l’introduzione di soglie massime di concentrazioni di alcuni microinquinanti per fanghi destinati a scopo agricolo: per i NPEs è stata proposta una concentrazione massima pari a 50 mg/kg<sub>dw</sub> (Andreu et al. 2007, Xia et al. 2010). Nel 2000 l’Environmental Protection Agency danese ha imposto come soglia 30 mg/kg per il complesso di NPs, NP1EOs e NP2EOs (Danish EPA). Attualmente negli Stati Uniti non sono presenti standard di qualità per il NP che limitino l’applicazione di ammendanti agricoli derivati da fanghi a suoli agricoli (Xia et al. 2010). È stato stimato che circa il 90% del NP nelle acque reflue in ingresso agli impianti di trattamento venga rimosso per adsorbimento sulla matrice solida dei fanghi (La Guardia et al. 2001, Soares et al. 2008). Dati riguardanti i livelli di NP nei fanghi digestati sono disponibili dal 1980 in poi (Xia et al. 2010) e diversi studi riportano concentrazioni di NP in ammendanti agricoli derivati dai fanghi di supero, spesso nettamente superiori alla soglia di NP massima proposta dall’UE.

L’Agenzia per la Protezione dell’ambiente danese nel 1998 condusse uno studio di 28 giorni riguardante la persistenza di alcuni contaminanti organici nel suolo in seguito all’applicazione di fanghi digestati e, da analisi preliminari sui fanghi freschi, sono emerse concentrazioni di NP pari a 150-370 mg/kg<sub>dw</sub>. La Guardia et al. 2001 hanno effettuato analisi su fanghi provenienti da impianti in 4 regioni degli Stati Uniti (New England, Mid-Atlantic, South-Central e West Coast) e sottoposti a diverse tipologie di stabilizzazione: compostaggio, stabilizzazione chimica con calce idrata, digestione anaerobica e stabilizzazione termica. Le concentrazioni minori di NP, tra i quattro trattamenti di stabilizzazione, sono state riscontrate nei fanghi provenienti da compostaggio (5,4-172 mg/kg<sub>dw</sub>): l’aerazione continua delle pile durante il processo di compostaggio ha promosso il processo di degradazione aerobica del NP (La Guardia et al. 2001).

Elevate concentrazioni di NP sono state riscontrate nello studio di fanghi prodotti nella zona di Versailles da Ghanem et al. 2007: range di concentrazioni di 49,6-216,5 mg/kg<sub>dw</sub> in fanghi di stabilizzazione chimica; 16,5-124,9 mg/kg<sub>dw</sub> in fanghi di stabilizzazione termica, 75,6-173,2 mg/kg<sub>dw</sub> in fanghi di compostaggio.

Brown et al. 2009, in uno studio del tempo di persistenza del NP in suoli ammendati con digestati anaerobici, hanno rilevato concentrazioni pari a 900 mg/kg. Xia et al. 2010 hanno valutato la presenza di 4-nonilfenolo in digestati aerobici, anaerobici, fanghi freschi e fanghi compostati da 16 impianti di trattamento delle acque localizzati negli Stati Uniti: in 18 di 23 tipologie analizzate le concentrazioni più elevate sono state riscontrate nei digestati anaerobici in un range tra 111-1380 mg/kg<sub>secco</sub>; range di concentrazioni inferiori sono state rilevati nei fanghi che hanno subito un processo di compostaggio e nei digestati aerobici pari a 4,83-61 mg/kg<sub>secco</sub> e 4,85-179 mg/kg<sub>secco</sub> rispettivamente.

Gibson et al. 2007 hanno confermato come tramite processi di compostaggio e stabilizzazione termica sia possibile ridurre le concentrazioni di NP nei fanghi di supero: in seguito ad un processo di compostaggio di 143 giorni (temperatura massima 45°C), Gibson et al. 2007 hanno riscontrato un abbattimento delle concentrazioni pari all'88%, con concentrazione finale pari a 11-18 mg/kg<sub>ceneri</sub>; la percentuale di abbattimento del NP in seguito ad un processo di essiccazione di 40 giorni è risultata decisamente inferiore pari al 39% con concentrazione finale di NP pari a 212 mg/kg<sub>ceneri</sub>. Il principale fenomeno di abbattimento del NP nel compostaggio è la degradazione aerobica, tuttavia una parte è da attribuire alla volatilizzazione del composto, in seguito alla perdita di umidità del fango di supero dovuta alle temperature di trattamento (circa 45°C), e all'adsorbimento del NP sulle sostanze umiche originatesi durante il processo. In Tabella 3 si riportano concentrazioni di NP in ammendanti agricoli derivati da fanghi da impianti di trattamento delle acque reflue.

**Tabella 3: Concentrazioni di NP in ammendati agricoli provenienti da fanghi stabilizzati.**

Sito	Trattamento di stabilizzazione effettuato sui fanghi	Concentrazioni	Fonte bibliografica
Danimarca	Non specificato	Range: 150-370 mg/kg <sub>dw</sub>	Danish EPA 1998
USA	Digestione anaerobica Stabilizzazione chimica Compostaggio Stabilizzazione termica	Range: 683-887 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 119-820 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 5,4-172 mg/kg <sub>dw</sub> Media: 496 mg/kg <sub>dw</sub>	La Guardia et al. 2001
USA	Non specificato	Range: 2,18-1520 mg/kg <sub>dw</sub>	Kinney et al. 2006
Ashford, Inghilterra	Digestione anaerobica	114 mg/kg ceneri 343 mg/kg ceneri	Gibson et al. 2007



Sito	Trattamento di stabilizzazione effettuato sui fanghi	Concentrazioni	Fonte bibliografica
Versailles, Francia	Stabilizzazione chimica Stabilizzazione termica Compostaggio	Range: 49,6-216,5 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 16,5-124,9 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 75,6-173,2 mg/kg <sub>dw</sub>	Ghanem et al. 2007
Svizzera	Digestione anaerobica	450-2530 mg/kg	Soares et al. 2008
Svizzera e Finlandia	Digestione aerobica Digestione anaerobica	120-650 mg/kg 640-2200 mg/kg	Soares et al. 2008
Italia	Digestione anaerobica	308 mg/kg	Soares et al. 2008
Germania	Digestione aerobica	80-500 mg/kg	Soares et al. 2008
USA	Digestione anaerobica	1100-1800 mg/kg	Soares et al. 2008
Andalusia	Digestione anaerobica Compostaggio	6,5-323 mg/kg <sub>dw</sub> 33-308 mg/kg <sub>dw</sub>	Aparicio et al. 2009
Washington, USA	Digestione anaerobica	Media: 900 mg/kg	Brown et al. 2009
USA	Digestione anaerobica Digestione aerobica Compostaggio	Range: 4,85-179 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 111-1380 mg/kg <sub>dw</sub> Range: 4,83-61 mg/kg <sub>dw</sub>	Xia et al. 2010
Pont-à-mousson, Francia	Non specificato	Range: 134-676 µg/kg	Pasquini et al. 2013

Sito	Trattamento di stabilizzazione effettuato sui fanghi	Concentrazioni	Fonte bibliografica
Dianchi Lake, Cina	Non specificato	Range: 1,2-14,4 $\mu\text{g} / \text{kg}_{\text{dw}}$	Huang et al. 2014

### 1.3.3 Suolo

Le principali evidenze di NP nel suolo sono causate principalmente dall'applicazione di acque reflue trattate e fanghi stabilizzati (Cai et al. 2012).

#### Contaminazione da acque reflue trattate

Nello studio di Chen et al. 2011 sono stati analizzati terreni nella provincia di Hebei in Cina, che hanno ricevuto questa tipologia di acque per più di 50 anni, a causa della scarsità di risorse idriche. Dalle analisi è emersa la presenza di NP in tutti i campioni di suolo esaminati a varie profondità. In Tabella 4 sono state riportate le concentrazioni di NP nel suolo a diverse profondità nei campioni di terreno irrigati con acque provenienti da tre impianti di trattamento diversi: Cangzhou, Baoding and Shijiazhuang. Cai et al. 2012 hanno riscontrato concentrazioni di NP in terreni a coltivazione vegetale di 27 fattorie presso, Shenzhen, Dongguan e Huizhou, nella regione dove scorre il fiume delle Perle (Pearl river) (Cina), in cui l'acqua proveniente da impianti di trattamento delle acque reflue rappresenta la principale fonte idrica per l'irrigazione. Dalle analisi dei primi 20 cm di suolo sono emerse concentrazioni da 1,39 a 6,18  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{secco}}$  nelle fattorie di Shenzhen, da 3,25 a 7,22  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{secco}}$  in quelle di Dongguan e da 2,23 a 7,35  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{secco}}$  in quelle di Huizhou.

Tabella 4: Concentrazioni di NP nei campioni di suolo analizzati da Chen et al. 2011

Provenienza acque	Profondità (cm)	Concentrazione rilevata ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{secco}}$ )
Cangzhou	0-10	$34,8 \pm 10,8$
	10-20	$36,9 \pm 14,8$
	20-30	$33,6 \pm 21,5$
Baoding	0-10	$14,2 \pm 9$
	10-20	$25,8 \pm 5,4$
	20-30	$57,4 \pm 10,6$
Shijiazhuang	0-10	$21,5 \pm 8,7$
	10-20	$19,2 \pm 5,1$
	20-30	$55,4 \pm 53,4$

### Contaminazione da fanghi stabilizzati

Andreu et al. 2007, in uno studio a 24 h, hanno verificato come il NP sia uno dei maggiori composti organici che tende ad accumularsi nel suolo con concentrazioni da 150 fino a 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in seguito all'applicazione di fanghi provenienti da impianti nella Comunità Valenciana.

In letteratura sono presenti degli studi a lungo termine sul destino del 4-nonilfenolo nel suolo in seguito all'applicazione di fanghi digestati. Le linee guida sulla qualità dei suoli, dei sedimenti e delle acque canadesi (Environment Canada 2002) hanno riportato concentrazioni di NP nel suolo fino a 2,72  $\text{mg}/\text{kg}$  in seguito all'applicazione di fanghi trattati. Vikelsøe et al. 2002 hanno riscontrato come l'accumulo di NP dipenda fortemente dal quantitativo di fanghi applicato. Dalle analisi dei primi 50 cm di suolo sono state riscontrate le seguenti concentrazioni: un suolo ammendato con fanghi per 25 anni con applicazione di  $17 \text{ t ha}^{-1} \text{ anno}^{-1}$  ha subito un accumulo di NP fino a circa  $2500 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ , invece in un suolo ammendato con un rateo decisamente inferiore quale  $0,7 \text{ t ha}^{-1} \text{ anno}^{-1}$  è stata riscontrata una concentrazione media pari a  $0,04 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ . Xia et al. 2010 hanno valutato l'accumulo di NP in campioni di suolo che sono stati annualmente ammendati da digestato anaerobico con

diverso carico per 33 anni: carichi di fanghi espressi in termini di sostanza secca pari a 16,8, 33,6 e 67,2  $\text{mg}_{\text{dw}} \text{ha}^{-1} \text{anno}^{-1}$  sono stati sperimentati. Lungo la stratigrafia delle colonne di suolo al termine dei 33 anni di studio sono state riscontrate concentrazioni medie di NP fino a 9000  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$  nel caso di maggior carico. In Figura 3 sono riportate le concentrazioni medie lungo la stratigrafia a differenti carichi.

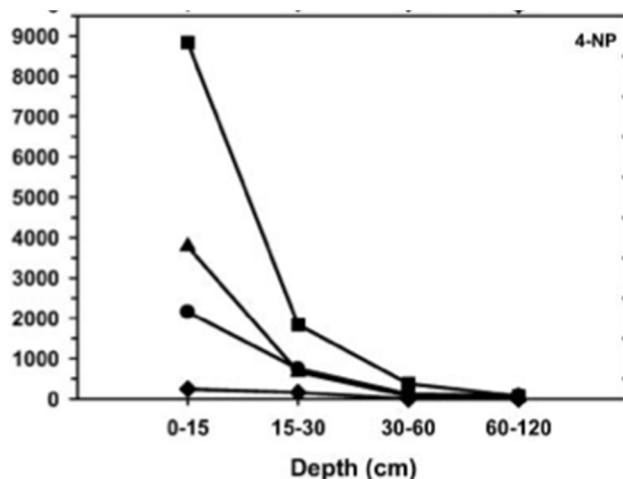


Figura 3: Concentrazioni di NP ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ ) lungo il profilo di suolo. I rombi, i cerchi, i triangoli e i quadrati rappresentano rispettivamente gli scenari di controllo e di carico pari a 16,8, 33,6 e 67,2  $\text{mg}_{\text{dw}} \text{ha}^{-1} \text{anno}^{-1}$ .

Dalle concentrazioni rilevate lungo il profilo Xia et al. 2010 hanno notato come la mobilità di NP nel suolo fosse ridotta.

## 1.4 Tossicità

### 1.4.1 Valutazione del rischio di esposizione per gli ecosistemi e la salute pubblica

Il Summary Risk Assessment Report sul NP della Commissione Europea del 2002 propone delle PNEC (Predicted No Effect Concentration) ricavate a partire dalle concentrazioni minori che in ambiente acquatico e terrestre provocano degli effetti negativi sugli organismi viventi, al fine di valutare il possibile rischio in termini di esposizione per gli ecosistemi. Le Tabelle 5 e 6 riportano varie soglie tossicologiche, evidenziate da casi di studio e, riferite a diverse specie acquatiche e terrestri, rispettivamente per esposizione acuta e cronica:

- Concentrazione letale mediana ( $\text{LC}_{50}$ ): concentrazione in grado di uccidere il 50% della popolazione in esame durante il periodo di esposizione.
- Concentrazione effettiva mediana ( $\text{EC}_{50}$ ): concentrazione che produce nel 50% degli individui un effetto diverso dalla morte esame durante il periodo di esposizione.
- Concentrazione che non produce effetti (NOEC).

Tabella 5: Studi tossicologici per esposizione acuta a NP (EC 2002)

Soglia tossicologica	Periodo di esposizione (h)	Effetto monitorato	Concentrazione ( $\mu\text{g/l}$ )	Specie	Fonte
LC <sub>50</sub>	96	Sopravvivenza	128	Pimephales promelas (pesce)	EC 2002
EC <sub>50</sub>	96	Sopravvivenza	20,7	Hyaella azteca (invertebrato)	EC 2002
EC <sub>50</sub>	72	Tasso di crescita	323	Scenedesmus subspicatus (alga)	EC 2002
EC <sub>50</sub>	96	Tasso di crescita	27	Skeletonema costatum (alga)	EC 2002

Tabella 6: Studi tossicologici per esposizione cronica a NP (EC 2002)

Soglia tossicologica	Periodo di esposizione (day)	Effetto monitorato	Concentrazione	Specie	Fonte
NOEC	33	Sopravvivenza	7,4 $\mu\text{g/l}$	Pimephales promelas (pesce)	EC 2002
NOEC	21	Sopravvivenza	24 $\mu\text{g/l}$	Daphnia magna (crostaceo)	EC 2002
NOEC	72 (h)	Sopravvivenza	3,3 $\mu\text{g/l}$	Scenedesmus subspicatus (alga)	EC 2002
NOEC	28	Lunghezza	3,9 $\mu\text{g/l}$	Mysidopsis bahia (crostaceo)	EC 2002
EC <sub>50</sub>	21	Riproduzione	13,7 mg/kg	Apporectodea caliginosa (verme)	EC 2002

<b>Soglia tossicologica</b>	<b>Periodo di esposizione (day)</b>	<b>Effeto monitorato</b>	<b>Concentrazione</b>	<b>Specie</b>	<b>Fonte</b>
EC <sub>10</sub>	21	Riproduzione	3,44 mg/kg	Apporectodea calignosa (verme)	EC 2002
EC <sub>50</sub>	14	Riproduzione	16 mg/kg	Folsomia candida (insetto)	La Guardia et al. 2001

A partire dalle soglie tossicologiche inferiori riscontrate in letteratura, l'Unione Europea ha stilato una lista di PNEC, ovvero la concentrazione della sostanza sotto la quale si ha bassa probabilità di avere effetti avversi sull'ecosistema e sugli organismi che ci vivono, per esposizioni a lungo e breve termine.

I valori utilizzati dall'Unione Europea per valutare il NP in un'ottica di analisi di rischio sono i seguenti (EC 2002):

- PNEC<sub>water</sub>: 0,33 µg/l, valore derivato dal minor NOEC a lungo termine basato sul potenziale di interferenza endocrina su alghe d'acqua dolce, applicando un fattore 10.
- PNEC<sub>sedimenti</sub>: 0,039 mg/kg, valore derivato da PNEC<sub>water</sub> tramite modelli di ripartizione.
- PNEC<sub>suolo</sub>: 0,3 mg/kg, valore derivato da NOEC a lungo termine basato sul potenziale di interferenza endocrina sulle specie terrestri più sensibili, applicando un fattore 10.

#### ***1.4.2 Studi di tossicità sul corpo umano***

Il sistema endocrino umano è preposto al coordinamento ed all'integrazione dell'attività cellulare dell'organismo al fine di mantenere l'omeostasi, controllare lo sviluppo somatico e neuro psichico, la riproduzione ed il metabolismo. Composti denominati "interferenti endocrini" sono agenti in grado di interferire con la sintesi, la secrezione, il trasporto, l'azione e l'eliminazione degli ormoni naturali, inibendo o stimolando il sistema endocrino (Recchia et al. 2004).

L'interferenza endocrina del NP consiste nella mimesi dell'ormone naturale 17β-estradiolo grazie alla sua struttura molecolare (Lepretti et al. 2015, Ying et al. 2002, Environmental Canada 2002). L'ormone 17β-estradiolo influenza lo sviluppo ed il mantenimento delle caratteristiche sessuali

femminili, nonché la maturazione e la funzione degli organi sessuali accessori. È altresì in grado di promuovere la carcinogenesi in specifici tessuti (Environmental Canada 2002).

Molti studi hanno evidenziato gli effetti negativi del NP sul sistema riproduttivo femminile, dovuti alla sua capacità di legarsi ai recettori degli estrogeni e simulandone l'attività. Il NP interferisce anche con l'attività del sistema endocrino e riproduttivo maschile, provocando effetti negativi quali apoptosi testicolare, degenerazione dei tubuli seminiferi, riduzione delle cellule germinali e di Sertoli e anomalie nel liquido seminale (Duan et al. 2016). In studi di Duan et al. 2016, l'esposizione a concentrazioni pari a 4,4-6,6 g/l di NP ha indotto apoptosi, necrosi e autofagia nelle cellule di Sertoli, situate nel connettivo che circonda i tubuli seminiferi dei testicoli. Wang et al. 2015 hanno evidenziato come sussista una buona correlazione tra i livelli di NP e di 8-oxo-7,8-diidroguanina (8-oxoG), indicatore dello stress ossidativo del DNA nelle urine su donne incinte tra la 27-esima e 38-esima settimana. Pertanto il NP accentua il danneggiamento del DNA per stress ossidativo, con possibili complicazioni durante la gravidanza.

Lepretti et al. 2015 hanno osservato una riduzione delle cellule epiteliali intestinali dopo 24 h di esposizione ad una concentrazione pari a 2,2 mg/l ed una riduzione della funzionalità mitocondriale ad una concentrazione pari a 0,22 mg/l. Queste scoperte hanno indotto Lepretti et al. 2015 a pensare che una possibile esposizione a nonilfenolo possa apportare conseguenze negative alla funzionalità e all'omeostasi intestinale. Recchia et al. 2004 hanno mostrato come l'esposizione per 5 giorni a concentrazioni di NP pari a 0,22 mg/l stimolino la proliferazione di cellule di carcinoma mammario.

Bechi et al. 2013 hanno condotto studi in vitro valutando la secrezione dell'ormone hCG in seguito ad esposizione a nonilfenolo. L'hCG o gonadotropina corionica è un ormone prodotto dall'embrione all'inizio della seconda settimana di sviluppo. Presenta un ruolo fondamentale nella gravidanza, evitando malformazioni congenite del corpo luteo, che ha la funzione di produrre progesterone, indispensabile per i fenomeni di deciduazione dell'utero. L'esposizione a 24 h a concentrazioni di NP tra 0,22-220 ng/l hanno ridotto significativamente il rilascio dell'ormone hCG, indicando un potenziale rischio dell'esposizione del feto a tale composto e delle complicazioni durante la gravidanza. Da studi di Spagnoletti et al. 2015, concentrazioni di NP tra 0,022-2,2 ng/l interferiscono con l'attività delle cellule trofoblastiche, alterando i principali processi biologici di sviluppo della placenta. Suen et al. 2012 hanno riportato come concentrazioni tra 0,022-22 mg/l provochino apoptosi di cellule epiteliali bronchiali, che potrebbe causare infiammazione polmonare e iperplasia della muscolatura liscia, partecipando alla patogenesi di malattie allergiche. Suen et al. 2012 hanno riportato inoltre come concentrazioni tra 0,022-22 µg/l interferiscano nella modulazione delle cellule

dendritiche convenzionali (mieloidi DC). I mieloidi DC sono cellule che fanno parte del sistema immunitario, specializzate nella cattura di antigeni e nell'attivazione della risposta immunitaria.

Concentrazioni molto basse di NP tra 0,22 ng/l e 2,2 µg/l possono inoltre interferire con l'attività dei mastociti, promuovendone la degranulazione ed incrementando la gravità della risposta allergica (Suen et al. 2012).

Avendo riscontrato la sua tossicità in quanto interferente endocrino, l'Unione Europea ha intrapreso provvedimenti riguardo la produzione di composti contenenti NP:

- la Direttiva 2000/60/EC classifica il NP come composto chimico a rischio prioritario in matrice acquatica;
- la Direttiva 2003/53/EC, relativa alla restrizione al commercio ed uso di sostanze e preparati pericolosi, decreta che il NP ed i suoi derivati non possono essere usati e commercializzati come sostanze o costituenti di preparati in concentrazioni uguali o superiori all'1% in massa, salvo determinate deleghe;
- la Direttiva 2008/105/EC, relativa alla definizione degli standard di qualità ambientale (SQA), vieta il superamento di concentrazioni di NP che in ambiente acquatico possano recare un rischio per l'ambiente e la salute umana. Standard riferiti a concentrazioni medie annuali sia per acque superficiali interne (fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati) sia per altre acque di superficie sono stati stabiliti pari a 0,3 µg/l in termini di media annua e di 2 µg/l in termini di concentrazione massima ammissibile.
- la Direttiva 2013/39/UE del parlamento europeo, attualmente recepita anche in Italia con il D. Lgs 172 del 13/10/2015, modifica le Direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE, per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque e conferma gli SQA definiti dalla Direttiva 2008/105/EC.

Al di fuori dell'Europa altri stati regolamentano tramite linee guida di qualità delle acque le concentrazioni di NP nelle acque interne: gli Stati Uniti presentano una concentrazione massima ammissibile di 6 µg/l, il Canada presenta soglie per tossicità acuta e cronica pari a 6,8 e 6 µg/l rispettivamente (Environment Canada, 2002). Sebbene esistano normative che regolamentano l'utilizzo del NP, il controllo di tale composto è complesso, a causa della diffusa presenza di pesticidi contenenti tale composto che vengono importati al di fuori dell'Europa, dove la produzione di 4-nonilfenolo non è proibita (Grzeskowiak et al. 2009). Infatti in molti altri paesi quali Cina, India e nazioni del Sud America continuano a produrre ed usare prodotti a base di NP in grandi quantità e nessuna restrizione è stata ancora legiferata per ridurre o eliminarli dal commercio (Jie et al. 2013).



Le possibili interazioni con le cellule e gli ormoni umani anche a bassissime concentrazioni dell'ordine dei ng/l aumentano la soglia d'allerta nei confronti di tale composto che in ambiente acquatico si presenta fino a concentrazioni di qualche decina di µg/l.

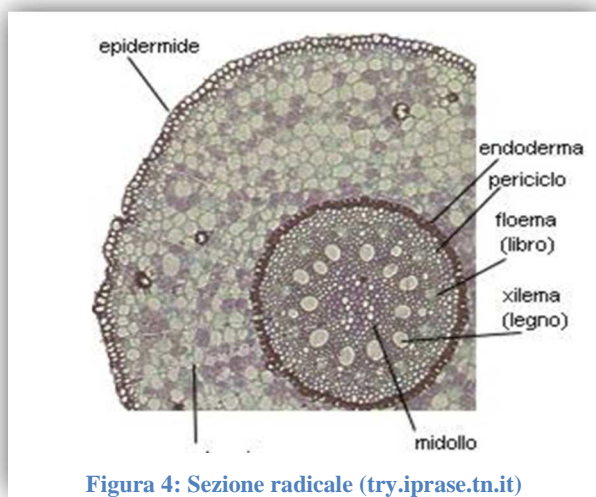
## 2) TRASFERIMENTO DEL NONILFENOLO NEI VEGETALI

L'esposizione dell'uomo e della fauna a diversi contaminanti organici persistenti è conseguenza del bioaccumulo di tali composti nelle piante e del successivo trasferimento attraverso la catena alimentare. I vegetali sono alla base della maggior parte delle catene alimentari e l'assorbimento di inquinanti organici da parte di esse è essenziale ai fini della valutazione del rischio di esposizione.

### 2.1 Meccanismi generali di trasferimento dei contaminanti organici

Una varietà di fattori concorre nel trasferimento dei contaminanti organici dai terreni ai vegetali (Dodgen et al. 2013):

- l'idrofobicità del contaminante, identificata dal coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua ( $\log K_{ow}$ ): i composti organici lipofili ( $\log K_{ow} > 4$ ) hanno una spiccata tendenza a partizionarsi nei lipidi dell'apparato radicale a differenza dei composti idrofili (Briggs et al., 1983).
- La forma di ionizzazione del composto nella matrice ambientale: composti in forma ionica presentano un minor potenziale di risalita, in quanto tale stato ne riduce la diffusione attraverso la membrana cellulare.
- La tipologia di suolo in esame: i composti organici tendono ad accumularsi sulla frazione organica del terreno; come descritto nel capitolo 1.2 maggiore è il contenuto di sostanza organica, più efficace risulterà il trattenimento da parte del suolo, rendendo i composti organici meno biodisponibili per le piante.
- La tipologia di vegetale: la composizione dell'apparato radicale della pianta influenza notevolmente l'assorbimento. Gli inquinanti, una volta assorbiti dalle radici, possono risalire verso lo stelo e le foglie tramite lo xilema. I composti assorbiti dalle radici devono penetrare diversi strati prima di raggiungere lo xilema: epidermide, corteccia, membrana cellulare, endoderma e periciclo (Figura

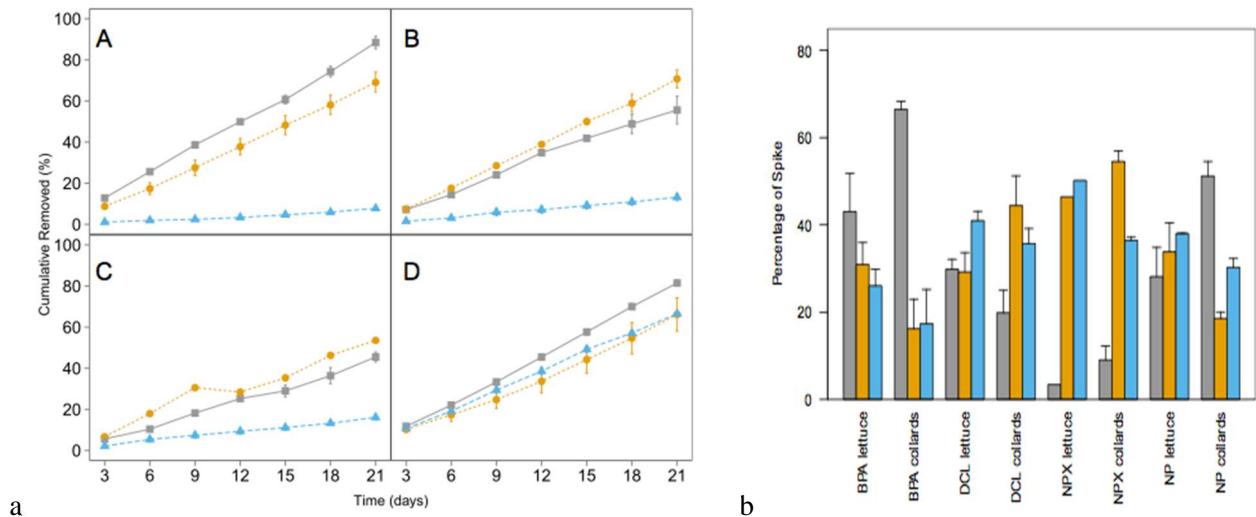


- 4). La membrana cellulare dell'endoderma ricca di lipidi influenza il trasferimento dei contaminanti organici nello xilema (McFarlane et al., 1995).□
- Fenomeni secondari: oltre ai fenomeni sopra citati vi sono fenomeni di secondaria importanza che concorrono al trasferimento ed all'accumulo dei contaminanti nelle piante. La deposizione secca sulle foglie di particelle a cui sono adsorbiti dei contaminanti, l'assorbimento da atmosfera, tramite cui, composti organici volatili possono essere introdotti nell'apparato fogliare durante la respirazione della pianta, i processi metabolici dei vegetali e la degradazione fotolitica sulla superficie delle piante (Collins et al., 2006).

## **2.2 Studi di trasferimento del NP da soluzione idroponica a vegetali**

La sperimentazione in ambiente idroponico minimizza le interferenze del contaminante con la matrice solida e permette di verificare il trasferimento del contaminante da matrice acquosa a vegetale (Doucette et al. 2005). In letteratura sono state rilevati solo alcuni studi che riportano prove di coltura idroponica per verificare il trasferimento del NP nei vegetali.

Dodgen et al. 2013 hanno studiato il potenziale di trasferimento di quattro contaminanti frequentemente rilevati negli effluenti degli impianti di trattamento (bisfenolo A, diclofenac sodium, naproxen, e NP) in piante di lattuga (*Lactuca sativa*) e cavolo (*Brassica oleracea*) tramite coltura idroponica. Nello studio in esame la soluzione nutritiva è stata contaminata con 110,4 ng/l di NP, concentrazione rappresentativa di livelli di NP nelle acque reflue. Gli esperimenti di coltivazione sono stati condotti in una camera programmata per 16 h di luce e 8 h di buio per 21 giorni. Durante il periodo di coltivazione è stato monitorato il livello dei contaminanti nella soluzione nutriente delle piante di lattuga, cavolo e in un set di controllo senza vegetali (Figura 5, sx). La percentuale di rimozione cumulata del nonilfenolo è simile sia per i vasi con le piante sia per i vasi di controllo. Tale perdita è stata associata alla volatilizzazione del composto, in quanto durante la coltivazione è stata mantenuta un'aerazione continua per mantenere un livello di ossigeno sufficiente nella soluzione nutriente. Tale fenomeno è stato dimostrato da ulteriori prove prive di aerazione della soluzione nutriente in cui le perdite per volatilizzazione sono risultate pressoché trascurabili.



**Figura 5:** a. Percentuale di rimozione cumulata di 14C-bisfenolo A (A), 14C-diclofenac (B), 14C-naproxen (C), or 14C-nonilfenolo (D) da soluzione nutriente di lattuga (■), cavolo (■), controllo (▲) per 21 giorni. b. Bilancio di massa, espresso in percentuale, di 14C-bisfenolo A, 14C-diclofenac, 14C-naproxen e 14C-nonilfenolo tra tessuto della pianta (■), soluzione nutriente (■), perdite o attività non considerate (▲), Dodgen et al. 2013.

Nonostante le perdite per volatilizzazione, al termine dei 21 giorni sono state rilevate significative quantità di NP nei tessuti delle piante, suggerendo un accumulo del composto nei vegetali (Figura 5, b). Concentrazioni di NP superiori al limite di rilevabilità sono emerse in foglie originali, nuove foglie, stelo e radici per entrambe le specie. Le concentrazioni rilevate nei tessuti delle piante al termine dei 21 giorni dalla piantumazione sono riportate in Tabella 7.

**Tabella 7:** Concentrazioni di NP nel tessuto delle piante espresse in  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$

Tessuto esaminato	Concentrazione media $\pm$ deviazione standard
Lattuga: foglie originali	$2,59 \pm 0,3$
Lattuga: nuove foglie	$1,18 \pm 0,04$
Lattuga: stelo	$4,31 \pm 2,54$
Lattuga: radici	$926,9 \pm 212,8$
Cavoli: foglie originali	$6,95 \pm 0,97$
Cavoli: nuove foglie	$3,8 \pm 0,99$
Cavoli: stelo	$3,79 \pm 1,26$
Cavoli: radici	$339,2 \pm 19,2$

Dodgen et al. 2013 hanno stimato anche un fattore di traslocazione (TSCF) del NP nella pianta. Tale indice è rappresentato dal rapporto tra la quantità di contaminante rilevata nello stelo e nelle foglie e la quantità rilevata nelle radici. Per il NP è stato stimato un TSCF pari a  $0,025 \pm 0,009$  riferito alla lattuga e  $0,079 \pm 0,015$  per il cavolo, suggerendo una limitata traslocazione dalle radici all'apparato superiore della pianta. Questo fenomeno può essere spiegato dall'idrofobicità del NP espressa dall'elevato valore di  $\log K_{ow}$ . Poiché il 4-nonilfenolo in condizioni ambientali di pH è in forma non ionica, tende a distribuirsi in tessuti con alto contenuto lipidico, quali le radici. Doucette et al. 2005 hanno studiato il fenomeno di risalita del NP in piante di gramigna (*Agropyron cristatum*). I campioni sono stati coltivati in soluzione nutriente contaminata in concentrazioni variabili da 300 a 4000 ng/l per 99 giorni. L'apparato radicale e fogliare della pianta al termine del periodo di coltivazione presenta le concentrazioni riportate in Tabella 8. Dalle analisi sono state rilevate evidenze di NP sia nell'apparato fogliare, sia nell'apparato radicale. Dai risultati emerge come le concentrazioni di NP nelle radici sono superiori di diversi ordini di grandezza rispetto a quelle nelle foglie. Fino al 98% di  $^{14}C$  complessivamente rilevato nella pianta è stato identificato nell'apparato radicale.

**Tabella 8: Concentrazioni di NP rilevate nelle piante di gramigna espresse in  $\mu\text{g}/\text{kg}_{dw}$**

<b>Tessuto analizzato</b>	<b>Concentrazione media <math>\pm</math> deviazione standard</b>
Foglie	$3,2 \pm 0,22$
	$2 \pm 0,14$
Radici	$440 \pm 310$
	$1200 \pm 4600$

Lu et al. 2014 hanno valutato la distribuzione e l'assorbimento del NP in piante di lattuga (*Lactuca sativa*) e pomodori (*Lycopersicon esculentum*), analizzando due possibili scenari di esposizione, fogliare e radicale. Nello scenario di esposizione radicale la fonte di contaminazione è rappresentata dalla soluzione idroponica nutriente, con concentrazione di NP pari a  $50 \mu\text{g}/\text{l}$ . Nello scenario di esposizione fogliare, la contaminazione è avvenuta spruzzando quotidianamente una soluzione acquosa di  $50 \mu\text{g}/\text{l}$  di NP (5-200 ml/giorno per la lattuga e 2-30 ml/giorno per i pomodori), direttamente sull'apparato fogliare delle piante, mantenendo la soluzione idroponica nutriente incontaminata. Le prove di coltivazione sono state estese per un periodo di 30 giorni per le piante di

lattuga e di 80 giorni per le piante di pomodoro. Le concentrazioni rilevate nelle diverse sezioni delle piante per entrambe le modalità di esposizione sono riportate nelle Tabelle 9 e 10.

**Tabella 9: Concentrazioni, masse, e percentuali di distribuzione del NP nelle piante di lattuga in funzione della modalità di esposizione del vegetale al contaminante**

<b>Modalità di esposizione</b>	<b>Tessuto analizzato</b>	<b>Concentrazione media <math>\pm</math> sd (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</b>	<b>Massa totale rilevata (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>Distribuzione nei tessuti (%)</b>
Radicale	Radici	3537,2 $\pm$ 325,5	191.3 $\pm$ 30.1	86,3
	Stelo	41,3 $\pm$ 9	5.1 $\pm$ 1.3	2,3
	Foglie	144,1 $\pm$ 9,2	25.2 $\pm$ 4.1	11,4
Fogliare	Radici	58,9 $\pm$ 19,4	3.0 $\pm$ 0.9	6,2
	Stelo	70,5 $\pm$ 9,3	9.5 $\pm$ 1.6	19,2
	Foglie	195 $\pm$ 16,9	37.0 $\pm$ 1.8	74,6

**Tabella 10: Concentrazioni, masse, e percentuali di distribuzione del NP nelle piante di pomodoro in funzione della modalità di esposizione del vegetale al contaminante**

<b>Modalità di esposizione</b>	<b>Tessuto analizzato</b>	<b>Concentrazione media (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</b>	<b>Massa totale rilevata (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>Distribuzione nei tessuti (%)</b>
Radicale	Radici	425,2 $\pm$ 117,2	6.9 $\pm$ 1.8	43,6
	Stelo	44,4 $\pm$ 3	1.1 $\pm$ 0.2	6,7
	Foglie	39,4 $\pm$ 8,5	1.6 $\pm$ 0.4	10,2
	Frutto	46,1 $\pm$ 6,6	6.3 $\pm$ 1.0	39,5
Fogliare	Radici	17,7 $\pm$ 1,9	0.3 $\pm$ 0.03	3,4
	Stelo	45,3 $\pm$ 3	1.0 $\pm$ 0.4	13
	Foglie	135,9 $\pm$ 13,7	3.3 $\pm$ 0.4	45,6
	Frutto	24,6 $\pm$ 6,4	2.8 $\pm$ 0.7	38

In entrambi gli scenari di studio il tessuto esposto risulta essere quello maggiormente contaminato,

dimostrando come la modalità di esposizione influenzi il trasferimento del contaminante nel vegetale di interesse. Il trasferimento dei contaminanti risulta pertanto essere più efficiente nel caso di esposizione fogliare. I risultati sono in accordo con quelli ottenuti da Dodgen et al. 2013, dove il trasporto del contaminante dalla soluzione idroponica nutriente all'apparato fogliare risulta basso per l'accumulo del NP principalmente nell'apparato radicale.

### 2.3 Studi di trasferimento del NP da terreni ammendati con fanghi a vegetali

Le elevate concentrazioni di NP nei fanghi stabilizzati pongono un serio rischio di introduzione del contaminante nella catena trofica in seguito all'applicazione a terreni come ammendanti agricoli. Diversi studi in letteratura testimoniano per l'appunto l'accumulo di NP in vegetali in seguito all'applicazione di fanghi in terreni da coltivo. Nello studio di Mortensen et al 2002 è stato sperimentato il trasferimento di NP in piante di colza (*Brassica napus*) da suoli ammendati con:

- digestati anaerobici ad elevato contenuto di contaminanti organici;
- digestati aerobici, a basso contenuto di contaminanti organici;
- compost.

E' stato valutato inoltre il trasferimento di NP da suolo contaminato in seguito ad irrigazione con soluzione di NP, con o senza l'aggiunta di digestati. Le concentrazioni di NP nei fanghi e nel compost, e le concentrazioni finali nel suolo, in seguito all'applicazione dei digestati, del compost e della soluzione inquinante, sono riportate in Tabella 11 e 12.

Tabella 11: Contenuto di NP e NP mono e dietossilato negli ammendanti.

Matrice ammendante	Concentrazione media ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{dw}}$ )
Digestati anaerobici	45,3
Digestati aerobici	18,8
Compost	1,71

Tabella 12: Concentrazioni di NP nel suolo alla piantumazione in funzione della tipologia di contaminazione.

Matrice ammendante	Concentrazione media (ng/kg <sub>dw</sub> )
Controllo	< 2
Digestati anaerobici	246
Digestati aerobici	84
Compost	18
Acqua contaminata	451

Il periodo di coltivazione è stato esteso per 30 giorni, tuttavia nelle foglie delle piante di rapa non sono state rilevate concentrazioni di NP superiori al limite di rilevabilità dello strumento (100 ng/kg<sub>dw</sub>). Trascorsi 30 giorni dall'inizio delle prove di coltivazione, tramite l'analisi dei terreni è stata evidenziata la presenza di una frazione recalcitrante pari al 13% e 8,3% nei suoli coltivati con digestati anaerobici e aerobici rispettivamente. Le percentuali nei suoli non coltivati risultano decisamente più elevate, pari al 26% e al 18%. Nei suoli contaminati tramite acqua di irrigazione la degradazione del NP nel suolo è risultata più efficiente con frazione recalcitrante di NP pari all'1% del quantitativo iniziale. Questo fenomeno è spiegabile tramite la maggiore biodisponibilità del composto se introdotto nel terreno tramite matrice liquida. I terreni ammendati con compost hanno mostrato la maggiore difficoltà nella degradazione del NP, con il 36% del contaminante presente ancora nel suolo, trascorsi i 30 giorni dalla piantumazione. La diversa degradazione del NP nei suoli in seguito all'applicazione dei diversi ammendanti (digestati anaerobici, digestati aerobici e compost) può essere influenzata dal diverso rapporto C/N degli ammendanti; il compost presenta un rapporto C/N pari a 13, maggiore a quello dei digestati, ponendo condizioni meno favorevoli per la crescita di colonie batteriche. Le percentuali di NP nel suolo al termine del periodo di coltivazione ed i rapporti C/N sono riportati in Tabella 13.



**Tabella 13: Percentuali di NP rimanente nel suolo trascorsi 30 giorni dalla piantumazione. finale e NP mono e dietossilato negli ammendanti.**

Matrice ammendante	C/N	Contenuto di NP nel suolo trascorsi 30 giorni
Digestati anaerobici	8,6	13 %
Digestati aerobici	4,9	8,3 %
Compost	13	36 %

Nello studio di Dettenmaier e Doucette 2007 è stato sperimentato il trasferimento di NP in piante di gramigna (*Agropyron cristatum*) da suoli ammendati con fanghi stabilizzati con concentrazioni pari a 1000 mg/kg per ottenere una concentrazione iniziale in suolo pari a 47 mg/kg. Al termine del periodo di coltivazione, durato 150 giorni, sono state analizzate le concentrazioni di NP nel suolo, nel tessuto fogliare e radicale ed è stato stimato un fattore di bioconcentrazione (BCF) riportate in Tabella 12. Il fattore di bioconcentrazione (BCF) è un indice del bioaccumulo di una sostanza all'interno della pianta, espresso dal rapporto tra la concentrazione media del contaminante nel tessuto in questione e la concentrazione media nel suolo al termine del periodo di coltivazione. Tale fattore può rappresentare un indice di potenziale dose di assunzione del contaminante di interesse. Le analisi dei tessuti di Dettenmaier and Doucette (2007) evidenziano notevoli concentrazioni del contaminante nel tessuto fogliare (Tabella 14).

**Tabella 14: Concentrazioni di NP nel suolo e nelle piante al termine del periodo di coltivazione (Dettenmaier e Doucette 2007)**

Concentrazione in suolo (mg/kg dw)	Tessuto analizzato	Concentrazione media nel tessuto (mg/kg dw)	BCF nel tessuto
Inizio esperimento: 47	Lattuga: foglie	4,5	1,7
Fine esperimento: 4,6	Lattuga: radici	43	25

Nello studio di Sjostrom et al. (2008) è stato valutato il grado di trasferimento di NP da suolo contaminato (210 mg/kg) a coltivazioni di fave (*Vicia faba*) in seguito all'applicazione di fanghi come ammendanti agricoli. Al termine del periodo di coltivazione, pari a dieci settimane, sono state rilevate

nei tessuti delle piante le concentrazioni elencate in Tabella 15. I BCF derivanti da tali livelli di NP nei tessuti e nel suolo risultano 0,71 e 0,58 per i germogli ed i semi, rispettivamente.

**Tabella 15: Concentrazioni di NP rilevate nel suolo e nei tessuti delle piante al termine della coltivazione (Sjostrom et al 2008)**

Matrice solida	Contenuto di sostanza organica (%)	Suolo (mg/kg dw)	Semi (mg/kg dw)	Germogli (mg/kg dw)
Suolo 1	4	56,12	2,19	3,36
Suolo 2	23	10,93	5,27	5,29
Suolo 3	7	5,94	6,11	7,58
Suolo 4	5	5,77	7,45	2,94

In una sperimentazione compiuta da Cai et al. 2012, sono state stimate le concentrazioni nei tessuti vegetali ed il BCF del NP in diverse specie vegetali attraverso il campionamento di suoli e specie vegetali provenienti da 27 industrie agricole. Note le concentrazioni nei diversi terreni si è potuto ricavare il BCF che è risultato essere compreso tra 0,318 e 0,888 (media 0,535) in funzione della specie vegetale in questione. Le concentrazioni medie nei suoli sono comprese nel range 1,39-6,38 µg/kg. I risultati della sperimentazione sono riportati in Tabella 16.

**Tabella 16: Concentrazioni di NP nei tessuti e vegetali e rispettivi valori di BCF (Cai et al. 2012)**

Specie vegetale	Concentrazione media (µg/kg dw)	BCF
Cavolo cinese	3,52 ± 1,12	0,665 ± 0,033
Spinacio d'acqua	4,52 ± 0,22	0,705 ± 0,027
Lattuga romana	1,81 ± 0,4	0,463 ± 0,072
Senape	1,58 ± 0,14	0,320 ± 0,014
Lattuga	2,44 ± 0,9	0,524 ± 0,002
Melanzana	2,3 ± 0,13	0,471 ± 0,021
Fagiolo dall'occhio	1,29 ± 0,13	0,38 ± 0,048
Zucca amara	4,3 ± 0,13	0,692 ± 0,103
Melone d'inverno	1,47 ± 0,13	0,376 ± 0,056
Porro	3,69 ± 0,45	0,751 ± 0,097

## 2.4 Modello di migrazione di Legind et al. 2011: trasferimento dei contaminanti organici dal terreno ai vegetali

### 2.4.1 Introduzione

Il modello di Legind et al. 2011 descrive il trasferimento dei contaminanti organici nei vari comparti vegetali in cascata: il contaminante è progressivamente trasferito dal suolo alle radici, dalle radici allo stelo, dallo stelo a foglie e frutti. I comparti suolo, radici e stelo sono considerati in serie, invece i comparti foglie e frutti sono posti in parallelo, come indicato in Figura 7. Tali tassi di trasferimento implicano un passaggio unidirezionale del contaminante dai comparti inferiori a quelli superiori; ad esempio dal suolo alle radici, dalle radici allo stelo, dallo stelo alle foglie ed ai frutti. In questa tipologia di modello il contaminante è introdotto nel sistema come input ad impulso nel suolo e trasferito con il tempo a radici, stelo, foglie e frutti.

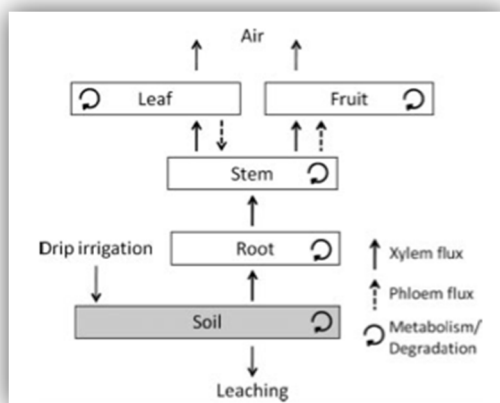


Figura 6: Comparti e processi considerati nel modello a cascata (Legind et al. 2011)

I fenomeni che influiscono sull'accumulo e sulla scomparsa del contaminante in ciascun comparto della pianta sono:

- input ad impulso di contaminante nel suolo;
- riduzione di contaminante nel suolo e nei comparti vegetali per volatilizzazione;
- trasferimento del contaminante dal suolo alle radici;
- trasporto di contaminante dalle radici allo stelo, dallo stelo ai frutti e alle foglie tramite il

- flusso di traspirazione (xilema);
- trasporto di contaminante dalle foglie ai frutti tramite il flusso di floema;
- percolazione del contaminante negli strati più profondi del suolo;
- degradazione del contaminante nel suolo;
- riduzione metabolica del contaminante nei comparti vegetali;
- riduzione della concentrazione del contaminante nei comparti vegetali per diluizione dovuta alla crescita della pianta.

#### 2.4.2 Le equazioni differenziali del modello

Il modello è descritto da cinque equazioni differenziali che indicano la variazione nel tempo di concentrazione del contaminante nella matrice in questione. L'equazione differenziale per il suolo è espressa da:

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left( \frac{Q_{inf}K_{WS}}{M_S} + \frac{Q_R K_{WS}}{M_S} + \frac{P_S A_S \rho_t}{M_S} + k_{deg} \right) C_S \quad \text{Eq. 1}$$

dove:

- $C_S$  (mg/kg t.q.) è la concentrazione di contaminante nel suolo;
- $dC_S/dt$  (mg kg t.q.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) è variazione di concentrazione nel suolo;
- $Q_{inf}$  (L d<sup>-1</sup>) rappresenta la portata di percolazione negli strati più profondi del suolo;
- $Q_R$  (L d<sup>-1</sup>) è il flusso d'acqua prelevato dalle radici nel suolo;
- $K_{WS}$  (kg t.q. L<sup>-1</sup>) è il coefficiente di ripartizione acqua-suolo del contaminante;
- $M_S$  (kg t.q.) è la massa di suolo disponibile per le piante;
- $P_S$  (m d<sup>-1</sup>) è la permeabilità del suolo intesa come velocità di trasferimento dei contaminanti dal suolo all'aria;
- $\rho_t$  (kg t.q. m<sup>-3</sup>) è la densità apparente di terreno umido;
- $A_S$  (m<sup>2</sup>) è la superficie di suolo disponibile per le piante;
- $k_{deg}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso di degradazione del contaminante nel suolo.

I fenomeni che provocano un cambiamento di concentrazione del contaminante organico nel suolo sono:

- $\frac{Q_{inf}K_{WS}}{M_S}$ : la perdita di contaminante provocata dal fenomeno di percolazione dell'acqua negli

strati più profondi del suolo;

- $\frac{Q_R K_{WS}}{M_S}$  : l'assorbimento del contaminante da parte delle radici;
- $\frac{P_S A_S \rho_t}{M_S}$  : la volatilizzazione del contaminante nella fase gassosa del suolo;
- $k_{deg}$  : le perdite di contaminante ad opera di degradazione chimica e batterica del contaminante nel suolo.

L'equazione differenziale per le radici è espressa da:

$$\frac{dC_R}{dt} = \frac{Q_R K_{WS}}{M_R} C_S - \left( \frac{Q_R}{M_R K_{RW}} + k_{g,R} + k_{m,R} \right) C_R \quad \text{Eq. 2}$$

dove:

- $C_R$  (mg/kg f.w.) è la concentrazione di contaminante nelle radici;
- $dC_R/dt$  (mg kg f.w.<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) è variazione di concentrazione nelle radici;
- $Q_R$  (L d<sup>-1</sup>) è il flusso d'acqua prelevato dalle radici nel suolo;
- $K_{WS}$  (kg t.q. L<sup>-1</sup>) è il coefficiente di ripartizione acqua-suolo del contaminante;
- $K_{RW}$  (L kg f.w.<sup>-1</sup>) è il coefficiente di ripartizione radici-acqua del contaminante;
- $M_R$  (kg f.w.) è la massa delle radici;
- $k_{g,R}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso di crescita delle radici;
- $k_{m,R}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso metabolico di contaminante nelle radici.

I fenomeni che provocano un cambiamento di concentrazione del contaminante organico nelle radici sono:

- $\frac{Q_R K_{WS}}{M_R}$  : rappresenta l'accumulo di composto nelle radici dovuto per l'assorbimento dell'inquinante dal suolo;
- $\frac{Q_R}{M_R K_{RW}}$  : l'assorbimento del contaminante da parte dello stelo;
- $k_{m,R}$  : rappresenta le perdite di contaminante ad opera della degradazione batterica del contaminante nelle radici;
- $k_{g,R}$  : rappresenta l'effetto di diluizione del contaminante dovuto alla crescita delle radici nel tempo.

L'equazione differenziale per lo stelo è espressa da:

$$\frac{dC_{St}}{dt} = \frac{Q_R}{M_{St}K_{RW}} C_R - \left( \frac{Q_R}{M_{St}K_{StW}} + \frac{A_{St}g_{R/St}K_{AW}1000}{M_{St}K_{StW}} + k_{g,St} + k_{m,St} \right) C_{St} \quad \text{Eq. 3}$$

dove:

- $C_{St}(\text{mg kg}_{f.w.}^{-1})$  è la concentrazione di contaminante nello stelo;
- $dC_{St}/dt$  ( $\text{mg kg}_{f.w.}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) è la variazione di concentrazione nello stelo;
- $K_{StW}$  ( $\text{L kg}_{f.w.}^{-1}$ ) è il coefficiente di ripartizione stelo-acqua del contaminante;
- $K_{AW}$  ( $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$ ) è il coefficiente di ripartizione aria-acqua del contaminante;
- $M_{St}$  ( $\text{kg}_{f.w.}$ ) è la massa dello stelo;
- $g_{R/St}$  ( $\text{m d}^{-1}$ ) è la conduttanza stelo-radici, ovvero la velocità di trasferimento del contaminante che attraverso il tessuto dello stelo viene diffuso nel comparto aria;
- $A_{St}$  ( $\text{m}^2$ ) è l'area superficiale dello stelo;
- $1000$  ( $\text{L m}^{-3}$ ) è il fattore di conversione dei metri cubi di acqua in litri;
- $k_{g,St}$  ( $\text{d}^{-1}$ ) è il tasso di crescita dello stelo;
- $k_{m,St}$  ( $\text{d}^{-1}$ ) è il tasso metabolico di contaminante nello stelo.

I fenomeni che provocano un cambiamento di concentrazione del contaminante organico nello stelo sono:

- $\frac{Q_R}{M_{St}K_{RW}}$  : rappresenta l'accumulo di composto nello stelo dovuto all'assorbimento dell'inquinante dalle radici;
- $\frac{Q_R}{M_{St}K_{StW}}$  : l'assorbimento del contaminante da parte delle foglie e dei frutti;
- $\frac{A_{St}g_{R/St}K_{AW}1000}{M_{St}K_{StW}}$  : è il fenomeno di diffusione del contaminante dallo stelo al comparto aria;
- $k_{m,St}$  : rappresenta le perdite di contaminante ad opera della degradazione batterica del contaminante nello stelo;
- $k_{g,St}$  : rappresenta l'effetto di diluizione del contaminante dovuta alla crescita dello stelo nel tempo.

L'equazione differenziale per le foglie è espressa da:

$$\frac{dC_L}{dt} = \frac{Q_L}{M_L K_{StW}} C_{St} - \left( \frac{A_L g_{L/F} K_{AW} 1000}{M_L K_{LW}} + k_{g,L} + k_{m,L} \right) C_L \quad \text{Eq. 4}$$

dove:

- $C_L$  (mg kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup>) è la concentrazione di contaminante nelle foglie;
- $dC_L/dt$  (mg kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) è la variazione di concentrazione nelle foglie;
- $Q_L$  (L d<sup>-1</sup>) è il flusso netto tra xilema e floema;
- $K_{LW}$  (L kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup>) è il coefficiente di ripartizione foglie-acqua del contaminante;
- $M_L$  (kg<sub>f.w.</sub>) è la massa delle foglie;
- $g_{L/F}$  (m d<sup>-1</sup>) è la conduttanza delle foglie e dei frutti, ovvero la velocità di trasferimento del contaminante che attraverso il tessuto delle foglie e dei frutti viene diffuso nel comparto aria;
- $A_L$  (m<sup>2</sup>) è l'area superficiale delle foglie;
- $k_{g,L}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso di crescita delle foglie;
- $k_{m,L}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso metabolico di contaminante nelle foglie.

I fenomeni che provocano un cambiamento di concentrazione contaminante organico nelle foglie sono:

- $\frac{Q_L}{M_L K_{StW}}$  : rappresenta l'accumulo di composto nelle foglie dovuto all'assorbimento dell'inquinante dallo stelo;
- $\frac{A_L g_{L/F} K_{AW} 1000}{M_L K_{LW}}$  : è il fenomeno di diffusione del contaminante dalle foglie al comparto aria;
- $k_{m,L}$  : rappresenta le perdite di contaminante ad opera della degradazione batterica del contaminante nelle foglie;
- $k_{g,L}$  : rappresenta l'effetto di diluizione del contaminante dovuta alla crescita delle foglie nel tempo.

L'equazione differenziale per i frutti è espressa da:

$$\frac{dC_F}{dt} = \frac{Q_F}{M_F K_{StW}} C_{St} - \left( \frac{A_F g_{L/F} K_{AW} \rho_w}{M_F K_{FW}} + k_{g,F} + k_{m,F} \right) C_F \quad \text{Eq. 5}$$

dove:

- $C_F$  (mg kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup>) è la concentrazione di contaminante nei frutti;
- $dC_F/dt$  (mg kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) è la variazione di concentrazione nei frutti;

- $Q_F$  (L d<sup>-1</sup>) è la somma di xilema e floema;
- $K_{FW}$  (L kg<sub>f.w.</sub><sup>-1</sup>) è il coefficiente di ripartizione frutti-acqua del contaminante;
- $M_F$  (kg<sub>f.w.</sub>) è la massa dei frutti;
- $A_F$  (m<sup>2</sup>) è l'area superficiale dei frutti;
- $k_{g,F}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso di crescita dei frutti;
- $k_{m,F}$  (d<sup>-1</sup>) è il tasso metabolico di contaminante nei frutti.

I fenomeni che provocano un cambiamento di concentrazione del contaminante organico nei frutti sono:

- $\frac{Q_F}{M_F K_{StW}}$  : è l'accumulo di composto nei frutti dovuto all'assorbimento dell'inquinante dallo stelo;
- $\frac{A_F g_{L/F} K_{AW} 1000}{M_F K_{FW}}$  : è il fenomeno di diffusione del contaminante dai frutti al comparto aria;
- $k_{m,F}$  : rappresenta le perdite di contaminante ad opera della degradazione batterica del contaminante nei frutti;
- $k_{g,F}$  : rappresenta l'effetto di diluizione del contaminante dovuta alla crescita dei frutti nel tempo.

### 2.4.3 Soluzione del sistema di equazioni differenziali

Il sistema di equazioni differenziali (Eq. 1-5, di § 2.4.2) può essere riscritto come una matrice 4×4 con il suolo corrispondente al comparto 1, le radici al 2, lo stelo al 3 e le foglie ed i frutti al 4:

$$\frac{d\vec{C}}{dt} = \begin{Bmatrix} -k_1 & 0 & 0 & 0 \\ k_{12} & -k_2 & 0 & 0 \\ 0 & k_{23} & -k_3 & 0 \\ 0 & 0 & k_{34} & -k_4 \end{Bmatrix} \vec{C} \quad \text{Eq. 6}$$

dove:

- $d\vec{C}/dt$  rappresenta il vettore delle variazioni nel tempo delle concentrazioni di contaminante nei cinque comparti (mg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>);
- $\vec{C}$  rappresenta il vettore delle concentrazioni di contaminante nei cinque comparti (mg/kg);
- i simboli  $k_1, k_2, k_3, k_4$  sono le costanti cinetiche di primo ordine che denotano le perdite da ciascun



comparto ( $d^{-1}$ ), invece  $k_{12}$ ,  $k_{23}$  and  $k_{34}$  sono i tassi di trasferimento dal comparto 1 al 2, dal 2 al 3, dal 3 al 4 rispettivamente ( $d^{-1}$ ) espresse come:

$k_1$ : il fattore che moltiplica  $C_s$  nell'Equazione 1  $\left( \frac{Q_{inf}K_{WS}}{M_S} + \frac{Q_RK_{WS}}{M_S} + \frac{P_S A_S \rho_t \rho_w}{M_S} + k_{deg} \right)$ ;

$k_{12}$ : il fattore che moltiplica  $C_s$  nell'Equazione 2  $\left( \frac{Q_RK_{WS}}{M_R} \right)$ ;

$k_2$ : il fattore che moltiplica  $C_R$  nell'Equazione 2  $\left( \frac{Q_R}{M_R K_{RW}} + k_G + k_m \right)$ ;

$k_{23}$ : il fattore che moltiplica  $C_R$  nell'Equazione 3  $\left( \frac{Q_R}{M_{St} K_{RW}} \right)$ ;

$k_3$ : il fattore che moltiplica  $C_{St}$  nell'Equazione 3  $\left( \frac{Q_R}{M_{St} K_{StW}} + \frac{A_{St} g_{R/St} K_{AW} \rho_w}{M_{St} K_{StW}} + k_G + k_m \right)$ ;

$k_{3,4}$ : nel caso delle foglie il fattore che moltiplica  $C_{St}$  nell'Equazione 4:  $\left( \frac{Q_L}{M_L K_{StW}} \right)$ ; nel caso dei frutti

il fattore che moltiplica  $C_{St}$  nell'Equazione 5:  $\left( \frac{Q_F}{M_F K_{StW}} \right)$ ;

$k_4$ : nel caso delle foglie il fattore che moltiplica  $C_L$  nell'Equazione 4:  $\left( \frac{A_L g_{L/F} K_{AW} \rho_w}{M_L K_{LW}} + k_G + k_m \right)$ ; nel

caso dei frutti il fattore che moltiplica  $C_F$  nell'Equazione 5:  $\left( \frac{A_F g_{L/F} K_{AW} \rho_w}{M_F K_{FW}} + k_G + k_m \right)$ ;

La matrice diagonale può essere risolta in via analitica in funzione delle condizioni iniziali e della funzione di input del contaminante. Nel caso di input di contaminante ad impulso nel suolo la concentrazione iniziale nel suolo (per  $t=0$ ) sarà pari a:

$$C_S(0) = \frac{I}{M_S} \quad \text{Eq. 7}$$

dove  $I$  rappresenta la massa di contaminante introdotta nella matrice solida (mg) ed  $M$  è la massa di suolo tal quale a disposizione delle piante (kg); nel caso dei comparti vegetali la concentrazione iniziale sarà pari a 0. Nel caso di input ad impulso la soluzione analitica del sistema di equazioni differenziali (Equazione 1, 2, 3, 4, 5) è la seguente (Legind et al. 2011):

$$C_1(t) = C_1(0) \times e^{-k_1 t} \quad \text{Eq. 8}$$

$$C_2(t) = k_{12}C_1(0) \times \left( \frac{e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} + \frac{e^{-k_2 t}}{k_1 - k_2} \right) + C_2(0) \times e^{-k_2 t} \quad \text{Eq. 9}$$

$$C_3(t) = k_{12}k_{23}C_1(0) \times \left( \frac{e^{-k_1 t}}{(k_2 - k_1)(k_3 - k_1)} + \frac{e^{-k_2 t}}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_2)} + \frac{e^{-k_3 t}}{(k_1 - k_3)(k_2 - k_3)} \right) \\ + k_{23}C_2(0) \times \left( \frac{e^{-k_2 t}}{k_3 - k_2} + \frac{e^{-k_3 t}}{k_2 - k_3} \right) + C_3(0) \times e^{-k_3 t} \quad \text{Eq. 10}$$

$$C_4(t) = k_{12}k_{23}k_{34}C_1(0) \times \\ \left( \frac{e^{-k_1 t}}{(k_4 - k_1)(k_2 - k_1)(k_3 - k_1)} + \frac{e^{-k_2 t}}{(k_4 - k_2)(k_1 - k_2)(k_3 - k_2)} \right) \\ + \left( \frac{e^{-k_3 t}}{(k_4 - k_3)(k_1 - k_3)(k_2 - k_3)} + \frac{e^{-k_4 t}}{(k_3 - k_4)(k_1 - k_4)(k_2 - k_4)} \right) \\ + k_{23}k_{34}C_2(0) \times \left( \frac{e^{-k_2 t}}{(k_4 - k_2)(k_3 - k_2)} \right. \\ \left. + \frac{e^{-k_3 t}}{(k_4 - k_3)(k_2 - k_3)} + \frac{e^{-k_4 t}}{(k_3 - k_4)(k_2 - k_4)} \right) \\ + k_{34}C_3(0) \times \left( \frac{e^{-k_3 t}}{k_4 - k_3} + \frac{e^{-k_4 t}}{k_3 - k_4} \right) \\ + C_4(0) \times e^{-k_4 t} \quad \text{Eq. 11}$$

### 3) IL BIOCHAR COME MATERIALE DI ACCUMULO DEI CONTAMINANTI

#### 3.1 Origine e potenzialità del biochar

La definizione di “biochar” fornita dalla Fondazione Europea del Biochar (EBC) indica il biochar come “un composto eterogeneo ricco di carbonio e di minerali, prodotto dalla pirolisi di biomassa vegetale sostenibile attraverso tecnologie pulite” (EBC 2012) .

Il biochar può essere ottenuto a partire da numerosi tipi di residui vegetali: stocchi di mais, gusci di noce o di arachide, pula di riso, scarti di potatura e di lavorazione del legno, ma anche da biomasse appositamente coltivate per essere carbonificate (I-CHAR). La pirolisi consiste in un processo di decomposizione termica della biomassa in condizioni limitate o in assenza di ossigeno. Il processo è classificato a seconda del tempo di residenza e della temperatura in: veloce, intermedio, lento. In Figura 7 sono riportati i principali parametri di processo in funzione della tipologia di pirolisi (Ahmad et al. 2014).

Process	Temperature (°C)	Residence time	Products		
			Liquid (bio-oil) (%)	Solid (biochar) (%)	Gas (syngas) (%)
Fast pyrolysis	300–1000	Short (<2 s)	75	12	13
Intermediate pyrolysis	~500	Moderate (10–20 s)	50	25	25
Slow pyrolysis	100–1000	Long (5–30 min)	30	35	35
Gasification	>800	Moderate (10–20 s)	5	10	85

Figura 7: Principali parametri di processo in funzione della tipologia di pirolisi (Ahmad et al. 2014)

La pirolisi della biomassa genera i seguenti sottoprodotti (I-CHAR, EBC 2012):

- il biochar o carbone vegetale;
- il syngas, combustibile gassoso con un potere calorifico pari al GPL che può essere utilizzato in processi produttivi che necessitano di calore quali l’essiccazione e la produzione di energia elettrica. Spesso il syngas viene utilizzato come combustibile per il riscaldamento della biomassa vegetale sottoposta a pirolisi.

L’EBC definisce classifica come “biochar” sottoprodotti di pirolisi costituito da una percentuale di

carbonio totale variabile dal 50-95%: char con contenuto di carbonio totale inferiore al 50% sono definiti invece “Pyrogenic Carbonaceous Material”. L’International Biochar Initiative (IBI) classifica il biochar secondo tre categorie in base al contenuto di carbonio totale:

- Classe 1: presenta una percentuale maggiore del 60%
- Classe 2: presenta una percentuale tra il 30 ed il 60%,
- Classe 3: presenta una percentuale tra il 10% ed il 30%.

Normalmente la pirolisi del biochar avviene a temperature (350-1000°C) (ICHAR, EBC 2012, Lou et al. 2015), che conferiscono la struttura mesoporosa e microporosa al composto carbonioso.

Il biochar è ricco di carbonio e, se applicato ai suoli, è un importante ammendante agricolo. La carbonificazione e l’interramento dei residui vegetali fornisce al suolo consistenti quantità di sostanza organica stabile, con una forte capacità di trattenere i nutrienti (I-CHAR, Lou et al. 2015). Molti studi hanno già dimostrato l’impatto positivo dell’applicazione del biochar sulle rese agricole diminuendo il fabbisogno di acqua e fertilizzanti: essendo caratterizzato da un’elevata porosità contribuisce al miglioramento delle proprietà del suolo incrementando la ritenzione idrica, un incremento di circa il 18% è stato riportato da Ahmad et al. 2014. Il biochar presenta nella maggior parte dei casi una superficie negativamente carica; l’applicazione potenzia pertanto la capacità di scambio cationico del terreno, incrementando il trattenimento di nutrienti come il potassio, il calcio e l’azoto. In sostanza, a fronte di un aumento delle rese agricole, l’impiego del biochar comporta un apporto netto di nutrienti, una minore lisciviazione e il miglioramento della fertilità biologica, consentendo un minor impiego di concimi chimici (I-CHAR). La frazione carboniosa deve la sua stabilità chimica e microbiologica alla sua complessa struttura policiclica aromatica (Ahmad et al. 2014, in Singh et al., 2012). Nonostante il lungo tempo di persistenza delle particelle carboniose nel suolo, le loro proprietà non sono immutabili, ma si modificano nel tempo. Si assiste infatti alla formazione di gruppi funzionali fenolici e carbossilici, che conferiscono alle superfici delle cariche pH-dipendenti; allo stesso modo della sostanza organica del suolo, il biochar è quindi in grado di trattenere notevoli quantità di cationi scambiabili (I-CHAR, Lou et al. 2015). Considerando che la matrice di partenza del biochar è spesso costituita da residui agricoli e forestali, il riciclo ed il riutilizzo di tali risorse rappresenta un’ulteriore aspetto positivo del suo utilizzo (Tang et al. 2013).

Il biochar potrebbe rappresentare una buona alternativa al carbone attivo in termini di ritenzione dei microinquinanti dalle acque reflue in trattamenti terziari. I biochar, come i carboni attivi, sono prodotti da processi di pirolisi, ma i materiali di base sono in genere limitati ai residui biologici e non

comunemente attivati o trattati prima dell'applicazione nei terreni (Beesley et al. 2011). Il carbone attivo viene prodotto a partire da legno, torba, involucri delle noci di cocco, ma anche da fonti non rinnovabili quali il carbone; il processo di attivazione richiede inoltre una notevole quantità di energia termica per sviluppare le proprietà adsorbenti del composto. Per tali motivi, generalmente, il carbone attivo presenta costi più elevati del biochar (Beesley et al. 2011, Mohan et al. 2014, Thompson et al. 2016, Lou et al. 2015,). Alcuni biochar, a differenza dei carboni attivi, sono prodotti a temperature di pirolisi non molto elevate, ciò permette la coesistenza nella matrice di aree non completamente carbonizzate (Beesley et al. 2011). La parziale carbonizzazione del biochar permette di mantenere nella matrice più idrogeno ed ossigeno, elementi essenziali dei gruppi funzionali O- ed H- che interagiscono con i vari contaminanti in maniera simile alla sostanza organica naturalmente presente nel suolo (Mohan et al. 2014, Ahmad et al. 2014).

Le caratteristiche del biochar e le efficienze di trattamento dei diversi contaminanti sono fortemente influenzate dalle materie prime e dalle condizioni di processo della pirolisi, come: temperatura e tempo di residenza. Le differenti matrici di partenza conferiscono al biochar diverse caratteristiche riguardo la porosità e la densità di gruppi funzionali del composto finale (Tang et al. 2013, Rajapaksha et al. 2016). Un incremento della temperatura di pirolisi comporta l'aumento del contenuto di carbonio della matrice, conseguente alla diminuzione della percentuale di idrogeno e di ossigeno. Non sono stati rilevati significativi cambiamenti del contenuto di azoto, che dipende principalmente dalle caratteristiche della matrice originaria (Ahmad et al. 2014). All'aumentare della temperatura, si verifica un incremento della superficie specifica e della frazione carbonizzata del prodotto finale, con conseguente aumento della capacità di adsorbimento: biochar derivanti da residui di piante di grano e sottoposti a temperature di pirolisi tra 500-700°C presentano una superficie specifica relativamente elevata superiore ai 300 m<sup>2</sup>/g con area quasi completamente carbonizzata, mentre la superficie specifica di biochar prodotti a temperature inferiori tra 300-400°C risulta <200 m<sup>2</sup>/g con area solo parzialmente carbonizzata (Tang et al. 2013).

I principali meccanismi di cattura dei contaminanti sono: l'interazione elettrostatica e la precipitazione per i composti inorganici e, l'adsorbimento superficiale su frazione carbonizzata e l'intrappolamento nella struttura porosa (partizione su area non carbonizzata) nel caso dei contaminanti organici (Tang et al. 2013). La temperatura di pirolisi influenza il contributo di questi due meccanismi al trattenimento dei contaminanti: studi di Chen et al. 2011b hanno evidenziato come con l'aumentare delle temperature di pirolisi, da 100°C verso 700°C, il meccanismo di adsorbimento superficiale prevalga rispetto all'intrappolamento nella struttura porosa. I vari meccanismi di interazione del biochar con i contaminanti organici sono sintetizzati in Figura 7.

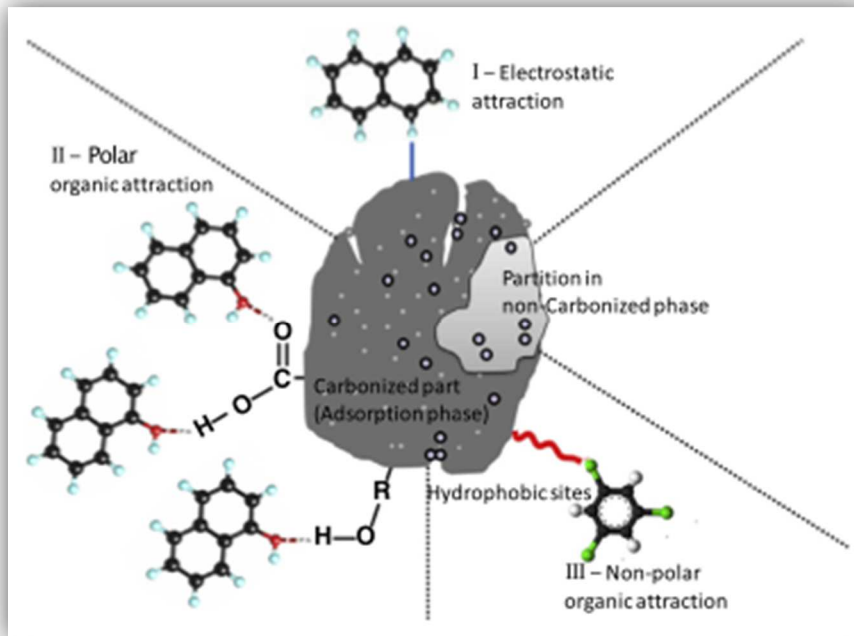


Figura 8: Meccanismi di interazione tra contaminanti organici e biochar (Ahmad et al. 2014)

Biochar prodotti a temperature superiori a 400°C sono più efficienti nella rimozione dei contaminanti organici, in quanto ad elevate temperature, grazie all'aumento della percentuale di carbonio nell'adsorbente, della superficie specifica e del volume dei micropori, il fenomeno di adsorbimento su siti idrofobi (frazioni carbonizzate) della superficie rappresenta il meccanismo dominante di rimozione (Ahmad et al. 2014). Tuttavia la scelta di adoperare una tipologia di biochar che ha subito un processo di pirolisi ad elevata temperatura potrebbe rivelarsi svantaggiosa nel caso di rimozione di composti organici polari. La superficie adsorbente, sottoposta ad elevate temperature, risulta meno polare a causa della perdita di gruppi funzionali contenenti idrogeno e ossigeno per processi di deossigenazione e deidrogenazione. Composti polari tendono a migrare verso gruppi funzionali polari (O-, H-), mentre composti non polari interagiscono principalmente con siti idrofobi della matrice in seguito alla perdita di gruppi funzionali contenenti idrogeno e ossigeno. (Ahmad et al. 2014). L'attrazione elettrostatica rappresenta un ulteriore meccanismo di cattura. Le superfici dei biochar sono normalmente negativamente cariche, caratteristica che potrebbe facilitare l'attrazione elettrostatica di composti organici positivamente carichi. (Ahmad et al. 2014). Molti studi hanno confermato la capacità di trattenimento di vari contaminanti organici, per adsorbimento superficiale ed intrappolamento nella struttura porosa del materiale (Lou et al. 2015, I-CHAR), come: pesticidi (Yang et al. 2010, Yu et al. 2010, Zheng et al. 2010), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (Kearns

et al. 2014), idrocarburi policiclici aromatici (IPA) (Oleszczuk et al. 2012), naftalene (Chen et al. 2009), sulfametazolo (Tang et al. 2013), atrazina, fenantrene (Zhang et al. 2013). Come descritto precedentemente, molti microinquinanti organici sono stati rilevati in ambiente acquatico, portando alla luce punti di debolezza delle tradizionali tecnologie di trattamento delle acque per la rimozione di microinquinanti (Jung et al. 2013). L'adsorbimento su biochar emerge come una potenziale tecnica di trattamento per il controllo dei composti inorganici e dei microinquinanti organici nelle acque e nei suoli, grazie alla sua struttura porosa e all'elevata densità superficiale di gruppi funzionali (Beesley et al. 2011, Jung et al. 2013, Tang et al. 2013, Lou et al. 2015). Il successo di questa tipologia di trattamento dipende dal quantitativo di contaminante che il biochar è in grado di trattenere prima di giungere a saturazione (Beesley et al. 2011). Esistono diverse tecniche di trattamento in grado di migliorare le caratteristiche del biochar. L'attivazione del biochar tramite flussi di vapore ha mostrato effetti positivi in termini di ritenzione dei nutrienti e delle proprietà di adsorbimento dovute all'incremento della superficie specifica del prodotto (Tang et al. 2013). E' stato verificato come la magnetizzazione del biochar comporti un miglioramento della capacità di adsorbimento di contaminanti organici come il naftalene e il para-nitrotoluene, ma anche di anioni inorganici quale l'ortofosfato (Chen et al. 2011a). Ulteriore vantaggio della magnetizzazione consiste nel semplice recupero dell'adsorbente in acque contenenti solidi sospesi, tramite l'applicazione di campi magnetici (Mohan et al. 2014). Insieme all'attivazione ed alla magnetizzazione anche l'ossidazione ha mostrato effetti positivi sulle capacità di adsorbimento: efficienze di immobilizzazione superiori sono state riscontrate per piombo, rame e zinco successivamente all'ossidazione del biochar con  $H_2SO_4$  e  $HNO_3$  (Uchimiya et al. 2011).

Sebbene numerosi siano i benefici, occorre prestare attenzione affinché il biochar in sé non sia tossico per l'ambiente e la salute umana. Se la matrice di origine del biochar presenta composti clorurati, il prodotto finale potrebbe contenere diossine, furani (PCDD/F) e idrocarburi policiclici aromatici (IPA) formati durante il processo di pirolisi. Pertanto è importante una selezione delle materie prime, affinché i prodotti finali rispettino gli standard riferiti a tali sostanze onde evitare rischi per gli ecosistemi e l'uomo una volta applicati in suoli e acque (Tang et al. 2013). Le linee guida dell'Associazione Europea del Biochar riportano una soglia massima per IPA di 12 mg/kg<sub>dw</sub> per basic grade e di 4 mg/kg<sub>dw</sub> per premium grade biochar, 0.2 mg/kg<sub>dw</sub> per PCB, 20 ng/kg per diossine e furani (EBC 2012).

### 3.2 Il biochar come materiale di accumulo del NP

Ad oggi sono stati riscontrati pochi studi in letteratura finalizzati alla determinazione dell'interazione tra NP e biochar in soluzione acquosa e nel suolo. Liping et al. 2014 hanno analizzato il processo di adsorbimento di NP tramite prove di ripartizione a scala di laboratorio su sedimenti ammendati da biochar. I campioni di sedimenti coinvolti negli esperimenti provengono dal Yellow Sea e dall'estuario del fiume Yangtze in Cina. Il campione iniziale raccolto è stato sottoposto a lavaggio con acqua distillata, asciugato e ne sono state eliminate le impurità. Infine i sedimenti sono stati vagliati per ottenere una dimensione finale dei granuli compresa tra 60 e 100  $\mu\text{m}$ . Test finalizzati alla determinazione delle isoterme di adsorbimento del NP sono stati effettuati su puro biochar e su sedimenti ammendati da biochar a diverse percentuali (0%, 0.5%, 2.0% e 5.0% (w/w)) per verificare se il biochar possa aumentare la capacità di adsorbimento dei sedimenti. Nelle prove di ripartizione a 25°C sono state testate concentrazioni da 0,2 e 4 mg/l in soluzioni NaCl per una durata di 16 h. Dai risultati ottenuti in tali prove è stato riscontrato il biochar sia un'ottima matrice di accumulo per il NP e contribuisca a migliorare la capacità di adsorbimento del composto nei sedimenti come si può notare in Figura 9. Prove di ripartizione su biochar evidenziano come la capacità di adsorbimento del NP non sia costante, ma aumenti all'aumentare della concentrazione di NP testata: capacità di adsorbimento pari a 55000 mg/kg si attestano su concentrazioni all'equilibrio di NP pari a 2 mg/l, invece per concentrazioni dell'ordine dei 200  $\mu\text{g/l}$  la capacità di adsorbimento subisce un forte declino attestandosi intorno a 25000 mg/kg.

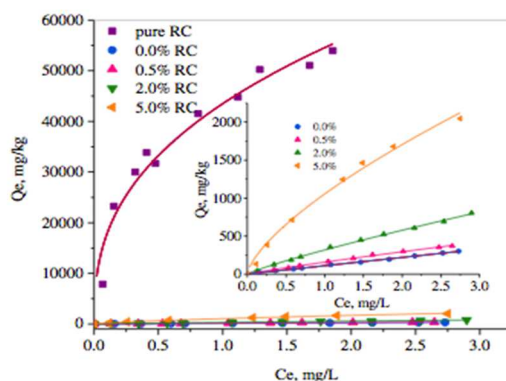


Figura 9: Isoterme di Freundlich del NP su biochar e sedimenti più biochar (Liping et al. 2014)

Studi di ripartizione di NP su carbone attivo granulare sono stati riportati in Tabella 17 come termine di confronto della capacità di adsorbimento del NP su biochar e carbone attivo.



Tabella 17: Specifiche di sperimentazione riguardanti test di ripartizione di NP su carbone attivo e biochar

Fonte bibliografica	Materiale adsorbente	Rapporto S/L (% in peso) (dosaggio carbone)	Soluzione acquosa	Concentrazioni iniziali NP	Tempo di raggiungimento equilibrio	pH	Capacità di adsorbimento o stimata (mg/kg)
(Tanghe & Verstraete, 2001b)	Carbone attivo 600-2360 µm	0,0001-0,001% (1-10 mg/l)	Acqua deionizzata	100–10 000 µg/L	24 h	7,2-7,4	100000
(Z. Yu, Peldszus, & Huck, 2008)	Carbone attivo 400-600 µm	0,0001-0,001% (1-10 mg/l)	Acqua deionizzata	0,1-1 µg/l	12 giorni (test di adsorbimento paralleli su altri contaminanti, non solo NP)	6,4-7,9	300-1000
<b>(Liping et al., 2014)</b>	Biochar (60-100 µm)	0,005-0,01% (5-100 mg/l)	200 mg/l NaCl e 200 µg/l NaN <sub>3</sub>	200-4000 µg /l	16 h a 150 rpm a 25°C	7-7,2	8000-55000

Ma et al. 2016 hanno studiato come il biochar influisse sia sulla mobilità del NP in una sperimentazione a scala di laboratorio in colonna. Nello studio sono state allestite due tipologie di colonne: la prima contenente solo argilla limosa come riempimento, la seconda riempita con argilla limosa e con biochar pari all'1% in peso. Tramite un meccanismo di pompaggio l'acqua contaminata da NP ad una concentrazione di 100 µg/l attraversa i due sistemi in colonna con il medesimo flusso. Ma et al. 2016 hanno poi analizzato il percolato di entrambe le colonne per valutare le concentrazioni residue e la mobilità del NP nei due sistemi. Dai risultati ottenuti le concentrazioni di NP nel percolato variano da 0,25 a 8.12 µg/L per la colonna con l'argilla e da 0.1 a 5.5 µg/L nella colonna con argilla e biochar durante i 360 giorni di sperimentazione. I rispettivi tassi di rimozione del NP dal percolato risultano pari a 97,5 e 99,7%. Da queste evidenze Ma et al. 2016 hanno concluso che il biochar eserciti un'azione di adsorbimento sul NP, riducendone la mobilità nel suolo.

Studi di biodegradazione del NP in suolo sono stati condotti per valutare l'interazione del biochar sul processo degradativo operato dai microorganismi. L'elevata capacità di adsorbimento e la bassa capacità di desorbimento del NP dal suolo ammendato con biochar comportano una riduzione della biodisponibilità di NP per i microrganismi presenti, con conseguente attenuazione della percentuale di NP biodegradata (Ma et al. 2016, Lou et al. 2015). Esperimenti in reattori batch effettuati da Lou et al. 2015 di durata tra 1-16 giorni mostrano come l'efficienza di trasformazione del NP si riduca all'aumentare del dosaggio; tuttavia tra tutti i dosaggi sperimentati (0,01%-0,2% in termini di rapporti percentuali solido/liquido in peso), solo il rapporto in peso biochar/liquido pari a 0,01% hanno avuto un impatto positivo sulla velocità di degradazione del contaminante, che risulta incrementata rispetto al caso in assenza di biochar. Ma et al. 2016 hanno notato tuttavia come nel suolo ammendato con biochar la percentuale e la diversità di colonie batteriche è risultata decisamente maggiore rispetto al suolo privo di biochar. In particolare le classi batteriche in grado di degradare il NP (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Sphingobacteria, Bacilli) sono risultate più abbondanti nel suolo con biochar. Anche la diversità delle comunità batteriche è incrementata in seguito all'applicazione di biochar. L'abbondanza delle diverse comunità batteriche potrebbe influire sui meccanismi di biodegradazione e trasformazione del NP.

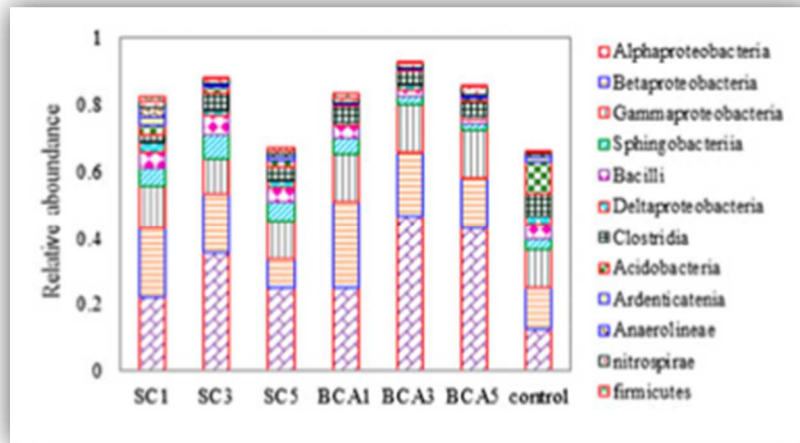


Figura 10: Composizione della comunità batterica in suoli contaminati senza biochar (SC), con biochar (BCA) e nel campione di controllo

## SCOPO DEL LAVORO

Dalla ricerca bibliografica effettuata si evidenzia come il biochar costituisca un'ottima matrice di accumulo di svariati contaminanti organici e come il NP risulti uno dei composti organici principalmente rilevati negli effluenti e nei fanghi provenienti da impianti di trattamento delle acque reflue.

L'obiettivo della prima parte del lavoro di tesi è stimare un coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $K_d$ ” del 4-nonilfenolo sul biochar, attraverso prove di ripartizione. L'esito delle prove pone le basi per una possibile valutazione riguardo l'utilizzo del biochar quale strumento per la rimozione del NP da acque reflue in fase di trattamento terziario.

Nelle prove di ripartizione sono state testate:

- Concentrazioni del contaminante in fase acquosa tra 50 e 200  $\mu\text{g/l}$ : tale range di concentrazioni è confrontabile con i livelli di NP rilevati negli effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue che ricadono principalmente tra le decine di  $\text{ng/l}$  e le decine di  $\mu\text{g/l}$  (§ 1.3.1).
- Due differenti granulometrie: una frazione fine ( $<124 \mu\text{m}$ ) e una più grossolana (1-2 mm);
- La capacità di adsorbimento di biochar fine ( $<124 \mu\text{m}$ ) “magnetizzato”; il processo di magnetizzazione, qualora mantenesse invariata la capacità di adsorbimento del biochar, risulterebbe interessante in ottica applicativa per un eventuale recupero del materiale a fine trattamento.
- Diverse matrici liquide a differenti pH: i test sono stati eseguiti in acqua di rete (pH intorno a 8) e in soluzione di  $\text{CaCl}_2$  0,01 M in acqua deionizzata (pH intorno a 6), con l'obiettivo di analizzare se lo stato di dissociazione del NP, seppur minimo nel range di pH investigato, influisca sull'adsorbimento del NP.

La stima del “ $K_d$ ” è altresì finalizzata a valutare l'influenza del biochar sul trasferimento del NP in terreno a piante di lattuga mediante applicazione del modello di Legind et al. 2011. La taratura del modello nel coefficiente di degradazione del NP nel suolo “ $k_{\text{deg}}$ ” e nel tasso metabolico del NP nelle foglie di lattuga “ $k_{\text{m,L}}$ ” è stata effettuata sulla base di due set di dati sperimentali di coltivazione di lattuga in terreno non ammendato con biochar. La validazione del modello è stata poi effettuata con un ulteriore set di dati sperimentali, ottenuti da coltivazione di lattuga su terreno ammendato con biochar. Una volta disponibile il modello per scopi previsionali, esso è stato utilizzato per valutare l'idoneità del biochar al fine di limitare il trasferimento del NP alla lattuga coltivata su terreni inquinati.

## **4) CARATTERIZZAZIONE DEL BIOCHAR**

### **4.1 Introduzione**

Il biochar utilizzato nelle prove di caratterizzazione e di ripartizione è stato prodotto a partire da legno di faggio e di castano a temperature di pirolisi tra 1000-1200°C. Grazie a tali temperature di produzione questa tipologia di biochar presenta una superficie specifica dell'ordine di 200-300 m<sup>2</sup>/g, range di valori medio-alto riferito a biochar non attivati (20-500 m<sup>2</sup>/g), (Brewer et al. 2009, Tang et al. 2013, Kearns et al. 2014, Inyang et al. 2015). Tuttavia in letteratura sono stati riscontrati numerosi studi effettuati su biochar attivati; quest'ultimi presentano superfici specifiche molto elevate che raggiungono i 1000 m<sup>2</sup>/g (Jung et al. 2013, Inyang et al. 2015). Nei paragrafi successivi si descrivono le prove di caratterizzazione del biochar utilizzato nelle prove di ripartizione con NP in soluzione. Le prove di caratterizzazione riguardano la determinazione del contenuto di umidità, di ceneri, della frazione di carbonio organico, della densità apparente e la valutazione del pH.

### **4.2 Materiali e metodi**

#### ***4.2.1 Selezione granulometrica***

Le granulometrie da testare nelle prove sono state realizzate tramite triturazione del biochar tal quale in mortaio (Figura 11) e progressiva vagliatura in setacciatore meccanico. Per la realizzazione della frazione fine è stato utilizzato un singolo vaglio con maglie di dimensioni pari a 124 µm; si è poi realizzata una frazione più grossolana pari ad 1-2 mm. In Figura 12 sono riportate le diverse granulometrie realizzate: la frazione < 124 µm si presenta in maniera molto compatta, dotata di elevata carica elettrostatica. Il biochar tal quale rappresenta la tipologia di matrice carboniosa aggiunta ai terreni da coltivo: dall'immagine si può notare come nella matrice originaria sia già presente una minima percentuale di frazione molto fine.



Figura 11: Triturazione del biochar tal quale in mortaio



Figura 12: Biochar tal quale granulometrie ottenute post-triturazione: < 124 µm e 1000-2000 µm

#### 4.2.2 Umidità

L'umidità delle tre granulometrie biochar è stata determinata per via gravimetrica come perdita in peso dopo riscaldamento a 105°C per 24 ore, secondo il metodo ASTM D 2216-05. Le capsule in ceramica sono state condizionate in stufa a 105°C per 24 ore. Successivamente sono state pesate ed è stato aggiunto 1 g di biochar per ogni campione. Sono state effettuate tre ripetizioni su ogni granulometria. Il calcolo dell'umidità è descritto dall'Eq.12:

$$UM(\%) = \frac{(m_{capsula} + m_{biochar,0}) - (m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) \cdot 100}{(m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) - m_{capsula}} \quad \text{Eq. 12}$$

E' stato effettuato un approfondimento ulteriore sulla frazione <124 µm seguendo le linee guida dell'European Biochar Certificate (DIN 51718) determinando il contenuto di umidità dopo 24 h in

stufa a 40°C e dopo 24 h a 105°C per distinguere tra contenuto d'acqua igroscopica e non. Su ogni campione sono state pertanto effettuate in ripetizione le seguenti prove:

- determinazione del contenuto di umidità “raw water” del campione tal quale dopo 24 h in stufa a 40°C
- determinazione del contenuto di umidità igroscopica 105°C per 24 h del campione posto 24 h in stufa a 40°C.

#### **4.2.3 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico**

La frazione di carbonio organico presente nel biochar è stata stimata sulla frazione <124 µm a partire dal contenuto di solidi volatili presenti nel campione, a loro volta determinati per via gravimetrica mediante test in muffola a 550 °C per 2 ore. Un campione di 1 g di biochar secco è stato riposto in muffola a 550 °C per 2 ore. Dopo l'esposizione a 550°C, il campione ha subito un graduale raffreddamento in muffola e successivamente è stato trasferito in stufa a 105°C ed infine in essiccatore prima di essere pesato. La massa dei solidi volatili equivale alla differenza tra il peso netto di biochar secco misurato prima del passaggio in muffola e il peso netto del campione dopo tale test. Poiché il carbonio organico costituisce poco più del 50 % della materia organica presente, la frazione di carbonio organico del terreno si ottiene moltiplicando la percentuale di solidi volatili del campione per 0,5. Le prove sulla valutazione della frazione di carbonio organico  $f_{oc}$  sono state eseguite secondo le indicazioni riportate nella metodologia UNI EN 15169.

$$Volatili(\%) = \frac{(m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) - (m_{capsula} + m_{biochar,550^{\circ}C}) \cdot 100}{(m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) - m_{capsula}} \quad \text{Eq. 13}$$

$$f_{oc}(\%) = 0,5 \cdot Volatili(\%) \quad \text{Eq. 14}$$

#### **4.2.4 Contenuto di ceneri**

Il contenuto di ceneri del biochar è stato determinato per via gravimetrica sulla frazione <124 µm, sottoponendo i campioni utilizzati per determinare il contenuto di solidi volatili in muffola a 750°C per 6 h secondo il metodo ASTM D1762-84. Sono state effettuate tre ripetizioni per entrambe le tipologie di biochar.

$$Ceneri(\%) = \frac{(m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) - (m_{capsula} + m_{biochar,550^{\circ}C}) - (m_{capsula} + m_{biochar,750^{\circ}C}) \cdot 100}{(m_{capsula} + m_{biochar,105^{\circ}C}) - m_{capsula}} \quad \text{Eq. 15}$$

#### **4.2.5 pH**

Il pH del biochar è stato determinato per via potenziometrica seguendo due diverse metodologie: DIN ISO 10390 in soluzione 0,01 M di CaCl<sub>2</sub> e Rajkovic et al 2011 in acqua deionizzata, rispettivamente riportate sul sito dell'associazione europea biochar e dell'International Biochar Initiative. Riproponendo il metodo DIN ISO 10390 è stata preparata la soluzione 0,01 M di CaCl<sub>2</sub>; il test è stato eseguito in triplicato: per ogni vial in vetro da 50 ml sono stati dosati 1 g di biochar secco e 25 ml della soluzione di CaCl<sub>2</sub>. Dopo il riempimento le vial sono state poste in agitatore per un'ora e mezza. Riproponendo il metodo di Rajkovic et al 2011 sono stati trasferiti, in ogni vial in vetro da 50 ml, 1 g di biochar secco e 25 ml di acqua deionizzata. Anche in questo caso è stato deciso di effettuare tre ripetizioni. Le vial sono state poste in agitatore per un'ora e mezza. Trascorso il tempo stabilito i campioni sono stati filtrati su filtro GF-C in quarzo, poiché la sospensione non ha subito una netta separazione tra fase solida e liquida durante la fase di sedimentazione. La misura del pH è stata effettuata immergendo l'elettrodo del pH-metro nel filtrato.

#### **4.2.6 Densità apparente**

La densità apparente fornisce indicazioni riguardo la massa di biochar riferita all'unità di volume, prendendo in considerazione gli interstizi di aria presenti nella matrice solida. Facendo riferimento al metodo ASTM D2854-09, la densità apparente delle granulometrie <124 µm e 1000-2000 µm è stata determinata misurando un volume di biochar in due cilindri graduati di vetro di volumetria pari 50 ml. Il cilindro è stato riempito lentamente con un'aliquota che superasse la metà della capacità massima dello strumento. Successivamente il contenuto del cilindro è stato pesato. La densità apparente del biochar risulta pertanto dal rapporto massa-volume. La densità del biochar non tritato, utilizzato nelle prove di coltivazione è stata determinata invece tramite tre prove di riempimento di un becker di vetro da 250 ml fino a 150 ml e successivamente pesandone il contenuto.



## 4.3 Risultati e discussione

### 4.3.1 Umidità

L'umidità delle diverse frazioni di biochar è stata riportata in Tabella 18. I valori puntuali di ciascun replicato e l'approfondimento del contenuto di umidità del biochar sono riportati all'Allegato B

Tabella 18: Contenuto di umidità delle tre granulometrie di biochar testato.

Frazione di biochar	Umidità (media±deviazione standard di n replicati)
<124 µm	8,68 ± 0,09 % (n=3)
1000-2000 µm	6,73 ± 0,05 % (n=3)
Tal quale	4,3 ± 0,08 % (n=3)

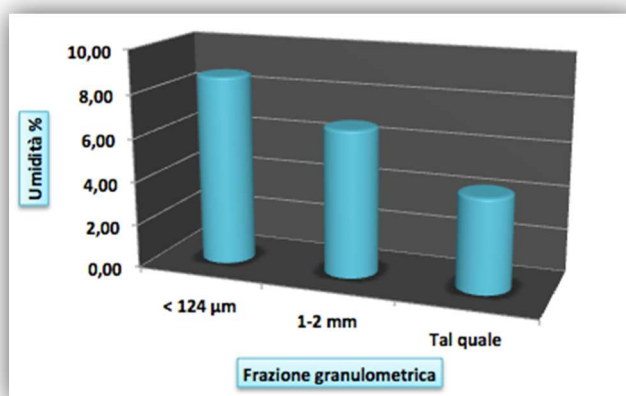


Figura 13: Umidità delle frazioni di biochar testate espressa come % in g<sub>w</sub>/g s.s.

Dai risultati delle prove emerge come all'aumentare della granulometria la percentuale di umidità della frazione si riduce. Questa evidenza può essere spiegata dalla maggiore superficie specifica al diminuire della granulometria: la granulometria più fine presenta maggiore superficie a diretto contatto con le particelle di acqua presenti nell'aria.

Da studi di letteratura emerge come l'umidità del biochar dipenda dalla tipologia dalla matrice di origine, ma risulta spesso inferiore al 10%. Studi di Mohan et al. 2011 riportano un contenuto di umidità pari al 3% e al 1,5% per biochar derivanti da legno e corteccia di quercia rispettivamente. Studi di Brewer et al. 2009 riportano contenuto di umidità del biochar proveniente dalla paglia del mais tra 1-2% e dal panico verga tra 1-3%. In contrapposizione le matrici di biochar testate da Pelleri et al. 2012 presentano un contenuto di umidità in percentuale pari al 6% per biochar derivante dalle bucce del riso, al 13% da residui delle olive e all' 8 % da residui delle arance.

#### ***4.3.2 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico***

La percentuale di volatili risultante dalle prove di caratterizzazione è pari al  $92 \pm 0,6$  % (n=3). I valori puntuali di ciascun replicato e sono riportati all'Allegato B. In media la frazione di carbonio organico del biochar è pari a  $46 \pm 0,3$  % (n=3).

Studi di Mohan et al. 2011 riportano un contenuto di volatili nettamente inferiore al contenuto di volatili stimato dalle prove sopra descritte, pari al 16% e al 22% per biochar derivanti da corteccia e legno di quercia rispettivamente. Studi di Brewer et al. 2009 riportano contenuto di volatili del biochar proveniente dalla paglia del mais tra 5-15% e dal panico verga tra 7-16%. In contrapposizione le matrici di biochar testate da Pelleri et al. 2012 presentano un contenuto di volatili in percentuale pari al 66% per biochar derivante dalle bucce del riso, al 79% da residui delle olive e al 75% da residui delle arance. Da tali considerazioni emerge come il contenuto di volatili dipenda dalla matrice di origine del biochar analizzato.

#### ***4.3.3 Contenuto di ceneri***

Dai risultati emerge che il contenuto di ceneri del biochar è pari al  $1,3 \pm 0,3$  % (n=3). I valori puntuali di ciascun replicato sono riportati all'Allegato B.

Da studi di letteratura si evidenzia come il contenuto di ceneri del biochar dipenda dalla tipologia dalla matrice di origine del carbone vegetale. Il biochar esaminato in questa trattazione deriva da legno di faggio e di castagno ed il contenuto di ceneri è compatibile con quello riscontrato da altri studi di caratterizzazione di biochar proveniente dal legno. Secondo tali studi biochar derivanti dal legno presentano contenuto di ceneri molto basso: 2-8% da varie tipologie di legno (Kearns et al. 2014), 2-5% da legno di pino (Jung et al. 2013, Essandoh et al. 2015), 11% derivanti da legno di quercia (Essandoh et al. 2015). Studi di Brewer et al. 2009 riportano contenuto di ceneri di biochar

proveniente dalla paglia del mais e dal panico verga, un'erba delle praterie: il contenuto di ceneri si assesta rispettivamente intorno al 30-55% e al 52-55%. L'elevata percentuale di ceneri pone questa tipologia di biochar in una situazione di svantaggio in campo applicativo, in confronto a matrici a basso contenuto di ceneri. Da test di caratterizzazione di Pelleri et al. 2012 su diverse tipologie di biochar il contenuto di ceneri si attesta su percentuali pari al 20% per biochar derivante dalle bucce del riso, al 4% da residui delle olive e delle arance.

#### 4.3.4 pH

Il pH misurato in acqua deionizzata risulta leggermente maggiore rispetto al pH testato in soluzione di CaCl<sub>2</sub>. Il valore medio di pH risultante dalle prove è pari a  $7,9 \pm 0,4$  (n=6). Dai risultati emerge come il biochar abbia pH debolmente alcalino. Questo risultato è confermato da altri studi in letteratura, in cui il pH del biochar risulta generalmente basico, sebbene siano stati rilevati alcuni casi di biochar acido: ciò dipende fortemente dalla matrice originaria da cui il biochar viene prodotto (Ahmad et al. 2014).

#### 4.3.5 Densità apparente

I valori di densità apparente del biochar non essiccato sono riportati in Tabella 19. La frazione 1000-2000 µm presenta densità apparente minore di quella tal quale poiché nella frazione originaria è già presente un elevato contenuto di frazione molto fine che incide sulla densità finale.

Tabella 19

Frazione di biochar	Densità (media±deviazione standard di n replicati)
<124 µm	$253 \pm 0,94 \text{ kg/m}^3$ (n=3)
1000-2000 µm	$132 \pm 1,35 \text{ kg/m}^3$ (n=3)
Tal quale	$143 \pm 0,27 \text{ kg/m}^3$ (n=3)

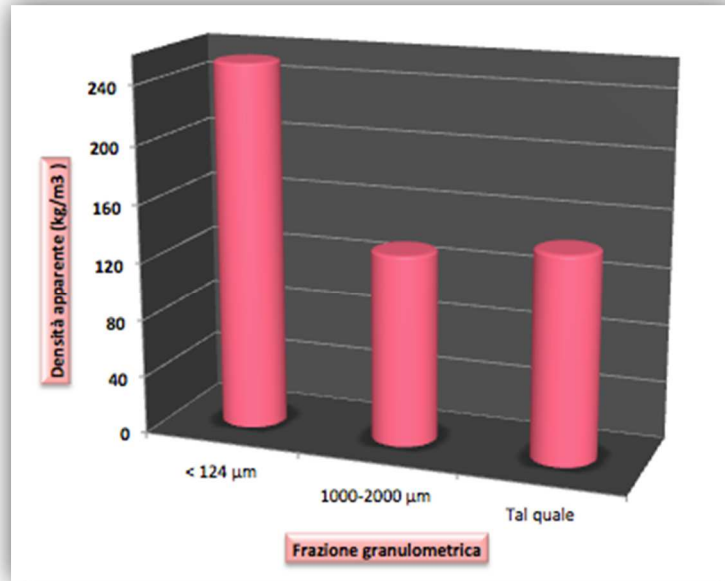


Figura 14: Densità delle frazioni di biochar testate espresse in  $\text{kg/m}^3$

## 5) PROVE DI RIPARTIZIONE SOLIDO-LIQUIDO

### 5.1 Introduzione

In questo capitolo sono descritte le prove di ripartizione effettuate con fase liquida che presenta contaminazione di NP e biochar. I test di ripartizione prevedono prove con biochar di granulometria pari a 1000-2000  $\mu\text{m}$  e  $<124 \mu\text{m}$ : la capacità di adsorbimento di quest'ultima è stata testata in forma magnetizzata e non. La procedura di magnetizzazione del biochar è riportata nell'Allegato A. La fase liquida testata è rappresentata sia da acqua di rete sia da una soluzione 0,01 M di  $\text{CaCl}_2$  in acqua deionizzata spesso utilizzata in prove di ripartizione con carboni attivi e contaminanti organici (Han et al. 2015, Liao et al. 2014). Le diverse fasi liquide presentano inoltre pH differenti: attraverso questo aspetto, è stato possibile confrontare il fenomeno di adsorbimento del NP a diversi pH.

Dalle indicazioni riportate in letteratura scientifica (§ 1.3.1) circa le concentrazioni di NP negli effluenti degli impianti di trattamento delle acque reflue, è stato deciso di preparare la soluzione contaminante con concentrazioni tra i 50 e i 200  $\mu\text{g/l}$ . I test di ripartizione sono finalizzati ad una stima del coefficiente di distribuzione solido-liquido " $K_d$ ". Tale coefficiente indica la tendenza del NP a ripartirsi tra la fase solida e la fase liquida specifica per la tipologia di biochar testato.

### 5.2 Materiali e metodi

#### 5.2.1 Preparazione dei materiali

La fase preliminare dell'allestimento consiste nella preparazione della vetreria e della strumentazione necessaria. Trattandosi di test finalizzati a quantificare il trasferimento di NP a basse concentrazioni dell'ordine dei  $\mu\text{g/l}$ , è necessario garantire la pulizia e la sterilità di tutto il materiale a contatto con le fasi liquide e solide della prova, onde evitare contaminazione da residui chimici e biodegradazione del contaminante in esame.

Sulla vetreria sono state effettuate diverse fasi di pulizia: dopo aver eseguito il lavaggio con acqua di rete e sapone si è proceduto a bagno acido in presenza di incrostazioni tramite una soluzione diluita di HCl al 5%; successivamente, è stato eseguito un passaggio in candeggina diluita con acqua di rete per la rimozione dell'eventuale carica batterica. I residui di candeggina sono stati rimossi poi con acqua deionizzata. Infine la vetreria è stata passata con l'acetone per la rimozione di eventuali composti organici residui. La soluzione 0,01 M di  $\text{CaCl}_2$ , l'acqua di rete e le diverse granulometrie

di biochar, sono state stoccate in bottiglie adatte ad autoclave; la sterilizzazione è avvenuta in autoclave mediante due cicli consecutivi da 20 minuti a 120°C. La sterilizzazione con autoclave abbatte la presenza di microorganismi viventi attraverso la generazione di vapore surriscaldato in pressione.

### 5.2.2 Allestimento delle prove

Le soluzioni contaminate a varie concentrazioni sono state prodotte da una soluzione madre realizzata pesando 22,8 mg di NP in un matraccio da 20 ml, portando il matraccio a volume con acetone (Figura 15). La concentrazione teorica ottenuta è pari a 1140 mg/l; un campione di tale soluzione è stato analizzato per verificare la reale concentrazione.



Figura 15: Preparazione soluzione madre di NP

La soluzione intermedia è stata ottenuta trasferendo con pipetta in vetro da 2 ml, 1 ml di soluzione madre in

un matraccio di vetro da 10 ml portando a volume con acetone, ottenendo una concentrazione di NP



Figura 16: Disposizione delle soluzioni finali su stirrer magnetico

pari a 114 mg/l. Le concentrazioni finali teoriche pari a 57, 114 e 228 µg/l sono state ottenute tramite diluizioni con acqua di rete o con soluzione 0,01 M di CaCl<sub>2</sub> in acqua deionizzata della soluzione intermedia. Contemporaneamente alle soluzioni contaminate è stata preparata la soluzione non contaminata per il campione “Bianco”, finalizzato a testare un possibile rilascio di NP da parte del biochar. Il campione Bianco è stato realizzato trasferendo 0,5 ml di acetone in un matraccio da 500 ml con pipetta da 2 ml in vetro e portando a volume con soluzione 0,01 M di CaCl<sub>2</sub> in acqua deionizzata. Nella preparazione delle soluzioni finali è stata prestata molta attenzione ai fini di mantenere la medesima percentuale di acetone per tutti i campioni

uguale allo 0,1% in volume. Tale percentuale di acetone è stata mantenuta ai fini di minimizzarne la presenza onde evitare che il NP invece di solubilizzarsi in

soluzione resti nel solvente. Terminata la preparazione delle soluzioni finali, i matracci sono stati posti in agitazione tramite l'utilizzo di ancorette su uno stirrer magnetico per 24 ore ai fini di assicurare la completa miscelazione del contaminante (Figura 16). Al termine delle 24 ore si è provveduto all'omogeneizzazione nonché alla misura del pH delle soluzioni finali. I valori di pH rilevati sono riportati in Tabella 20.

**Tabella 20: pH delle fasi liquide utilizzate nelle prove di ripartizione**

Fase liquida	pH (media±deviazione standard)	Temperatura (°C)
0,01 M di CaCl <sub>2</sub>	6,31 ± 0,02 (n=3)	23
Acqua di rete	8,03 ± 0,06 (n=3)	23,2



**Figura 17: Pesate di biochar**

L'allestimento delle prove di ripartizione prosegue con la preparazione dei campioni. Il volume di soluzione stabilito per ciascuna bottiglia è pari a 270 ml. I campioni sono stati precedentemente riempiti con la dose di biochar con l'obiettivo di ottenere un rapporto solido-liquido pari allo 0,001%. Questo rapporto solido-liquido deriva da studi di letteratura riguardanti prove di ripartizione biochar-NP in fase liquida e carbone attivo-NP in fase liquida (§ 3.2, Tabella 17). Considerato il rapporto solido-liquido sopra indicato, sono state effettuate per ciascun campione pesate di biochar intorno a 2,7 mg. Essendo il quantitativo molto basso è stato necessario eseguire le pesate su una bilancia a cinque cifre decimali in cella termostatica

(Figura 17), dove temperatura (20°C) e umidità (50%) sono costanti.

Una volta trasferita la massa di biochar nelle bottiglie si procede con il riempimento delle bottiglie con la fase liquida: per ogni campione è stato trasferito un volume di 270 ml della soluzione da testare con cilindro in vetro da 500 ml. La volumetria di soluzione trasferita non rappresenta la massima capacità volumetrica delle bottiglie, tuttavia essendo il NP un composto non volatile è stato trascurato il fenomeno di volatilizzazione. Le bottiglie sono state chiuse con tappo in vetro e disposte su un

dispositivo agitatore ad asse orizzontale (TECNOVETRO, Monza modello M-102-OS) settato a livello 3 per 48 ore in cella termostatica (Figura 18). I campioni sono stati posti in cella termostatica al buio per evitare fenomeni di fotolisi. La scelta di tale tempo di contatto deriva da prove di ripartizione di NP in fase liquida su biochar e carbone attivo di Liping et al. 2014 e Tanghe et al. 2000 rispettivamente (§ 1.3.1), che affermano il raggiungimento dell'equilibrio a 24 ore. A fattori di sicurezza è stato raddoppiato tale tempo di contatto. In Tabella 21 sono stati descritti i campioni con tutte le specifiche dell'allestimento. I campioni "1-12" indicano le bottiglie con la soluzione contaminata ed il biochar, i campioni "C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>" sono i "controlli", ovvero campioni contaminati senza biochar che hanno subito il processo di agitazione a 24 ore. I campioni "iniziali" rappresentano quantitativi di soluzione contaminata, prelevata prima di disporre le bottiglie su agitatore in cella termostatica.



**Figura 18: Campioni su dispositivo agitatore**



Tabella 21: Specifiche di allestimento delle prove di ripartizione

Campione	Biochar ( $\mu\text{m}$ )		Matrice liquida	“C <sub>0</sub> ” ( $\mu\text{g/l}$ )	“M <sub>BC</sub> ” (mg)	Rapporto S/L (% in peso)
1	<124	non magnetico	Acqua di rete	114	2,78	0,00103
2	<124	non magnetico	Acqua di rete	114	2,84	0,00105
3	<124	magnetico	Acqua di rete	114	2,77	0,00103
4	<124	magnetico	Acqua di rete	114	2,76	0,00102
5	<124	non magnetico	0,01 M CaCl <sub>2</sub>	114	2,81	0,00104
6	<124	non magnetico	0,01 M CaCl <sub>2</sub>	114	2,8	0,00104
7	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	57	2,84	0,00105
8	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	57	2,72	0,00101
9	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	114	2,78	0,00103
10	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	114	2,8	0,00104
11	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	228	2,8	0,00104
12	1000-2000	non magnetico	Acqua di rete	228	2,75	0,00102
Bianco	-	-	0,01 M CaCl <sub>2</sub>	114	2,8	0,00104
C <sub>1</sub>	-	-	Acqua di rete	57	-	-
C <sub>2</sub>	-	-	Acqua di rete	57	-	-
C <sub>3</sub>	-	-	Acqua di rete	114	-	-
C <sub>4</sub>	-	-	Acqua di rete	114	-	-
C <sub>5</sub>	-	-	Acqua di rete	114	-	-
Iniziale CaCl <sub>2</sub>	-	-	0,01 M CaCl <sub>2</sub>	114	-	-
Iniziale acqua rete	-	-	Acqua di rete	228	-	-

### 5.2.3 Processamento ed analisi del campione

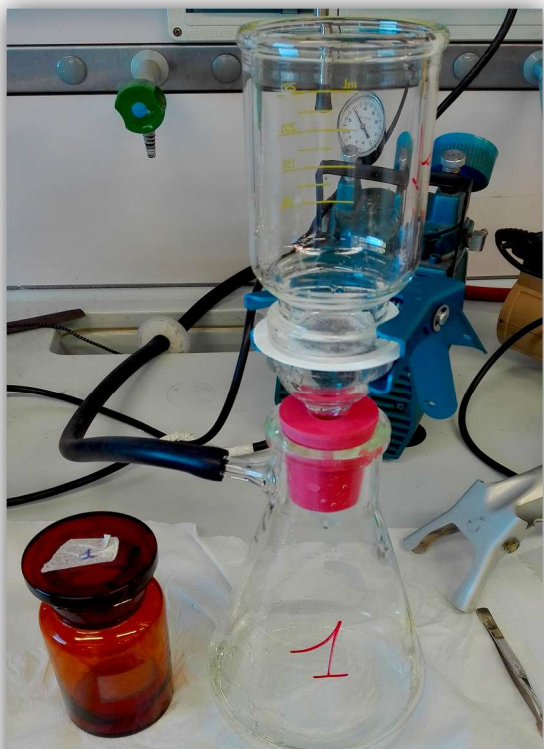


Figura 19: Dispositivo filtratore in vetro con filtro GF-C in quarzo

Scadute le 48 ore i campioni sono stati rimossi dal dispositivo agitatore. La separazione della fase solida da quella liquida è stata effettuata tramite un dispositivo filtratore in vetro su filtro in quarzo GF-C (Figura 19). La validità della procedura di filtrazione è stata verificata tramite prove di filtrazione di soluzioni contaminate a 57 µg/l senza biochar. E' stata testata la concentrazione più bassa adottata nelle prove di ripartizione, poiché minore è la concentrazione maggiore risulterà l'evidenza di un'eventuale trattenimento del NP da parte del filtro. Le analisi dei campioni filtrati e non filtrati sono riportati nell'Allegato C. Per ogni campione è stato utilizzato un dispositivo filtratore ed un filtro in quarzo diverso. I campioni filtrati sono stati successivamente raccolti in bottiglie di vetro da 250

ml e sottoposti ad analisi per la quantificazione di NP in fase acquosa.

L'estrazione del campione è stata effettuata preconcentrando lo stesso tramite cartucce SPE (Select HLB da 200 mg) costituite da una fase polimerica, indicata per composti di natura polare. Prima dell'eluizione con acetato di etile (5-6 ml) la cartuccia SPE è stata asciugata mediante applicazione del vuoto per circa 30 minuti. Successivamente si passa alla fase di riduzione in volume del campione. La riduzione di volume si opera al fine di ottenere una soluzione più concentrata e di volume noto, riducendo la quantità di solvente presente nel campione. Ciò si ottiene mediante due processi sequenziali:

- Rotavapor: il campione viene concentrato tramite evaporazione a bassa pressione del solvente. L'evaporazione viene favorita dall'applicazione all'evaporatore rotante di un'opportuna depressione, che abbassa la temperatura di ebollizione del solvente.
- Flusso di azoto: per ottenere un'ulteriore evaporazione del solvente.

Prima dell'analisi del NP è necessario procedere con una derivatizzazione, mediante sililazione, per renderlo più adatto all'analisi gascromatografica e migliorare la sensibilità strumentale. Gli agenti sililanti utilizzati sono il trifluoroacetammide (BSTFA) e il trimetilclorosilano (TMCS), addizionati

con rapporto 99:1. L'analisi viene condotta tramite Gas MS/MS: Gas Cromatografia (GC) con rivelazione a spettrometria di massa con Triplo-Quadrupolo (MS/MS) – operando in modalità MRM (Multi Reaction Monitoring).

Le analisi del NP in fase liquida presentano un'incertezza media del  $13 \pm 12$  %. I dati per la stima dell'incertezza analitica sono riportati nell'Allegato C.

### 5.3 Stima del coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $K_d$ ”

Dalle analisi della concentrazione del NP in fase acquosa “ $C_{w,eq}$ ” nei campioni contenenti il biochar è possibile determinare il coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $K_d$ ” (L/kg) in funzione della tipologia di biochar e di matrice liquida in esame, come:

$$K_{d \text{ best}} = \frac{(C_0 - C_{w,eq})V}{M_{BC}C_{w,eq}} \quad \text{Eq.16}$$

dove:

- “ $C_0$ ” è la concentrazione iniziale di NP in fase liquida;
- “ $C_{w,eq}$ ” è la concentrazione di NP in fase liquida all'equilibrio;
- “ $V$ ” è il volume della fase liquida immesso nelle bottiglie;
- “ $M_{BC}$ ” è la massa di biochar immessa nel campione.

La stima del “ $K_d$ ” non è rappresentata da un singolo valore, ma da un range di valori, legato all'incertezza di una serie di fattori strumentali quali: la quantificazione del NP in fase liquida, la massa effettiva di biochar pesata, il volume di soluzione immesso nelle bottiglie. Tali incertezze si rifletteranno di conseguenza sul parametro finale. Il procedimento per la determinazione dell'incertezza “ $\delta K_d$ ” è stato riportato in Allegato D. Dopo queste considerazioni la stima del coefficiente di distribuzione solido-liquido risulterà:

$$K_d = K_{d \text{ best}} \pm \delta K_d \quad \text{Eq.17}$$

Dalle concentrazioni in fase liquida all'equilibrio del NP è possibile stimare inoltre la capacità di adsorbimento del NP da parte del biochar “ $C_s$ ” e dell'incertezza di tale grandezza “ $\delta C_s$ ” applicando la legge di propagazione dell'incertezza come effettuato per la stima del “ $K_d$ ”.

$$C_{s \text{ best}} = \frac{(C_0 - C_{w,eq})V}{M_{BC}} \quad \text{Eq.18}$$

## 5.4 Risultati e discussione

In Tabella 22 sono riportate le analisi condotte sull'acqua di rete e sul biochar nonché la concentrazione di NP nella soluzione madre. L'acqua di rete presenta concentrazioni di NP al di sotto dei limiti di rilevabilità (detection limit "DL" pari a 0,1 µg/l), mentre il biochar presenta una concentrazione di NP pari a  $433 \pm 87$  µg/kg s.s.. Dalle analisi della soluzione madre il NP è stato rilevato in concentrazione esattamente pari a quella attesa ( $1140 \pm 148$  mg/l).

**Tabella 22: Concentrazioni di NP nell'acqua di rete, nel biochar e nella soluzione madre di NP**

Campione analizzato	Concentrazioni	Unità di misura
Acqua di rete	< 0,1	µg/l
Biochar	$433 \pm 87$	µg/kg s.s..
Soluzione madre di NP	$1140 \pm 148$	mg/l

In Tabella 23 sono state riportate rispettivamente le concentrazioni di NP in fase liquida all'equilibrio.

**Tabella 23: Concentrazioni di NP in fase liquida all'equilibrio**

Etichetta	"C <sub>w,eq</sub> " (µg/l)	"C <sub>w,eq,m</sub> " (µg/l)
1	$73 \pm 10$	$77 \pm 10$
2	$81 \pm 11$	
3	$78 \pm 10$	$82 \pm 11$
4	$85 \pm 11$	
5	$65 \pm 9$	$80 \pm 10$
6	$95 \pm 12$	
7	$40 \pm 5$	$40 \pm 5$
8	$41 \pm 5$	
9	$104 \pm 14$	$113 \pm 15$

Etichetta	“C <sub>w,eq</sub> ” (µg/l)	“C <sub>w,eq,m</sub> ” (µg/l)
10	122 ± 16	
11	176 ± 23	170 ± 22
12	164 ± 22	
Bianco	< 0,1	-
C <sub>1</sub>	67 ± 9	-
C <sub>2</sub>	62 ± 8	-
C <sub>3</sub>	137 ± 18	-
C <sub>4</sub>	127 ± 17	-
C <sub>5</sub>	124 ± 16	-
Iniziale CaCl <sub>2</sub>	131 ± 17	-
Iniziale acqua rete	268 ± 35	-

Le concentrazioni medie finali in fase liquida “C<sub>w,eq,m</sub>” (campioni 1-6) indicano come la riduzione della concentrazione di NP sia indipendente dalla tipologia di biochar (magnetico o non magnetico), e dal pH della soluzione (6 oppure 8). Dalle concentrazioni medie finali in fase liquida “C<sub>w,eq,m</sub>” in campioni con granulometria 1000-2000 µm emerge che per concentrazioni iniziali pari a 57 e 228 µg/l (campioni 7-8; 11-12) si verifica una riduzione della concentrazione di NP, mentre per quelle con valori 114 µg/l (campioni 9-10) non è stato rilevato un abbattimento del contaminante. I campioni di controllo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) e i campioni “iniziali” senza biochar, tenendo conto dell’incertezza analitica, sono compatibili con la concentrazione iniziale attesa. Inoltre dalle analisi del campione “Bianco”, in cui è stato dosato biochar in una soluzione non contaminata da NP, si evidenzia come il possibile rilascio di NP da parte del biochar sia al di sotto dei limiti di rilevabilità strumentali. La concentrazione di fondo di NP del biochar pertanto non ha influito sulle concentrazioni in fase liquida all’equilibrio degli altri campioni.

Dai risultati ottenuti (Tabella 33), tramite le Equazioni 16-18 (§ 5.2.3), è stato possibile stimare il valore sperimentale di “ $K_d$ ” (L/kg). L’adsorbimento di NP risulta significativo nel caso di utilizzo di granulometria  $< 124 \mu\text{m}$ . Nel caso di granulometria 1000-2000  $\mu\text{m}$ , solo per due concentrazioni (57 e 228  $\mu\text{g/l}$ ) tra le tre testate è stato riscontrato un adsorbimento significativo. Pertanto nella stima del coefficiente di distribuzione solido liquido “ $K_d$ ” (L/kg) non è stato tenuto conto del risultato anomalo riferito alla concentrazione iniziale 114  $\mu\text{g/l}$  (campioni 9-10). L’incertezza analitica, che influenza i valori di concentrazione iniziale e finale del NP in fase liquida (“ $C_0$ ” e “ $C_{w,eq,m}$ ”) non rappresenta l’unica fonte di errore nella stima di tale parametro. La stima del “ $K_d$ ” è influenzata anche dalle incertezze riferite alle pesate di biochar, correlate alla sensibilità della bilancia, ed alle volumetrie di soluzione contaminata immesse nelle bottiglie, correlate alla scala della vetreria utilizzata. La stima del valore sperimentale “ $K_{d \text{ best}}$ ” è riportata in Tabella 24. I valori delle incertezze dei diversi fattori per la stima dell’incertezza del coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $\delta K_d$ ” sono riportate in Tabella 25.

**Tabella 24: Stima di “ $K_{d \text{ best}}$ ”**

Campioni	“ $C_0$ ” ( $\mu\text{g/l}$ )	“ $C_{w,eq,m}$ ” ( $\mu\text{g/l}$ )	“ $M_{BC,m}$ ” (g)	“ $V$ ” (ml)	“ $K_{d \text{ best}}$ ” (l/kg)
1-2	114	77	0,00277	270	46171
3-4	114	82	0,00281	270	38940
5-6	114	80	0,00281	270	40909
7-8	57	40	0,00278	270	39902
11-12	228	170	0,00278	270	33152

Tabella 25: Stima dell'incertezza del coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $\delta K_d$ ”

Campioni	“ $\delta C_0$ ” ( $\mu\text{g/l}$ )	“ $\delta C_{w,eq, m}$ ” ( $\mu\text{g/l}$ )	“ $\delta M_{BC}$ ” (g)	“ $\delta V$ ” (ml)	“ $\delta K_d$ ” (l/kg)	“ $\delta K_d$ ” (%)
1-2	15	10	0,0005	0,5	27628	60
3-4	15	11	0,0005	0,5	26228	68
5-6	15	10	0,0005	0,5	26495	65
7-8	7	5	0,0005	0,5	26402	66
11-12	30	22	0,0005	0,5	24915	75

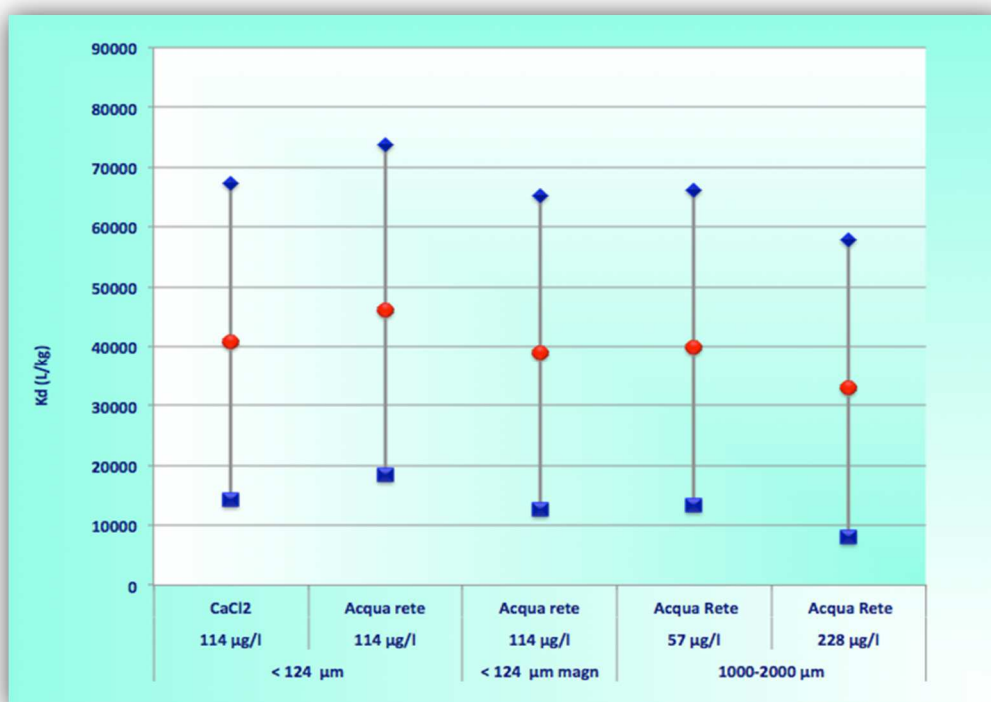


Figura 20: Coefficiente di distribuzione solido-liquido in funzione della tipologia di biochar testato, della concentrazione iniziale e della matrice liquida

Dai risultati riportati nelle Tabelle 24-25 ed in Figura 20, non emerge differenza significativa tra il coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $K_d$ ” (l/kg) delle due differenti granulometrie investigate,

alla luce degli elevati livelli di incertezza. Pertanto è stato stimato un “ $K_d$ ” (l/kg) unico per entrambe le granulometrie ricavato dalla media dei valori ottenuti pari a  $39815 \pm 26676$  L/kg.

I risultati della stima della capacità di adsorbimento in funzione della concentrazione testata sono riportati in Tabella 26.

**Tabella 26: Stima della capacità di adsorbimento del biochar**

Campioni	“ $C_{s\ best}$ ” (mg/kg)	“ $dC_s$ ” (mg/kg)
1-2	3555	1710
3-4	3173	1773
5-6	3273	1736
7-8	1612	868
11-12	5638	3610

La capacità di adsorbimento del biochar da parte del NP stimata dai test effettuati risulta superiore al range stimato da Yu et al. 2008 per un carbone attivo (300-1000 mg/kg), derivante da test di ripartizione con concentrazioni iniziali dell'ordine 0,1-1  $\mu\text{g/l}$ . La capacità di adsorbimento del biochar sperimentato risulta invece inferiore di un ordine di grandezza rispetto a quella emersa da studi di Liping et al. 2014 sull'adsorbimento del NP da parte del biochar (8000-55000 mg/kg), che hanno testato concentrazioni iniziali pari a 2000-4000  $\mu\text{g/l}$ . Tuttavia occorre precisare, come riportato da Yu et al. 2008, che le capacità di adsorbimento possono variare in funzione della concentrazione di contaminante e della specifica matrice solida investigata.



## **6) APPLICAZIONE DEL MODELLO SUL TRASFERIMENTO DEL NONILFENOLO DAL TERRENO A PIANTE DI LATTUGA**

### **6.1 Esperimenti di coltivazione**

#### **6.1.1 Materiali e metodi**

Per valutare l'effettivo trasferimento del NP (CAS nr. 104-40-5, Sigma-Aldrich) da terreno a vegetali sono stati effettuati esperimenti di coltivazione in serra di piante di lattuga. La scelta è ricaduta su tale vegetale per l'elevato consumo pro-capite mondiale. Con l'obiettivo di valutare il potenziale trattenimento del NP da parte del biochar, sono stati allestiti dei vasi contaminati con e senza biochar.

Gli esperimenti di coltivazione sono stati effettuati durante il periodo tardo primaverile tipico per la crescita del vegetale e prevedono tre set:

- Primo set di coltivazione: è stato testato il trasferimento del NP dal terreno di tipologia "A" a lattughe di tipologia "1";
- Secondo set di coltivazione: è stato testato il trasferimento del NP dal terreno di tipologia "B" a lattughe di tipologia "2";
- Terzo set di coltivazione: è stato testato il trasferimento del NP dal terreno di tipologia "B" arricchito con biochar a lattughe di tipologia "2";

Le caratteristiche delle due tipologie di suolo sono state riportate in Tabella 27. Di seguito è stato riportato un riassunto dell'allestimento delle prove di coltivazione e delle analisi dei campioni. Approfondimenti sulle prove di coltivazione riguardo l'allestimento ed il controllo delle serre utilizzate per la coltivazione, sono descritti negli elaborati di Zambotto e Piazza 2014.

La contaminazione del suolo è stata realizzata tramite miscelazione del NP con un fertilizzante commerciale (Concime Blu, Verde Vivo), per poi essere successivamente addizionato al terreno da coltivo. I vasi, previo riempimento, sono stati internamente ricoperti con un tessuto in cotone per evitare il contatto diretto del suolo con le pareti di plastica. L'apporto idrico è fornito da un serbatoio incorporato ai vasi che garantisce la regolazione autonoma della richiesta. Le specifiche di coltivazione come la data di trapianto e di raccolta delle piante, la durata della coltivazione, il numero di lattughe coltivate, la temperatura e l'umidità in serra sono riportate in Tabella 28.

Le analisi per quantificare la concentrazione di NP sono state effettuate sui terreni, al momento del trapianto e della raccolta delle lattughe, e sulle lattughe al momento della raccolta. Previa estrazione le lattughe sono state lavate con acqua deionizzata per rimuovere i residui di terra. Successivamente le foglie di lattuga e le terre con biochar sono state triturate in un mortaio per omogeneizzare il campione da analizzare. L' estrazione delle terre e delle lattughe (15 g) è stata realizzata in etil-acetato (25 ml, Sigma-Aldrich) disponendo i campioni in sonicatore ad ultrasuoni per tre cicli di durata pari a 15 minuti, post acidificazione con acido fosforico 50% v/v (1 ml, Sigma-Aldrich) ed essiccazione con Celite 545 (Sigma-Aldrich). La pulizia degli estratti è stata eseguita con metodo QuEChERS, utilizzando come carbone attivo Supel™ QuE PSA/C18/ENVI-Carb. Infine è stata realizzata una riduzione in volume dei campioni in azoto prima dell' analisi tramite Gas MS/MS: Gas Cromatografia (GC) con rivelazione a spettrometria di massa con Triplo-Quadrupolo (MS/MS) – operando in modalità MRM (Multi Reaction Monitoring).

**Tabella 27: Caratteristiche chimico-fisiche del suolo nei tre set di coltivazione (media ± deviazione standard di n replicati).**

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Primo set	Secondo set	Metodo analitico
Analisi granulometrica	-	Sabbia argillosa (n=5)	Sabbia argillosa (n=5)	ISO 11277:1998
Umidità iniziale	UM	17.3 ± 0.3 % (n=9)	20,2 ± 0.8 % (n=3)	ASTM D 2216-05
Densità apparente di terreno secco	$\rho_b$	1427 ± 78 kg s.s./m t.q. <sup>3</sup> (n=6)	1427 ± 78 kg s.s./m t.q. <sup>3</sup> (n=6)	Rapporto tra massa e volume di terreno secco contenuto in cilindro da 500 ml
Densità apparente di terreno umido	$\rho_t$	1669 ± 91 kg t.q./m t.q. <sup>3</sup> (n=6)	1715 ± 94 kg t.q./m t.q. <sup>3</sup> (n=6)	Calcolata a partire da ( $\rho_b$ ) e UM come: $\rho_t = \rho_b + \rho_b \cdot UM$
pH	pH	5.3 ± 0.5 (n=6)	-	ISO 10390:2005
Frazione di carbonio organico	foc	1.7 ± 0.08 % (n=6)	1.74 ± 0.02 % (n=3)	UNI EN 15169

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Primo set	Secondo set	Metodo analitico
Azoto totale	-	1 g/kg <sub>s.s.</sub> (n=3)	-	ISO 11261:1995
Ammoniaca	-	1.5 mg N/kg <sub>s.s.</sub> (n=3)	-	ISO 11261:1995
Azoto nitrico	-	2.0 mg N/kg <sub>s.s.</sub> (n=3)	-	ISO 11261:1995
Fosforo disponibile	-	32 mg P/kg <sub>s.s.</sub> (n=3)	-	ISO 11263:1994
Massa di suolo immessa nel vaso	-	103,7 kg t.q.	51,6 kg t.q.	-

Tabella 28: Modalità di coltivazione delle lattughe nelle annate 2014-2015,

Specifiche di coltivazione	Primo set	Secondo set	Terzo set
Tipologia di matrice solida sperimentata	Terreno contaminato e non contaminato da NP	Terreno contaminato da NP	Terreno contaminato da NP con biochar
Giorni trascorsi dal trapianto delle lattughe alla raccolta	51	40	40
Piante coltivate	8	5	5
Piante sopravvissute al periodo di coltivazione	5	5	5
Temperatura in serra	28 ± 6 °C	-	-
Umidità relative in serra	48 ± 15 %	-	-

### 6.1.2 Risultati delle prove di coltivazione

Dalle analisi dei campioni del primo set di coltivazione emerge come il terreno non contaminato presenti una concentrazione di NP di fondo e anche le piantine al momento del trapianto presentano livelli superiori al limite di rilevabilità (Tabella 29). Nella predetta tabella emerge come al momento della raccolta la concentrazione di NP nel vaso contaminato, sia notevolmente ridotta ( $514 \pm 457 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{d.w}}$ ) rispetto a quella misurata immediatamente dopo il trapianto ( $10 \text{ mg}/\text{kg}_{\text{d.w}}$  circa). Le lattughe cresciute nei vasi contaminati del primo anno presentano una significativa concentrazione di NP ( $174 \pm 49 \mu\text{g}/\text{kg}_{\text{f.w.}}$ ). Le rilevanti concentrazioni di NP nelle lattughe coltivate in vasi contaminati pongono in luce il verificarsi dei fenomeni del trasferimento del contaminante nei vegetali.

Anche nei vasi del secondo e del terzo set si verifica un notevole abbattimento della concentrazione di NP nel suolo, passando da concentrazioni circa pari a  $10 \text{ mg}/\text{kg}_{\text{d.w}}$  a centinaia di  $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{d.w}}$  (Tabella 29). L'elevata deviazione standard di questi risultati non consente di apprezzare un maggiore trattenimento del NP nel terreno arricchito con biochar. Il livello di NP nelle lattughe è quantificabile, però inferiore alle evidenze riscontrate nel primo anno: non emergono differenze significative tra le concentrazioni di NP nelle lattughe coltivate nel terreno senza biochar ( $13 \pm 3$ ) e, con biochar ( $26 \pm 8$ ).

**Tabella 29: Concentrazioni (media  $\pm$  dev. st) di NP e sottoprodotti nelle terre ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{d.w}}$ ) e nelle piante di lattuga ( $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{f.w.}}$ ) al momento del trapianto e della raccolta\_ Primo anno**

Tempo	Primo set		Secondo set		Terzo set	
	Suolo	Lattuga	Suolo	Lattuga	Suolo	Lattuga
Trapianto	$11033 \pm 258$	$60 \pm 12$	$9800 \pm 990$	$60 \pm 12$	$9700 \pm 1909$	$60 \pm 12$
Raccolta	$514 \pm 457$	$174 \pm 49$	$289 \pm 336$	$13 \pm 3$	$617 \pm 501$	$26 \pm 8$

## 6.2 Applicazione del modello di Legind et al. 2011 per il 4-nonilfenolo su piante di lattuga

### 6.2.1 Il sistema di equazioni differenziali del trasferimento del 4-nonilfenolo su piante di lattuga

Il modello di Legind et al. 2011 (§ 2.4), mira a descrivere l'andamento delle concentrazioni del contaminante oggetto di studio nei diversi comparti vegetali della pianta. Le caratteristiche chimico fisiche del contaminante in esame rappresentano pertanto dei parametri chiave nella scrittura delle equazioni differenziali di ciascun comparto. Il NP, come espresso nel (paragrafo 1.2), è un contaminante lipofilo non volatile e poco solubile. Questa considerazione porta a riscrivere le equazioni differenziali, trascurando i termini che indicano il fenomeno di volatilizzazione del NP in aria da suolo (Eq. 1), stelo (Eq. 3), foglie (Eq. 4) e frutti (Eq. 5). Nel comparto suolo (Eq. 1) è stato deciso di trascurare anche il fenomeno di percolazione del NP negli strati profondi del terreno, in quanto le prove di coltivazione della lattuga sono state effettuate in vasi riposti in serra, con regolazione autonoma dell'apporto idrico. Riportando le considerazioni sulla volatilizzazione e sulla percolazione negli strati profondi nella scrittura del sistema di equazioni differenziali si ottengono le Equazioni 19-23:

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left( \frac{Q_R K_{WS}}{M_S} + k_{deg} \right) C_S \quad \text{Eq. 19}$$

$$\frac{dC_R}{dt} = \frac{Q_R K_{WS}}{M_S} C_S - \left( \frac{Q_R}{M_R K_{RW}} + k_{g,R} + k_{m,R} \right) C_R \quad \text{Eq. 20}$$

$$\frac{dC_{St}}{dt} = \frac{Q_R}{M_{St} K_{RW}} C_R - \left( \frac{Q_R}{M_{St} K_{StW}} + k_{g,St} + k_{m,St} \right) C_{St} \quad \text{Eq. 21}$$

$$\frac{dC_L}{dt} = \frac{Q_L}{M_L K_{StW}} C_{St} - (k_{g,L} + k_{m,L}) C_L \quad \text{Eq. 22}$$

$$\frac{dC_F}{dt} = \frac{Q_F}{M_F K_{StW}} C_{St} - (k_{g,F} + k_{m,F}) C_F \quad \text{Eq. 23}$$

Applicando la simulazione di tale sistema a piante di lattuga, non è stato tenuto conto dei comparti dello stelo e dei frutti ipotizzando che il flusso di xilema passi direttamente dalle radici alle foglie. Lo schema che descrive il modello di trasferimento del NP da terreno a piante di lattuga presenta tre soli comparti come indicato in Figura 21:

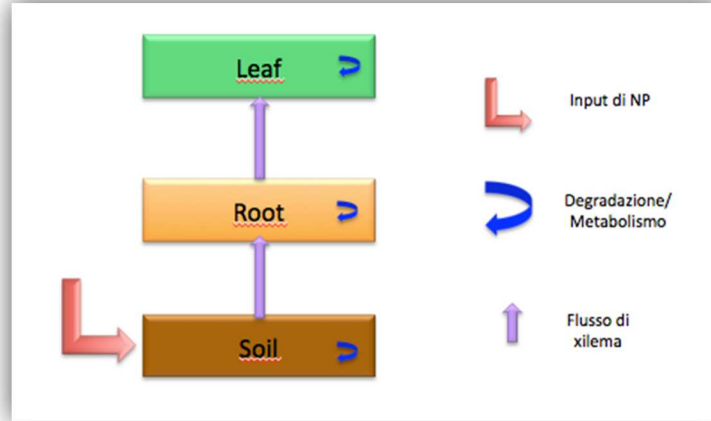


Figura 21: Schema dei compartimenti del modello di trasferimento del NP a piante di lattuga

Il sistema di equazioni differenziali definitivo che rappresenta il trasferimento del NP da terreno contaminato a radici e foglie di lattuga è espresso dalle Equazioni 24-26:

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left( \frac{Q_R K_{WS}}{M_S} + k_{deg} \right) C_S \quad \text{Eq. 24}$$

$$\frac{dC_R}{dt} = \frac{Q_R K_{WS}}{M_R} C_S - \left( \frac{Q_R}{M_R K_{RW}} + k_{g,R} + k_{m,R} \right) C_R \quad \text{Eq. 25}$$

$$\frac{dC_L}{dt} = \frac{Q_R}{M_L K_{RW}} C_R - (k_{g,L} + k_{m,L}) C_L \quad \text{Eq. 26}$$

Le masse del suolo ( $M_S$ ), delle radici ( $M_R$ ) e delle foglie ( $M_L$ ) in input al modello si riferiscono rispettivamente alla massa di suolo nei vasi e alle masse totali delle radici e delle foglie considerando tutte le piantine coltivate nei vasi.

### 6.2.2 Soluzione analitica del sistema di equazioni differenziali

Il modello di trasferimento del NP a piante di lattuga (Eq. 24-26) può essere riscritto come una matrice  $3 \times 3$  con il suolo corrispondente al comparto 1, le radici al 2 e le foglie al 3:

$$\begin{bmatrix} \frac{dC_S}{dt} \\ \frac{dC_R}{dt} \\ \frac{dC_L}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_1 & 0 & 0 \\ k_{12} & -k_2 & 0 \\ 0 & k_{23} & -k_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} C_S \\ C_R \\ C_L \end{bmatrix} \quad \text{Eq. 27}$$

dove :

- $k_1$ : il fattore che moltiplica  $C_s$  nell'Equazione 24  $\left(\frac{Q_R K_{WS}}{M_S} + k_{deg}\right)$ ;
- $k_{12}$ : il fattore che moltiplica  $C_s$  nell'Equazione 25  $\left(\frac{Q_R K_{WS}}{M_R}\right)$ ;
- $k_2$ : il fattore che moltiplica  $C_R$  nell'Equazione 25  $\left(\frac{Q_R}{M_R K_{RW}} + k_{g,R} + k_{m,R}\right)$ ;
- $k_{23}$ : il fattore che moltiplica  $C_R$  nell'Equazione 26  $\left(\frac{Q_R}{M_L K_{RW}}\right)$ ;
- $k_3$ : il fattore che moltiplica  $C_L$  nell'Equazione 26  $\left(k_{g,L} + k_{m,L}\right)$ .

Effettuando l'operazione di integrazione di ciascuna delle equazioni differenziali del primo ordine lineari appartenenti al sistema (Eq. 27), si ottengono le seguenti soluzioni analitiche (Eq. 28-30):

$$C_1(t) = C_1(0) \times e^{-k_1 t} \quad \text{Eq. 28}$$

$$C_2(t) = k_{12} C_1(0) \times \left( \frac{e^{-k_1 t}}{k_2 - k_1} + \frac{e^{-k_2 t}}{k_1 - k_2} \right) + C_2(0) \times e^{-k_2 t} \quad \text{Eq. 29}$$

$$C_3(t) = k_{12} k_{23} C_1(0) \times \left( \frac{e^{-k_1 t}}{(k_2 - k_1)(k_3 - k_1)} + \frac{e^{-k_2 t}}{(k_1 - k_2)(k_3 - k_2)} + \frac{e^{-k_3 t}}{(k_1 - k_3)(k_2 - k_3)} \right) \\ + k_{23} C_2(0) \times \left( \frac{e^{-k_2 t}}{k_3 - k_2} + \frac{e^{-k_3 t}}{k_2 - k_3} \right) + C_3(0) \times e^{-k_3 t} \quad \text{Eq. 30}$$

dove  $C_1(t)$ ,  $C_2(t)$ ,  $C_3(t)$  corrispondono rispettivamente alle concentrazioni di NP nel suolo “ $C_S(t)$ ”, nelle radici “ $C_R(t)$ ” e nelle foglie “ $C_L(t)$ ” in funzione del tempo e  $C_1(0)$ ,  $C_2(0)$ ,  $C_3(0)$  corrispondono rispettivamente alle concentrazioni nel suolo “ $C_S(0)$ ”, nelle radici “ $C_R(0)$ ” e nelle foglie “ $C_L(0)$ ”, al tempo iniziale. La concentrazione di NP assegnata nel suolo e nelle foglie al giorno 0 della simulazione “ $C_S(0)$ ”, “ $C_L(0)$ ” sono quelle derivanti dalle analisi dei campioni di terreno e delle lattughe al momento del trapianto, mentre i livelli di NP nelle radici “ $C_2(0)$ ” sono stati considerati nulli per la mancanza di dati disponibili. Conoscendo le condizioni iniziali di contaminazione, tramite i dati in input sar  possibile determinare le concentrazioni in tutti i comparti al passo 1. Le concentrazioni determinate al passo 1, rappresenteranno le condizioni iniziali di contaminazione al passo 2 e cos  via. Durante il periodo di coltivazione le piante di lattuga non hanno subito ulteriori input di contaminante, in quanto coltivate con acqua di rete, gi  analizzata, priva di NP.

## 6.3 Taratura del modello sul primo e sul secondo set di coltivazione

### 6.3.2 Metodo di taratura

Le concentrazioni nel suolo e nelle lattughe ricavati dalle analisi dei primi due set di coltivazione sono stati utilizzati per la taratura del modello specifica per ciascun set, nel coefficiente di degradazione del NP nel suolo “ $k_{deg}$ ” e nel tasso metabolico del NP nelle foglie di lattuga “ $k_{m,L}$ ”. In fase di taratura è stato ipotizzato che le radici non esercitino un’azione metabolica sul contenuto di NP ( $k_{m,R} = 0$ ), ma che il contaminante venga degradato interamente una volta trasferito nelle foglie di lattuga. Questa assunzione è dovuta alla mancanza di analisi sulle concentrazioni del NP nelle radici, che non permettono di tarare tale parametro.

La prima fase della taratura dei due parametri prevede la taratura del tasso di crescita esponenziale della pianta “ $k_{G,O}$ ” ( $d^{-1}$ ), specifico per ciascun set, funzione della massa al trapianto e alla raccolta delle lattughe coltivate. Lo sviluppo della pianta è espresso da una curva di crescita logistica (Trapp et al. 2010, Legind et al. 2011, Rein et al. 2011):

$$\frac{dM}{dt} = k_{G,O}M \left(1 - \frac{M}{M_{harvest}}\right) \quad \text{Eq. 31}$$

La massa delle piante in funzione del tempo può essere ottenuta integrando l’Equazione 31:

$$M(t) = \frac{M_{harvest}}{1 + \left(\frac{M_{harvest} - M_{initial}}{M_{initial}}\right) e^{-k_{G,O}t}} \quad \text{Eq. 32}$$

dove:

- $M$  (kg) la massa totale delle piante coltivate in funzione del tempo  $t$ ;
- $M_{harvest}$  ( $kg_{f.w.}^{-1}$ ) la massa totale delle piante al momento del raccolto;
- $M_{initial}$  ( $kg_{f.w.}^{-1}$ ) la massa totale iniziale delle piante.

Attraverso il risolutore di Excel è stato determinato il valore di “ $k_{G,O}$ ” che ottimizza la massa totale delle lattughe al termine della coltivazione. Successivamente, tramite “ $k_{G,O}$ ” è stato possibile determinare la massa dei vari comparti vegetali, il fenomeno di diluizione del contaminante dovuto alla crescita della pianta e il flusso di traspirazione ad ogni passo temporale, come descritto in seguito. Adottando la percentuale in peso delle radici nelle piante di lattuga (%r), (Sakamoto et al. 2015), sono state determinate le masse al trapianto e alla raccolta delle radici ( $M_{initial,R}$ ,  $M_{harvest,R}$ ) e delle foglie ( $M_{initial,L}$ ,  $M_{harvest,L}$ ):



$$M_{initial,R} = M_{initial} \cdot \frac{\%r}{100} \quad \text{Eq. 31}$$

$$M_{initial,L} = M_{initial} \cdot \left(1 - \frac{\%r}{100}\right) \quad \text{Eq. 34}$$

$$M_{harvest,R} = M_{harvest} \cdot \frac{\%r}{100} \quad \text{Eq. 35}$$

$$M_{harvest,L} = M_{harvest} \cdot \left(1 - \frac{\%r}{100}\right) \quad \text{Eq. 36}$$

A questo punto è possibile valutare la crescita di ciascun comparto vegetale nel tempo:

$$M_R(t) = \frac{M_{harvest,R}}{1 + \left(\frac{M_{harvest,R}}{M_{initial,R}} - 1\right) e^{-k_{G,O}t}} \quad \text{Eq. 37}$$

$$M_L(t) = \frac{M_{harvest,L}}{1 + \left(\frac{M_{harvest,L}}{M_{initial,L}} - 1\right) e^{-k_{G,O}t}} \quad \text{Eq. 38}$$

I tassi di diluizione delle concentrazioni di NP nelle radici  $k_{g,R}$  ( $d^{-1}$ ) e nelle foglie  $k_{g,L}$  ( $d^{-1}$ ) dipendono dalla crescita del comparto vegetale in questione e sono stati determinati secondo la seguente equazione (Legind et al. 2011; Rein et al. 2011):

$$k_{g,R,i} = \frac{\ln\left(\frac{M_{R,i+1}}{M_{R,i}}\right)}{\Delta t} \quad \text{Eq. 39}$$

$$k_{g,L,i} = \frac{\ln\left(\frac{M_{L,i+1}}{M_{L,i}}\right)}{\Delta t} \quad \text{Eq. 40}$$

dove:

- $k_{g,R,i}$  ( $d^{-1}$ ) è il tasso di diluizione al passo “i” nelle radici;
- $k_{g,L,i}$  ( $d^{-1}$ ) è il tasso di diluizione al passo “i” nelle foglie;
- $M_{R,i}$  (kg) è la massa delle radici al passo “i”;
- $M_{R,i+1}$  (kg) è la massa delle radici al passo “i+1”;
- $M_{L,i}$  (kg) è la massa delle foglie al passo “i”;
- $M_{L,i+1}$  (kg) è la massa delle foglie al passo “i+1”;
- $\Delta t$  (d) rappresenta la durata del passo temporale.

Il fenomeno di traspirazione della lattuga è correlato alla crescita della pianta tramite il coefficiente di traspirazione  $T_c$  (L/kg) (Eq. 41). Il flusso di traspirazione sarà funzione della massa dell’intera

pianta ad ogni passo temporale. Il valore del coefficiente di traspirazione è stato ricavato dalla tesi di dottorato di L.K Dodgen.

$$Q_R(t) = \frac{T_C(M_{i+1}-M_i)}{\Delta t} \quad \text{Eq. 41}$$

dove:

- $Q_R$  ( $L d^{-1}$ ) è il flusso d'acqua prelevato dalle radici nel suolo;
- $\Delta t$  (d) rappresenta il passo temporale;
- $M_i$  (kg) la massa della pianta al passo "i";
- $M_{i+1}$  (kg) la massa della pianta al passo "i+1".

La taratura dei due sistemi di coltivazione prosegue introducendo nella soluzione analitica dati in input al modello ricavati da analisi effettuate in laboratorio e studi di letteratura. I dati in questione, specifici per ciascun set di sperimentazione e riportati all'allegato E, sono rappresentati da:

- Le caratteristiche del terreno da coltivo, ipotizzate costanti durante tutto il periodo di coltivazione;
- Concentrazioni iniziali del NP al momento del trapianto nei vari comparti ( $C_S(0)$ ,  $C_L(0)$ );
- Gli indici che descrivono il comportamento del NP nel suolo, nelle radici e nelle foglie ( $K_{WS}$ ,  $K_{RW}$ ), ipotizzati costanti durante tutto il periodo di coltivazione;

Il fenomeno di interazione tra il NP ed il suolo entra in gioco nel modello tramite il coefficiente di distribuzione acqua-terreno  $K_{WS}$  ( $kg_{t.q.} L^{-1}$ ).  $K_{WS}$  è funzione delle caratteristiche del terreno, il suo valore è stato ricavato a partire dal bilancio di massa del NP nelle tre fasi del suolo come spiegato nell'Allegato E.

Nello studio di Legind et al. 2011, in cui si applica e si valida il modello di trasferimento per un insetticida in piante di peperoni,  $K_{RW}$  ( $L kg_{f.w.}^{-1}$ ) è stato determinato a partire dal coefficiente di distribuzione ottanolo-acqua del NP  $K_{OW}$  ( $L kg_{o.c.}^{-1}$ ), dal contenuto di lipidi  $L$  ( $kg_{lip} kg_{f.w.}^{-1}$ ) e di acqua  $W$  ( $kg_w kg_{f.w.}^{-1}$ ) delle radici delle piante di peperone, secondo l'Eq. 42:

$$K_{RW} = W + 1,22 \cdot L \cdot K_{OW}^{0,77} \quad \text{Eq. 42}$$

La suddetta equazione deriva da esperimenti di coltivazione idroponica di Briggs et al. 1982, in cui è stato stimato il fattore di concentrazione nelle radici (RCF "root concentration factor") di diversi contaminanti organici (0-methylcarbamoyl oximes e derivati della fenilurea) nelle piante di orzo.

Dallo studio emerge anche come il RCF, indice del rapporto tra la concentrazione del contaminante nelle radici e nella fase liquida contaminata, corrisponda al coefficiente di distribuzione del contaminante tra radici-acqua  $K_{RW}$  ( $L\ kg_{f.w.}^{-1}$ ). Poiché l'espressione del  $K_{RW}$  proposta da Briggs et al. 1982 deriva da esperimenti sull'orzo e da contaminanti diversi dal NP, è stato deciso di adottare come  $K_{RW}$  ( $L\ kg_{f.w.}^{-1}$ ) il RCF ottenuto da uno studio su trasferimento del NP di Doucette et al. 2005. Noti tutti i dati in input la taratura del modello nei due coefficienti " $k_{deg}$ " e " $k_{m,L}$ " nei due sistemi di coltivazione è stata effettuata minimizzando la somma dei quadrati degli scarti delle concentrazioni stimate dal modello dalle concentrazioni medie derivanti dalle analisi.

### 6.3.2 Risultati di taratura

Il tasso di crescita della pianta tarato su i due sistemi di coltivazione risulta per entrambi  $0,018\ d^{-1}$ . Pertanto la crescita della pianta ed il flusso di traspirazione del primo e del secondo set avranno identico andamento. Gli andamenti della massa della pianta e del flusso di traspirazione nel tempo sono riportati nelle Figure 22 a-b.

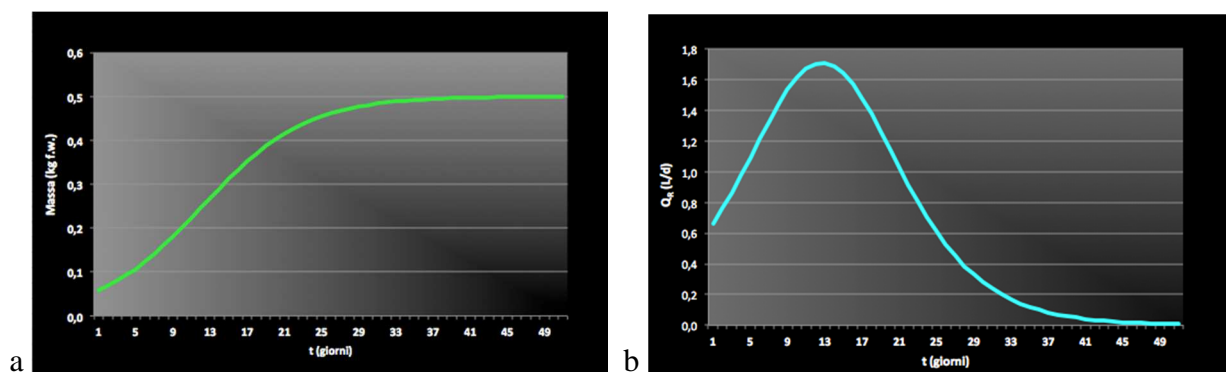


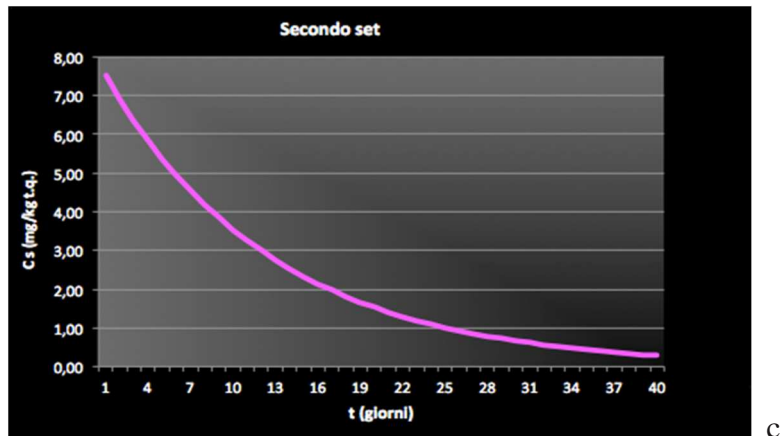
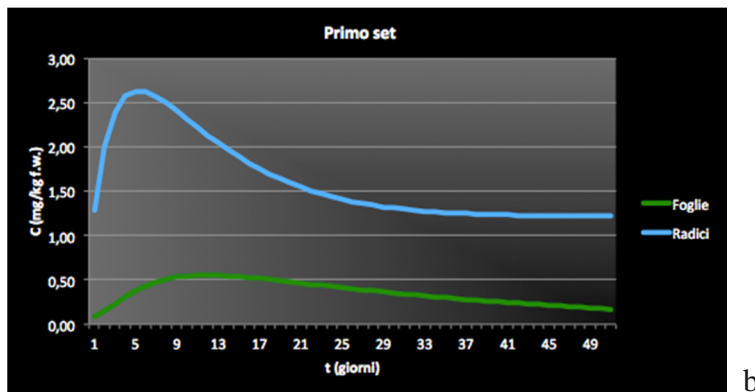
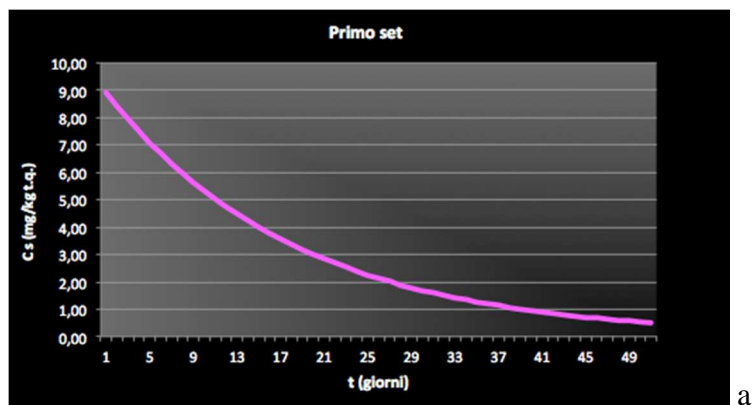
Figura 22: a. Sviluppo della massa vegetale nel tempo; b. Flusso di traspirazione.

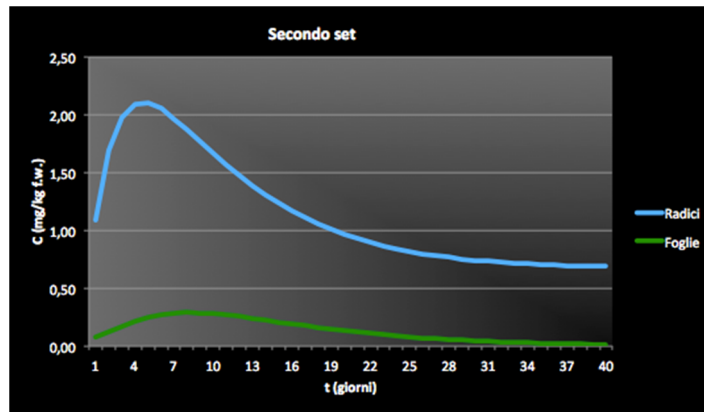
Il coefficienti " $k_{deg}$ " e " $k_{m,L}$ " per il primo e per il secondo set di coltivazione sono riportati in Tabella 30.

Tabella 30: “ $k_{deg}$ ” e “ $k_{m,L}$ ” tarati sul primo e sul secondo set di esperimenti

Primo set		Secondo set	
$k_{deg}$ ( $d^{-1}$ )	$k_{m,L}$ ( $d^{-1}$ )	$k_{deg}$ ( $d^{-1}$ )	$k_{m,L}$ ( $d^{-1}$ )
0,0574	0,035	0,0835	0,153

L'andamento delle concentrazioni del primo e del secondo set sono riportate nelle Figure 23a-23d.





d

Figura 23: Andamento delle concentrazioni di NP nel terreno, nelle radici e nelle foglie nei due set di coltivazione

L'andamento delle concentrazioni nei terreni rappresentato dal modello tarato raffigura una cinetica di primo ordine: la concentrazione di NP nel tempo diminuisce progressivamente. L'andamento delle concentrazioni di NP nelle radici e nelle foglie stimato dal modello aumenta inizialmente, raggiungendo il picco nella decade del periodo di coltivazione. Tale fenomeno è dovuto principalmente all'elevata concentrazione di NP nel terreno all'inizio del periodo di coltivazione. I bilanci di massa del NP nelle coltivazioni del primo anno e del secondo anno sono riportate in Figura 24 a-b.

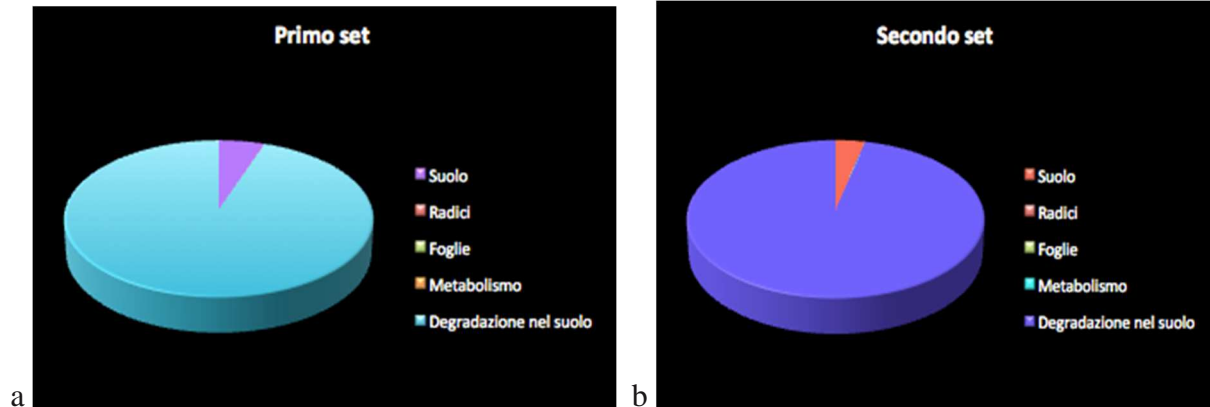


Figura 24: (a,b) Bilanci di massa del NP nei due set di taratura

Dai grafici emerge come la gran parte del NP, circa il 95% sia degradata per l'attività dei microrganismi presenti nel suolo. Circa il 5% persiste nel terreno; invece una piccola percentuale non visibile nel grafico si trasferisce nell'apparato fogliare (0,01% circa, residuo alla raccolta) e radicale (0,01% circa, residuo alla raccolta), mentre circa 0,02% della massa di contaminante iniziale viene degradata dall'attività metabolica della pianta. Queste basse percentuali sono sufficienti tuttavia ad individuare il contaminante presente nei comparti vegetali.

## 6.4 Validazione del modello

La validazione del modello è stata effettuata tramite l'applicazione dei parametri “ $k_{deg}$ ” e “ $k_{m,L}$ ” derivanti dalla taratura del secondo set di sperimentazione sul terzo set di sperimentazione che presenta la stessa tipologia di terreno e di lattuga. Il confronto tra concentrazioni stimate e concentrazioni misurate è stato possibile solo al momento della raccolta, poiché non disponibili campioni di lattuga e terreno durante il processo di coltivazione. L'implementazione riguardo lo sviluppo della pianta è stata effettuata con la medesima logica dei due set precedenti. Il calcolo del coefficiente di ripartizione acqua terreno  $K_{WS}$  ( $kg L^{-1}$ ) e i dati in input al modello sono stati riportati nell'Allegato E. Le concentrazioni stimate dal modello e derivanti dalle analisi sono riportate in Tabella 31.

**Tabella 31: Confronto tra concentrazioni stimate dal modello e derivanti dalle analisi del terzo set di sperimentazione**

Caratteristiche	Unità di misura	Modello	Analisi dei campioni (media $\pm$ deviazione standard)
$C_s$	$\mu g kg_{t.q.}^{-1}$	284	$617 \pm 501$ (n=3)
$C_L$	$\mu g kg_{f.w.}^{-1}$	11	$26 \pm 9$ (n=3)

I risultati riportati in Tabella 31 portano a ritenere il modello validato poiché, a causa dell'elevata incertezza analitica, la differenza tra le concentrazioni stimate e misurate non è significativa. Questa considerazione è stata effettuata tenuto anche conto degli elevati livelli di contaminazione iniziale del terreno (circa pari a  $9000 \mu g kg_{t.q.}^{-1}$ ).

Dal confronto delle concentrazioni stimate dal modello e dalle analisi effettuate sulle lattughe coltivate con e senza biochar non è possibile apprezzare benefici in termini di riduzione dei livelli di contaminante. I quantitativi di biochar aggiunti al terreno da coltivo in fase di sperimentazione, intorno al 5, corrispondono al rapporto percentuale in volume tra biochar e terreno generalmente utilizzato in agricoltura. Tale quantitativo, sebbene apporti benefici al terreno in ambito agricolo, non ha evidenziato un'azione di trattenimento sul NP apprezzabile dal punto di vista sperimentale e modellistico.

## 6.5 Applicazioni previsionali

Dai valori di concentrazione stimati dal modello sul secondo e sul terzo set di sperimentazione, non è stato possibile apprezzare una limitazione del trasferimento del NP a lattughe coltivate su terreni contaminati (Tabella 32).

Tabella 32: Concentrazioni di NP nelle lattughe stimate dal modello per il secondo (senza biochar) e terzo set (con biochar)

Secondo set	Terzo set
$C_L$ ( $\mu\text{g kg}_{f.w.}^{-1}$ )	$C_L$ ( $\mu\text{g kg}_{f.w.}^{-1}$ )
13	11

Pertanto, il modello disponibile è stato utilizzato a scopo previsionale per valutare il rapporto percentuale in volume tra biochar e terreno da adottare per ottenere un abbattimento apprezzabile della concentrazione nelle foglie sia sul primo set di dati sia sul secondo set di dati. Nelle Figure 25-26 sono state rappresentate le concentrazioni nelle foglie previste dal modello in funzione delle percentuali in volume biochar-terreno.

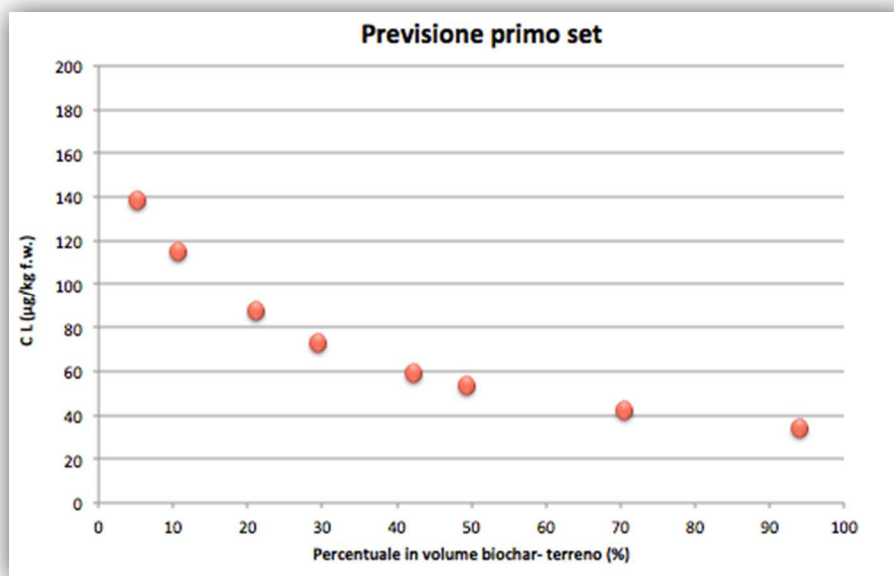


Figura 25: Concentrazione di NP attesa alla raccolta in funzione del quantitativo di biochar in terreno (set 1)

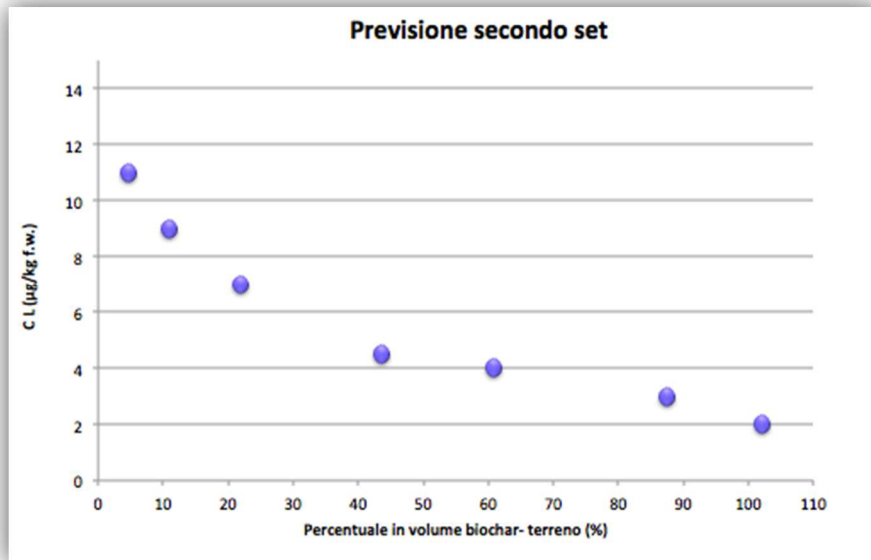


Figura 26: Concentrazione di NP attesa alla raccolta in funzione del quantitativo di biochar in terreno (set 2)

La riduzione della concentrazione prevista nella lattuga è apprezzabile solo nel primo set di coltivazione in cui i livelli di contaminante nel vegetale sono più elevati (Fig. 25-26). Dalla Figura 25 emerge come la riduzione della concentrazione di NP prevista dal modello risulti significativa ad elevate percentuali in volume di biochar-terreno (70-90%). Tali percentuali sono nettamente superiori a quelle utilizzate a scopo agricolo circa pari al 5%.

Da tali previsioni emerge come l'effetto del biochar sulla concentrazione finale nelle foglie di lattuga sia apprezzabile solo in caso di elevato trasferimento terreno-vegetale e persistenza del NP nelle piante di lattuga. Poiché per ottenere un trattenimento significativo è necessario adottare percentuali in volume biochar terreno molto elevate, a livello applicativo la scelta di arricchire il terreno con biochar non risulta idonea ai fini di limitare il trasferimento del NP alla lattuga coltivata su terreni inquinati.





## CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

Dai risultati dei test di ripartizione, non emerge differenza significativa tra il coefficiente di distribuzione solido-liquido “ $K_d$ ” (l/kg) delle due differenti granulometrie di biochar investigate e delle tipologie testate (non magnetico e magnetico). A partire da questa considerazione è stato ottenuto un “ $K_d$ ” unico per entrambe le granulometrie, pari a  $39815 \pm 26676$  L/kg.

La stima del “ $K_d$ ” è stata altresì finalizzata a valutare l’influenza del biochar sul trasferimento del NP in terreno a piante di lattuga mediante applicazione del modello di Legind et al. 2011. Dalle concentrazioni stimate dal modello e dalle analisi effettuate sulle lattughe non è possibile apprezzare benefici in termini di riduzione dei livelli di contaminante negli stessi. I quantitativi di biochar aggiunti al terreno da coltivo in fase di sperimentazione corrispondono al rapporto percentuale tra biochar e terreno utilizzato in agricoltura, intorno al 5% v./v.. Tale quantitativo, sebbene apporti benefici al terreno in ambito agricolo, non ha evidenziato un’azione di trattenimento sul NP apprezzabile dal punto di vista sperimentale e modellistico.

In ottica previsionale, il modello disponibile è stato utilizzato per valutare il rapporto percentuale in volume tra biochar e terreno da adottare per ottenere un abbattimento apprezzabile della concentrazione nelle foglie, sia sul primo set di dati sia sul secondo. Da tali previsioni emerge che per ottenere un trattenimento significativo è necessario adottare percentuali in volume biochar terreno molto più elevate (70-90%) rispetto a quelle adottate in agricoltura. Pertanto, a livello applicativo, la scelta di arricchire il terreno con biochar non risulta idonea ai fini di limitare il trasferimento del NP alla lattuga coltivata su terreni inquinati.

Sviluppi futuri su prove di ripartizione e, sul trasferimento di NP da terreno a vegetali in ambito modellistico, potrebbero essere rappresentati da:

- Prove di ripartizione con rapporto solido-liquido in percentuale maggiore dello 0,001%: aumentando il dosaggio di biochar si potrebbe apprezzare in maniera significativa l’adsorbimento del NP da parte del biochar;
- Elaborazione di isoterme di adsorbimento del NP su biochar per studiare la variazione della capacità di adsorbimento in funzione della concentrazione del contaminante in fase liquida ai livelli di NP presenti negli effluenti da trattamento delle acque reflue;
- Validazione del modello su più campioni di terreno, radici e lattughe: l’andamento delle concentrazioni nei comparti vegetali espresso dal modello presenta un picco di contaminante durante la prima decade del periodo di coltivazione; sarebbe pertanto interessante analizzarne l’evoluzione sia nelle radici che nelle foglie, campionando i vegetali durante l’intero periodo

di coltivazione. Tale monitoraggio consentirebbe una validazione completa delle costanti metaboliche del NP nelle radici " $k_{m,R}$ " e nelle foglie " $k_{m,L}$ ", e della costante di degradazione del NP nel suolo " $k_{deg}$ ".



## **ALLEGATO A: MAGNETIZZAZIONE DEL BIOCHAR**

La preparazione del biochar magnetico è stata eseguita secondo la procedura di Han et al. 2014, di seguito brevemente descritta.

5 g di biochar con granulometria  $< 124 \mu\text{m}$ , 3,66 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 6,66 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  sono stati miscelati in un becker di vetro da 500 ml con 100 ml di acqua deionizzata. Successivamente tramite un'ancoretta ed una piastra magnetica la miscela è stata riscaldata a  $65^\circ\text{C}$ . Raggiunta la temperatura, si è spenta la fonte di calore, mantenendo in agitazione la soluzione attenendo il raffreddamento sino a  $40^\circ\text{C}$ . Il passaggio successivo consiste nella basificazione della miscela: dosando in gocce una soluzione 5 M di NaOH il pH è stato portato in un range tra 10-11. Dopo aver mantenuto in miscelazione la miscela basica per 1 h, il becker è stato ricoperto con film di pellicola e lasciato sotto cappa per almeno 12 h, affinché la fase solida possa sedimentare.

Il giorno successivo il surnatante all'interno del becker è stato rimosso tramite micropipetta; il biochar è stato trasferito su filtro da caffè e risciacquato prima con acqua deionizzata e successivamente con etanolo. Terminato il risciacquo il biochar sul filtro è stato trasferito in una capsula di alluminio ed essiccato in stufa ad  $80^\circ\text{C}$  per 12 h. Il biochar è stato quindi trasferito in un becker da 500 ml con aggiunta di 200 ml di acqua deionizzata; la finalità è il recupero tramite barra magnetica della frazione effettivamente magnetizzata.

## ALLEGATO B: RISULTATI PROVE DI CARATTERIZZAZIONE DEL BIOCHAR

### B.1 Umidità

Tabella 33: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione <124 µm)

Capsule condizionate[g]	Capsule condizionate più biochar tal quale [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 105°C [g]	Umidità [% g <sub>w</sub> /g s.s.]
4,11	5,11	5,03	8,90
4,46	5,46	5,37	8,80
4,55	5,54	5,46	8,58

Tabella 34: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione 1000-2000 µm)

Capsule condizionate [g]	Capsule condizionate più biochar tal quale [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 105°C [g]	Umidità [% g <sub>w</sub> /g s.s.]
4,55	5,55	5,48	6,70
4,51	5,51	5,45	6,79
4,46	5,46	5,40	6,69

**Tabella 35: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (biochar t.q)**

Capsule condizionate [g]	Capsule condizionate più biochar tal quale [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 40°C [g]	Umidità % [g <sub>w</sub> /g s.s.]
66,79	67,79	67,75	4,39
65,35	66,36	66,32	4,22
73,05	74,06	74,01	4,30

Le analisi dell'approfondimento del contenuto di umidità del biochar di frazione < 124 µm secondo le linee guida dell'European Biochar Certificate (DIN 51718) sono riassunti nelle Tabelle 36-37.

**Tabella 36: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 40°C (frazione <124 µm)**

Capsule condizionate	Capsule condizionate più biochar tal quale [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 40°C [g]	Raw water Umidità [% g <sub>w</sub> /g s.s.]
66,184	67,32	67,27	4,62
65,342	66,39	66,35	4,48
73,645	74,65	74,61	4,56

**Tabella 37: Contenuto di umidità dopo 24 ore a 105°C (frazione <124 µm)**

Capsule condizionate [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 40°C [g]	Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 105°C [g]	Umidità igroscopica [% g <sub>w</sub> /g s.s.]
66,18	67,27	67,24	1,82
65,34	66,35	66,33	1,79
73,65	74,61	74,59	1,66

## B.2 Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico

Tabella 38: Contenuto di volatili e frazione di carbonio organico del biochar (frazione <124 µm)

Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 105°C [g]	Biochar e capsula post muffola (550 °C per 2 h) [g]	Massa di solidi volatili [g]	% Volatili	% foc
49,36	48,45	0,91	91,7%	49,4
48,78	47,86	0,92	92,6%	48,8

## B.3 Contenuto di ceneri

Tabella 39: Contenuto di ceneri del biochar (frazione <124 µm)

Biochar e capsula post essiccazione 24 ore a 105°C [g]	Biochar e capsula post muffola (6 h a 750°C) [g]	% Ceneri
49,36	48,44	1,1
48,78	47,85	1,5



## B.4 Densità apparente

Tabella 40: Densità apparente di biochar (frazione <124 µm)

Volumetria cilindro (ml)	Tara (g)	Volume campione (ml)	Lordo (g)	Densità (kg/m <sup>3</sup> )
50	82,23	25	88,51	251,20
50	82,23	25	88,58	254,00
50	82,23	25	88,82	253,46

Tabella 41: Densità apparente di biochar (frazione 1000-2000 µm)

Volumetria cilindro (ml)	Tara (g)	Volume campione (ml)	Lordo (g)	Densità (kg/m <sup>3</sup> )
25	82,22	30	86,23	133,67
25	82,22	30	86,2	132,67
25	82,22	30	86,15	131,00

Tabella 42: Densità apparente di biochar tal quale

Volumetria cilindro (ml)	Tara (g)	Volume campione (ml)	Lordo (g)	Densità (kg/m <sup>3</sup> )
250	98,65	150	120,09	142,93
250	98,65	150	120,09	142,93
250	98,65	150	120,16	143,40

## B.5 pH

I valori registrati dall'elettrodo del pH-metro sono riassunti in Tabella 43. Per la frazione <124  $\mu\text{m}$  le prove 1-3 sono state effettuate in soluzione 0,01 M  $\text{CaCl}_2$ , le prove 4-6 in acqua deionizzata. La misurazione è stata registrata con una temperatura in laboratorio pari a 23°C.

Tabella 43: pH biochar (frazione <124  $\mu\text{m}$ )

Prova	pH
1	7,56
2	7,59
3	7,56
4	8,26
5	8,3
6	8,35

## ALLEGATO C: PROCESSAMENTO DEL CAMPIONE

Le analisi dei campioni filtrati e non filtrati sono riportati in Tabella 44.

**Tabella 44: Analisi della concentrazione di NP in fase liquida per valutazione dell'effetto della filtrazione sul trattamento del contaminante**

Concentrazione iniziale in fase liquida ( $\mu\text{g/l}$ )	Tipologia campione	Concentrazione finale in fase liquida ( $\mu\text{g/l}$ )
57	filtrato	60
57	filtrato	50
57	non filtrato	58
57	non filtrato	53

In Tabella 45 sono riportati i dati per il calcolo dell'incertezza analitica.

**Tabella 45: Dati utilizzati per la stima dell'incertezza**

Prove	Concentrazione attesa ( $\mu\text{g/l}$ )	Concentrazione misurata ( $\mu\text{g/l}$ )	Incetzza di misura (%)
A	11,4	9,7	15
B	11,4	8,6	25
C	11,4	10,6	7
D	11,4	10,1	11
E	57	60	5
F	57	50	12
G	57	58	2
H	57	53	7

<b>Prove</b>	<b>Concentrazione attesa (ug/l)</b>	<b>Concentrazione misurata (ug/l)</b>	<b>Incertezza di misura (%)</b>
I	57	67	18
L	57	62	9
M	114	128	12
N	114	153	34
O	114	102	11
P	114	104	9
Q	114	131	15
R	114	127	11
S	114	124	9
T	114	137	20
U	228	268	18

## ALLEGATO D: STIMA DELL'INCERTEZZA

La determinazione dell'incertezza “ $\delta K_d$ ” è stata calcolata attraverso la regola di propagazione dell'incertezza in una funzione di più variabili e risulta:

$$\delta K_d = \sqrt{\left(\frac{\partial K_d}{\partial C_0} \delta C_0\right)^2 + \left(\frac{\partial K_d}{\partial C_{w,eq}} \delta C_{w,eq}\right)^2 + \left(\frac{\partial K_d}{\partial V} \delta V\right)^2 + \left(\frac{\partial K_d}{\partial M_{BC}} \delta M_{BC}\right)^2} \quad \text{Eq. 43}$$

dove:

- “ $\delta C_0$ ” è l'incertezza legata alla quantificazione della concentrazione iniziale di NP in fase liquida;
- “ $\delta C_{w,eq}$ ” è l'incertezza legata alla quantificazione della concentrazione finale di NP in fase liquida;
- “ $\delta V$ ” è l'incertezza legata alla misura del volume di fase liquida immesso in ciascuna bottiglia;
- “ $\delta M_{BC}$ ” è l'incertezza legata alla misura della massa di biochar immessa in ciascuna bottiglia;
- $\frac{\partial K_d}{\partial C_0}$  rappresenta la derivata parziale del “ $K_{d \text{ best}}$ ” (Eq. 16; § 5.3) rispetto a “ $C_0$ ”;
- $\frac{\partial K_d}{\partial C_{w,eq}}$  rappresenta la derivata parziale del “ $K_{d \text{ best}}$ ” (Eq. 16; § 5.3) rispetto a “ $C_{w,eq}$ ”;
- $\frac{\partial K_d}{\partial V}$  rappresenta la derivata parziale del “ $K_{d \text{ best}}$ ” (Eq. 16; § 5.3) rispetto a “ $V$ ”;
- $\frac{\partial K_d}{\partial M_{BC}}$  rappresenta la derivata parziale del “ $K_{d \text{ best}}$ ” (Eq. 16; § 5.3) rispetto a “ $M_{BC}$ ”.

L'incertezza della capacità di adsorbimento del NP da parte del biochar “ $\delta C_s$ ” è stata ricavata applicando la legge di propagazione dell'incertezza come effettuato per la stima del “ $C_s$ ”.

$$\delta C_s = \sqrt{\left(\frac{\partial C_s}{\partial C_0} \delta C_0\right)^2 + \left(\frac{\partial C_s}{\partial C_{w,eq}} \delta C_{w,eq}\right)^2 + \left(\frac{\partial C_s}{\partial V} \delta V\right)^2 + \left(\frac{\partial C_s}{\partial M_{BC}} \delta M_{BC}\right)^2} \quad \text{Eq.44}$$

dove:

- “ $\delta C_0$ ” è l'incertezza legata alla quantificazione della concentrazione iniziale di NP in fase liquida;

- “ $\delta C_{w,eq}$ ” è l’incertezza legata alla quantificazione della concentrazione finale di NP in fase liquida;
- “ $\delta V$ ” è l’incertezza legata alla misura del volume di fase liquida immesso in ciascuna bottiglia;
- “ $\delta M_{BC}$ ” è l’incertezza legata alla misura della massa di biochar immessa in ciascuna bottiglia;
- $\frac{\partial C_s}{\partial C_0}$  rappresenta la derivata parziale del “ $C_s$ ” (Eq. 18; § 5.3) rispetto a “ $C_0$ ”;
- $\frac{\partial C_s}{\partial C_{w,eq}}$  rappresenta la derivata parziale del “ $C_s$ ” (Eq. 18; § 5.3) rispetto a “ $C_{w,eq}$ ”;
- $\frac{\partial C_s}{\partial V}$  rappresenta la derivata parziale del “ $C_s$ ” (Eq. 18; § 5.3) rispetto a “ $V$ ”;
- $\frac{\partial C_s}{\partial M_{BC}}$  rappresenta la derivata parziale del “ $C_s$ ” (Eq. 18; § 5.3) rispetto a “ $M_{BC}$ ”.

## ALLEGATO E: TARATURA E VALIDAZIONE DEL MODELLO

### E.1 Calcolo del $K_{WS}$

Il coefficiente di distribuzione acqua-suolo del contaminante  $K_{WS}$  ( $\text{kg}_{t.q.} \text{L}^{-1}$ ) è stato stimato a partire dall'equilibrio chimico del NP nel suolo, inteso come insieme di tutte e tre le fasi (solida, liquida e gassosa):

$$K_{WS} = \frac{C_w}{C_T} \quad \text{Eq. 45}$$

dove:

- $C_T$  ( $\text{mg}/\text{kg}_{t.q.}$ ) è la concentrazione di contaminante nel suolo tal quale;
- $C_w$  ( $\text{mg}/\text{L}$ ) è la concentrazione di contaminante nella fase acquosa del suolo.

Esprimendo la concentrazione di NP nel suolo “ $C_T$  ( $\text{mg}/\text{kg}_{t.q.}$ )”, attraverso il bilancio di massa del contaminante nelle tre fasi si ottiene:

$$C_T = \frac{K_d \cdot \rho_b \cdot C_w + UM \cdot \frac{\rho_b}{\rho_w} C_w + (f - UM \frac{\rho_b}{\rho_w}) \cdot K_{AW} \cdot C_w}{\rho_t} \quad \text{Eq. 46}$$

dove:

- $\rho_t$  ( $\text{kg}_{t.q.}/\text{m}_{t.q.}^3$ ) è la densità apparente di terreno umido;
- $\rho_b$  ( $\text{kg}_{s.s.}/\text{m}_{t.q.}^3$ ) è la densità apparente di terreno secco;
- $K_d$  ( $\text{L kg}_{s.s.}^{-1}$ ) è il coefficiente di ripartizione matrice solida-acqua del NP
- $UM$  ( $\text{kg}_w/\text{kg}_{s.s.}$ ) è l'umidità iniziale del suolo;
- $\rho_w$  ( $\text{kg}_w/\text{m}_w^3$ ) è la densità dell'acqua;
- $f$  ( $\text{m}^3/\text{m}_{t.q.}^3$ ) è la porosità del terreno;
- $K_{AW}$  ( $\text{L}_w/\text{m}_{air}^{-3}$ ) è il coefficiente di ripartizione aria-acqua del NP;

Sostituendo l'espressione di  $C_T$  nell'Equazione 45, si esprime il coefficiente di distribuzione acqua-terreno  $K_{WS}$  ( $\text{kg}_{t.q.} \text{L}^{-1}$ ) in funzione delle caratteristiche chimico fisiche del NP:

$$K_{WS} = \frac{C_w}{\frac{K_d \cdot \rho_b \cdot C_w + UM \cdot \frac{\rho_b}{\rho_w} C_w + (f - UM \frac{\rho_b}{\rho_w}) \cdot K_{AW} \cdot C_w}{\rho_t}} \quad \text{Eq. 47}$$

Sebbene l'umidità del terreno non si mantenga costante nel tempo, è stato considerato il valore costante e pari all'umidità iniziale del suolo per tutta la durata dell'implementazione, in quanto il peso della variazione di tale parametro sul coefficiente di ripartizione acqua-suolo è pressoché trascurabile. Semplificando la concentrazione in fase liquida al numeratore ed al denominatore dell'Eq. 47 si ottiene l'espressione del coefficiente di distribuzione acqua-suolo del NP (Eq. 48).

$$K_{WS} = \frac{\rho_t}{K_d \cdot \rho_b + UM \cdot \frac{\rho_b}{\rho_w} + (f - UM \frac{\rho_b}{\rho_w}) \cdot K_{AW}} \quad \text{Eq. 48}$$

dove il coefficiente  $K_{AW}$  ( $L_w / m_{air}^{-3}$ ) è stato ricavato da:

$$K_{AW} = \frac{H \cdot 1000}{RT} \quad \text{Eq. 49}$$

in cui:

- H è la costante di Henry a 25°C ( $Pa \cdot m_w^3 / mol$ );
- R è la costante universale dei gas ( $8,314 Pa \cdot m_{air}^3 / mol$ );
- T è la temperatura riferita alla costante di Henry (298 K);
- 1000 ( $L \cdot m^{-3}$ ) è il fattore di conversione dei metri cubi di acqua in litri.

Il coefficiente di distribuzione matrice solida-acqua  $K_d$  ( $L \cdot kg_{s.s.}^{-1}$ ) è stato ricavato dal prodotto tra la frazione di carbonio organico nella fase solida del suolo  $f_{oc}$  ( $kg_{o.c.} / kg_{s.s.}$ ) e il coefficiente di ripartizione carbonio organico-acqua del NP  $K_{OC}$  ( $L \cdot kg_{o.c.}^{-1}$ ):

$$K_d = K_{oc} \cdot f_{oc} \quad \text{Eq. 50}$$

Il valore di  $K_{WS}$  ( $kg_{t.q.} \cdot L^{-1}$ ) dipende dal tipo di matrice solida su cui si vuole implementare il modello in funzione delle grandezze UM ( $kg_w / kg_{s.s.}$ ),  $\rho_t$  ( $kg_{t.q.} / m_{t.q.}^3$ ),  $\rho_b$  ( $kg_{s.s.} / m_{t.q.}^3$ ) e  $K_d$  ( $L \cdot kg_{s.s.}^{-1}$ ). Tali caratteristiche sono specifiche per la tipologia di matrice suolo in esame. Per il primo ed il secondo set di sperimentazione,  $K_{WS}$  ( $kg_{t.q.} \cdot L^{-1}$ ) è stato calcolato a partire dai valori di UM,  $\rho_t$  e  $\rho_b$  determinati da prove di caratterizzazione dei terreni, invece  $K_d$  è stato determinato tramite l'Equazione 50, noto il coefficiente di ripartizione carbonio organico-acqua del NP  $K_{OC}$  e la frazione di carbonio del terreno in esame. Per il terzo set di sperimentazione, essendo in presenza di terreno con biochar, è stato necessario definire: l'umidità iniziale ( $UM_{mix}$ ), la densità apparente di terreno secco ( $\rho_{b \text{ mix}}$ ) e umido



( $\rho_{t\text{ mix}}$ ) della miscela, determinate da medie pesate di tali caratteristiche riferite al terreno e al biochar. Le caratteristiche dei terreni di ciascun set di sperimentazione sono state riportate in Allegato E, § E.1, § E.2. Le espressioni per il calcolo di  $UM_{\text{mix}}$ ,  $\rho_{b\text{ mix}}$  e  $\rho_{t\text{ mix}}$  sono le seguenti:

$$UM_{\text{mix}} = \frac{UM_{\text{soil}} \cdot M_{\text{soil}} + UM_{\text{BC}} \cdot M_{\text{BC}}}{(M_{\text{soil}} + M_{\text{BC}})} \quad \text{Eq. 51}$$

$$\rho_{t\text{ mix}} = \frac{\rho_{t\text{ soil}} \cdot M_{\text{soil}} + \rho_{t\text{ BC}} \cdot M_{\text{BC}}}{M_{\text{soil}} + M_{\text{BC}}} \quad \text{Eq. 52}$$

$$\rho_{b\text{ mix}} = \frac{\rho_{b\text{ soil}} \cdot M_{\text{soil}} + \rho_{b\text{ BC}} \cdot M_{\text{BC}}}{M_{\text{soil}} + M_{\text{BC}}} \quad \text{Eq. 53}$$

dove:

- $\rho_{t\text{ soil}}$  (kg t.q./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di terreno umido del secondo anno;
- $\rho_{t\text{ BC}}$  (kg t.q./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di biochar umido;
- $\rho_{t\text{ mix}}$  (kg t.q./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di terreno più biochar umido;
- $\rho_{b\text{ soil}}$  (kg s.s./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di terreno secco del secondo anno;
- $\rho_{b\text{ BC}}$  (kg s.s./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di biochar secco;
- $\rho_{b\text{ mix}}$  (kg s.s./m t.q.<sup>3</sup>) è la densità apparente di terreno più biochar secco;
- $UM_{\text{soil}}$  (kg w./kg s.s.) è la frazione di carbonio nella fase solida del suolo;
- $UM_{\text{BC}}$  (kg w./kg s.s.) è la frazione di carbonio nella fase solida del biochar;
- $UM_{\text{mix}}$  (kg w./kg s.s.) è la frazione di carbonio nella fase solida del suolo più biochar;
- $M_{\text{soil}}$  (kg t.q.) è la massa di suolo tal quale nel vaso;
- $M_{\text{BC}}$  (kg t.q.) è la massa di biochar tal quale nel vaso.

Il coefficiente di ripartizione  $K_d$  della miscela di suolo con biochar è stato determinato dalla media pesata sulla massa di terreno e di biochar, del  $K_d$  del terreno e del  $K_{d\text{ BC}}$  biochar risultante dalle prove di ripartizione tra NP e biochar:

$$K_{d\text{ mix}} = \frac{K_{oc} \cdot f_{oc} \cdot M_s + K_{d\text{ BC}} \cdot M_{\text{BC}}}{M_s + M_{\text{BC}}} \quad \text{Eq.54}$$

## E.2 Dati in input per taratura del modello

Tabella 46: Caratteristiche chimico fisiche del NP

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Valore	Riferimnto bibliografico
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua	$\log K_{ow}$	-	4,48	EC 2011
Coefficiente di ripartizione carbonio organico-acqua	$K_{oc}$	$L\ kg^{-1}$	38900	Ying et al. 2003
Costante di Henry a 25°C	H	$Pa\ m^3\ mol^{-1}$	11	EC 2011
Coefficiente di ripartizione aria-acqua	$K_{AW}$	$L\ m^{-3}$	4,4	-
Coefficiente di ripartizione radici-acqua	$K_{RW}$	$L\ kg_{f.w.}^{-1}$	326	Doucette et al. 2005

Tabella 47: Caratteristiche chimico fisiche delle diverse matrici solide e rispettivi coefficienti di ripartizione acqua-terreno.

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Primo set	Secondo set
Frazione di carbonio organico	$f_{oc}$	g/g	0,017	0,0174
Densità apparente di biochar secco	$\rho_b$	$kg_{s.s.}/m^3$	1427	1427
Densità apparente di biochar umido	$\rho_t$	$kg_{t,q}/m^3$	1669	1715
Umidità iniziale	UM	$kg_w/ kg_{s.s.}$	0,173	0,202

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Primo set	Secondo set
Porosità	f	m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup>	0,35	0,35
Massa di suolo immessa nel vaso	M <sub>S</sub>	kg <sub>t.q.</sub>	103,2	51,6
Coefficiente di ripartizione acqua-terreno	K <sub>ws</sub>	kg <sub>t.q.</sub> L <sup>-1</sup>	0,00179	0,00178
Concentrazione iniziale nel suolo	C <sub>s(0)</sub>	µg kg <sub>t.q.</sub> <sup>-1</sup>	9430	8153
Concentrazione iniziale nelle foglie	C <sub>L(0)</sub>	µg kg <sub>t.q.</sub> <sup>-1</sup>	60	60

**Tabella 48: Caratteristiche delle piante di lattuga**

Caratteristiche	Simbolo	Unità di misura	Primo set	Secondo set
Massa della lattuga al trapianto	M <sub>initial</sub>	kg <sub>f.w.</sub>	0,05	0,05
Massa della lattuga alla raccolta	M <sub>harvest</sub>	kg <sub>f.w.</sub>	0,5	0,5
Percentuale in peso delle radici nella lattuga	% r	%	15,4	15,4
Massa delle radici al trapianto	M <sub>initial, R</sub>	kg <sub>f.w.</sub>	0,008	0,008
Massa delle foglie al trapianto	M <sub>initial, L</sub>	kg <sub>f.w.</sub>	0,042	0,042

Caratteristiche	Simbolo	Unità di misura	Primo set	Secondo set
Massa delle radici alla raccolta	$M_{\text{harvest, R}}$	kg f.w.	0,077	0,077
Massa delle foglie alla raccolta	$M_{\text{harvest, L}}$	kg f.w.	0,423	0,423
Coefficiente di traspirazione della lattuga	$T_c$	L kg f.w. <sup>-1</sup>	100	100

### E.3 Dati in input per validazione del modello

Tabella 49: Caratteristiche chimico fisiche del NP

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Valore	Riferimnto bibliografico
Coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua	log $K_{ow}$	-	4,48	EC 2011
Coefficiente di ripartizione carbonio organico-acqua	$K_{oc}$	L kg <sup>-1</sup>	38900	Ying et al. 2003
Costante di Henry a 25°C	H	Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>	11	EC 2011
Coefficiente di ripartizione aria-acqua	$K_{AW}$	L m <sup>-3</sup>	4,4	-
Coefficiente di ripartizione radici-acqua	$K_{RW}$	L kg f.w. <sup>-1</sup>	326	Doucette et al. 2005

**Tabella 50: Caratteristiche chimico fisiche del biochar applicato al terreno da coltivo**

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Valore (media $\pm$ deviazione standard di n replicati)	Metodo analitico
Umidità iniziale	UM <sub>BC</sub>	4,3 $\pm$ 0,08 % (n=3)	ASTM D 2216-05
Frazione di carbonio organico	foc <sub>BC</sub>	46 $\pm$ 0,3 % (n=2)	UNI EN 15169
Densità apparente di biochar umido	$\rho_t$ BC	143,1 $\pm$ 0,3 kg <sub>t,q</sub> /m <sup>3</sup> (n=3)	Rapporto tra massa e volume di biochar tal quale contenuto in cilindro da 500 ml
Densità apparente di biochar secco	$\rho_b$ BC	136,9 $\pm$ 0,3 kg <sub>s,s</sub> /m <sup>3</sup> (n=3)	Ricavato a partire da $\rho_t$ e UM dalla relazione: $\rho_t = \rho_b + \rho_b \cdot UM$
Coefficiente di distribuzione solido-liquido	K <sub>d</sub> BC	39815 $\pm$ 26676 L/kg (n=10).	§ 5.3

**Tabella 51: Caratteristiche chimico fisiche delle diverse matrici solide e rispettivi coefficienti di determinazione del coefficiente di ripartizione acqua-terreno.**

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Terzo set
Frazione di carbonio organico	foc <sub>mix</sub>	g/g	0,019
Densità apparente di biochar secco	$\rho_b$ mix	kg <sub>s,s</sub> /m <sup>3</sup>	1422
Densità apparente di biochar umido	$\rho_t$ mix	kg <sub>t,q</sub> /m <sup>3</sup>	1709

Caratteristiche chimico-fisiche	Simbolo	Unità di misura	Terzo set
Umidità iniziale	$UM_{mix}$	$kg_w / kg_{s.s.}$	0,201
Porosità	f	$m^3/m^3$	0,35
Massa di suolo nel sistema	$M_S$	$kg_{t,q}$	51,6
Massa di biochar nel sistema	$M_{BC}$	$kg_{t,q}$	0,2
Coefficiente di ripartizione acqua-terreno	Kws	$kg_{t,q} \cdot L^{-1}$	0,00147
Concentrazione iniziale nel suolo	$Cs(0)$	$\mu g \cdot kg_{t,q}^{-1}$	8029
Concentrazione iniziale nelle foglie	$CL(0)$	$\mu g \cdot kg_{f.w.}^{-1}$	60

**Tabella 52: Caratteristiche delle piante di lattuga**

Caratteristiche	Simbolo	Unità di misura	Terzo set
Massa della lattuga al trapianto	$M_{initial}$	$kg_{f.w.}$	0,05
Massa della lattuga alla raccolta	$M_{harvest}$	$kg_{f.w.}$	0,5
Percentuale in peso delle radici nella lattuga	% r	%	15,4

Caratteristiche	Simbolo	Unità di misura	Terzo set
Massa delle radici al trapianto	$M_{initial, R}$	kg <sub>f.w.</sub>	0,008
Massa delle foglie al trapianto	$M_{initial, L}$	kg <sub>f.w.</sub>	0,042
Massa delle radici alla raccolta	$M_{harvest, R}$	kg <sub>f.w.</sub>	0,077
Massa delle foglie alla raccolta	$M_{harvest, L}$	kg <sub>f.w.</sub>	0,423
Coefficiente di traspirazione della lattuga	$T_c$	L kg <sub>f.w.</sub> <sup>-1</sup>	100

## E.4 Analisi di sensitività del modello

Da un'analisi di sensitività effettuata variando i dati in input presi da letteratura, costanti per ogni passo temporale della simulazione, si è cercato di capire quanto la variazione di un determinato parametro potesse incidere sulle concentrazioni stimate. I dati in input presi da letteratura sono  $K_{OC}$ ,  $K_{RW}$  e  $T_C$ . I citati parametri sono stati fatti variare uno alla volta del 50%, mantenendo tutti gli altri costanti. Applicando tale variazione sui parametri è stato ricavato un range di variazione spesso compatibile con quello presente in letteratura. Nella Tabella 53 sono stati riportati i valori di partenza, il range dovuto ad una variazione del 50% ed i valori minimi e massimi riscontrati in letteratura.

Tabella 53: Variazione dei parametri in input e confronto con range di valori in letteratura

Caratteristiche	Unità di misura	Valore di riferimento	$\pm 50\%$	Range di letteratura	Riferimento bibliografico
$K_{OC}$	L kg <sub>o.c.</sub> <sup>-1</sup>	38900	19450-58350	9285-79433	During et al. 2002
$T_C$	L kg <sub>f.w.</sub> <sup>-1</sup>	103	51-154	86-119	Dodgen doctoral thesis
$K_{RW}$	L kg <sub>f.w.</sub> <sup>-1</sup>	326	163-489	71-8122	Lu et al. 2014; Dodgen et al. 2013

Al variare dei parametri sono state ottenute diverse concentrazioni finali riportate e nelle Figure 26-23. La variazione di  $K_{OC}$  influisce principalmente su  $C_R$  e  $C_L$ . Riducendo o aumentando il  $K_{OC}$  la concentrazione di NP nel suolo non subisce variazioni rilevanti, poiché piccoli quantitativi di NP vengono trasferiti o trattenuti in confronto alla massa di terreno utilizzato (50-100 kg). Tuttavia questi quantitativi di NP sono sufficienti a provocare l'aumento o la diminuzione della concentrazione nelle radici e nelle foglie, che hanno massa inferiore rispetto a quella del suolo, dell'ordine delle centinaia di grammi (Fig. 26-27).



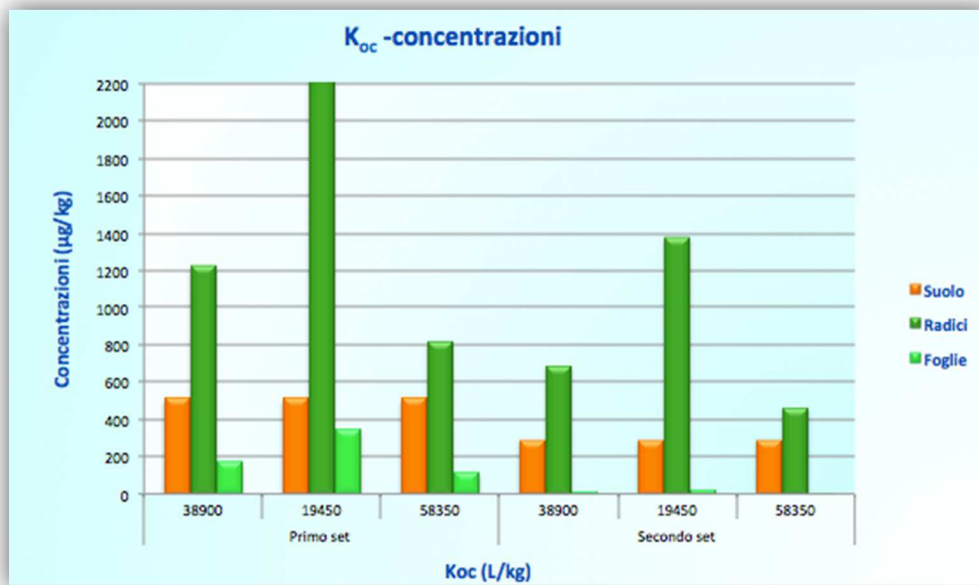


Figura 27: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di K<sub>oc</sub>

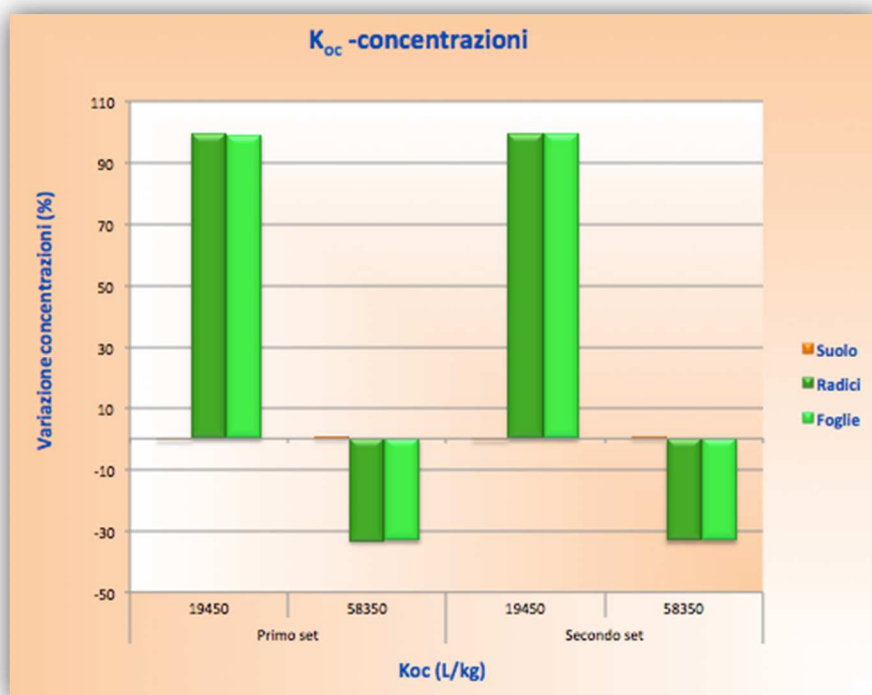


Figura 28: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di K<sub>oc</sub>

La variazione di T<sub>C</sub> influisce principalmente su C<sub>R</sub> e C<sub>L</sub> (Fig. 30). T<sub>C</sub> esprime il fabbisogno idrico

specifico (L/kg): indica i litri di acqua necessari specifici per la massa della pianta. Aumentando il valore di  $T_C$  aumenta il flusso di traspirazione  $Q_R$  (§ 6.2.3, Eq. 45); maggiore è il flusso di traspirazione maggiore risulterà la massa di NP trasferita nelle foglie della lattuga (Fig. 30-31).

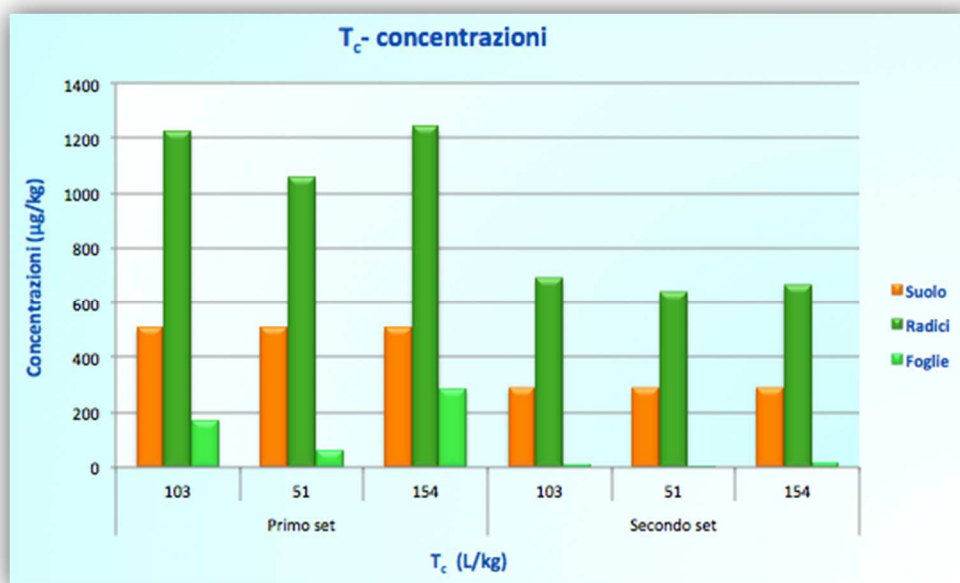


Figura 29: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di  $T_C$

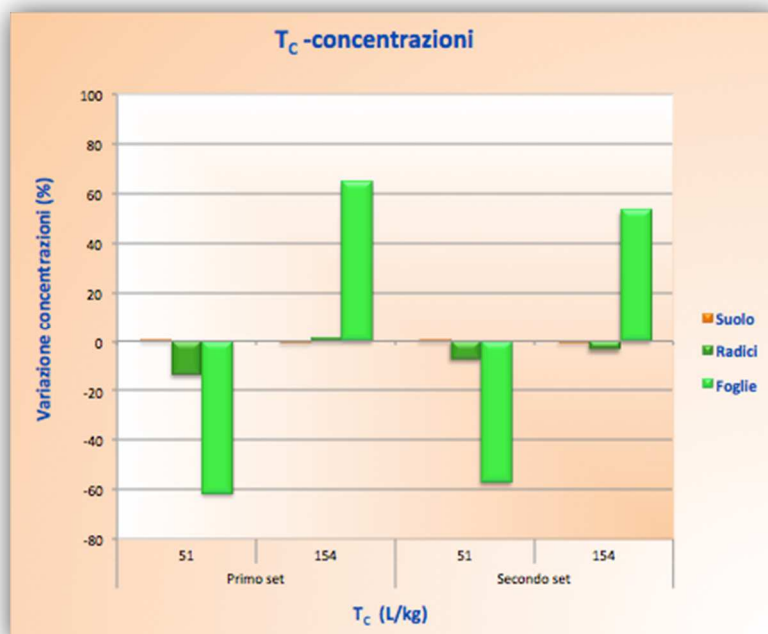


Figura 30: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di  $T_C$

$K_{RW}$  influisce principalmente su  $C_R$  ma anche su  $C_L$ . L'aumento di tale coefficiente aumenta la tendenza del NP a ripartirsi nel tessuto radicale, piuttosto che nel flusso di traspirazione  $Q_R$ , pertanto risulterà maggiore il trattenimento del contaminante da parte delle radici, con conseguente aumento della concentrazione in tale comparto e diminuzione nelle foglie (Fig. 32-33).

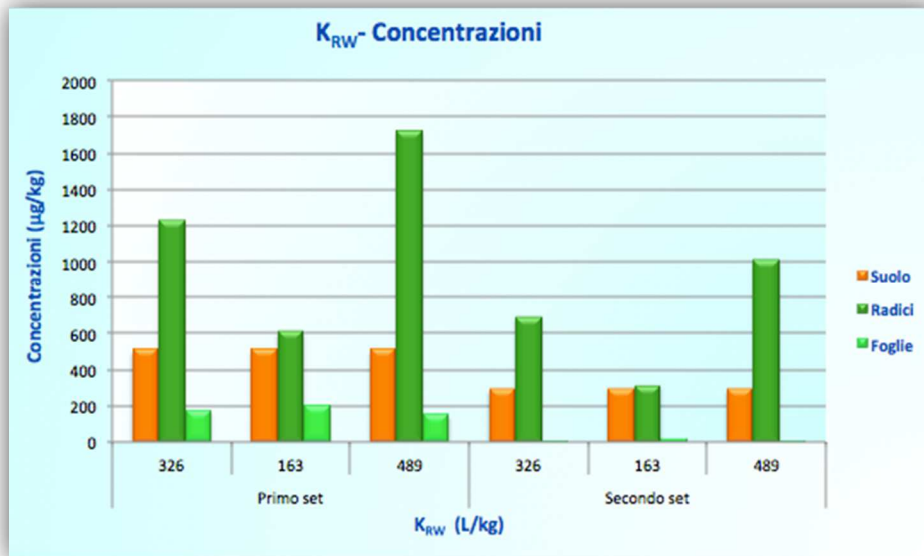


Figura 31: Livelli di NP nei vari comparti in seguito alla variazione di  $K_{RW}$

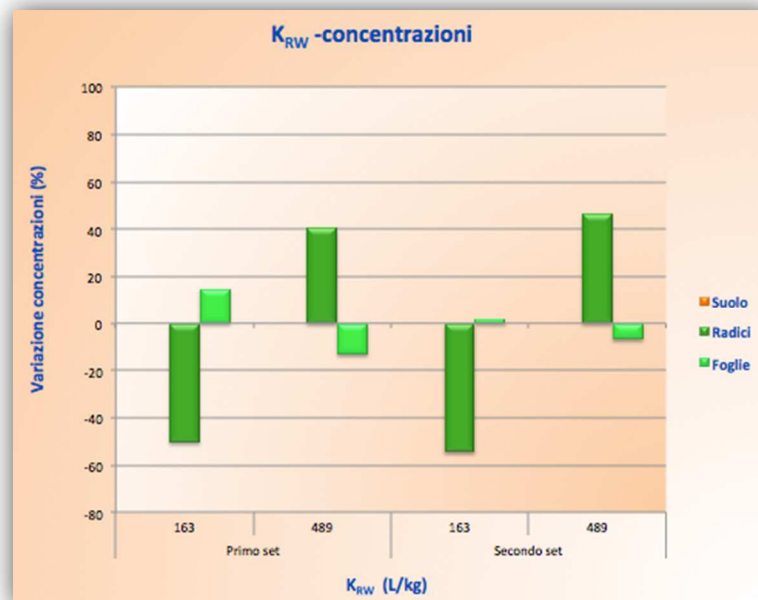


Figura 32: Variazioni percentuali delle concentrazioni nei vari comparti in seguito alla variazione di  $K_{RW}$

## BIBLIOGRAFIA

- Ã, Z. Y., Peldszus, S., & Huck, P. M. (2008). Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound — Naproxen , carbamazepine and nonylphenol — on activated carbon, *42*, 2873–2882. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2008.02.020>
- Abujabhah, I. S., Bound, S. A., Doyle, R., & Bowman, J. P. (2016). Effects of biochar and compost amendments on soil physico-chemical properties and the total community within a temperate agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, *98*, 243–253. <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.10.021>
- Ahmad, M., Upamali, A., Eun, J., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., ... Sik, Y. (2014). Chemosphere Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water : A review. *Chemosphere*, *99*, 19–33. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071>
- Andreu, V., Ferrer, E., Luís, J., Font, G., & Picó, Y. (2007). Quantitative determination of octylphenol , nonylphenol , alkylphenol ethoxylates and alcohol ethoxylates by pressurized liquid extraction and liquid chromatography – mass spectrometry in soils treated with sewage sludges, *378*, 124–129. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.024>
- Bechi, N., Sorda, G., Spagnoletti, A., Bhattacharjee, J., Ferro, E. A. V., Barbosa, B. D. F., ... Ietta, F. (2013). Toxicology in Vitro Toxicity assessment on trophoblast cells for some environment polluting chemicals and 17 b -estradiol. *TOXICOLOGY IN VITRO*, *27*(3), 995–1000. <http://doi.org/10.1016/j.tiv.2013.01.013>
- Beesley, L., Moreno-jiménez, E., Gomez-eyles, J. L., Harris, E., Robinson, B., & Sizmur, T. (2011). A review of biochars ' potential role in the remediation , revegetation and restoration of contaminated soils. *Environmental Pollution*, *159*(12), 3269–3282. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.023>
- Belfroid, C., Vethaak, A. D., Lahr, J., Schrap, S. M., Rijs, G. B. J., Gerritsen, A., ... Voogt, P. De. (2005). An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands, *59*, 511–524. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.053>
- Bonefeld-jørgensen, E. C., Long, M., Hofmeister, M. V, & Vinggaard, A. M. (2007). Monograph Endocrine-Disrupting Potential of Bisphenol A , Bisphenol A Dimethacrylate , 4-n-Nonylphenol , and 4-n-Octylphenol in Vitro : New Data and a Brief Review, *115*(December), 69–76. <http://doi.org/10.1289/ehp.9368>

- Brault, D., Stewart, K. A., Jenni, S., & Centre, D. (2002). Growth , Development , and Yield of Head Lettuce Cultivated on Paper and Polyethylene Mulch, *37*(1), 92–94.
- Brewer, C. E., Schmidt-rohr, K., Satrio, J. A., & Brown, R. C. (2009). Characterization of Biochar from Fast Pyrolysis and Gasification Systems, *28*(3). <http://doi.org/10.1002/ep>
- Briggs, G. G., Bromilow, R. H., & Evans, A. A. (1982). Relationships between lipophilicity and root uptake and traslocation of non-ionized chemicals by barley. *Pestic. Sci.*, *13*, 495 - 504.
- Briggs, G. G., Bromilow, R. H., Evans, A. A., & M., W. (1983). Relationships between Lipophilicityandthe Distribution of Non-Ionized Chemicals in Barley Shoots Following Uptake by the Roots. *Pestic. Sci.*, *14*, 492-500.
- Brown, S., Devin-clarke, D., Doubrava, M., & Connor, G. O. (2009). Chemosphere Fate of 4-nonylphenol in a biosolids amended soil. *Chemosphere*, *75*(4), 549–554. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.001>
- Cai, Q., Huang, H., Lu, H., Mo, C., Zhang, J., Zeng, Q., ... Wu, X. (2012). Occurrence of Nonylphenol and Nonylphenol Monoethoxylate in Soil and Vegetables from Vegetable Farms in the Pearl River, 22–28. <http://doi.org/10.1007/s00244-011-9741-4>
- Careghini, A., Mastorgio, A. F., Saponaro, S., & Sezenna, E. (2015). Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*(8), 5711–5741. <http://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
- Carvalho, A. R., Cardoso, V., Rodrigues, A., & Benoliel, M. J. (2016). Fate and Analysis of Endocrine-Disrupting Compounds in a Wastewater Treatment Plant in Portugal. *Water, Air, & Soil Pollution*. <http://doi.org/10.1007/s11270-016-2910-3>
- Carvalho, A. R., Cardoso, V., Rodrigues, A., Benoliel, M. J., & Duarte, E. (2016). Fate and Analysis of Endocrine-Disrupting Compounds in a Wastewater Treatment Plant in Portugal. *Water, Air, & Soil Pollution*, *227*(6), 202. <http://doi.org/10.1007/s11270-016-2910-3>
- Certificate, E. B. (2016). for a sustainable production of biocha, (February). <http://doi.org/10.13140/RG.2.1.4658.7043>
- Chen, B., Chen, Z., & Lv, S. (2011). Bioresource Technology A novel magnetic biochar efficiently sorbs organic pollutants and phosphate. *Bioresource Technology*, *102*(2), 716–723. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.067>
- Chen, F., Ying, G., Kong, L., Wang, L., Zhao, J., Zhou, L., & Zhang, L. (2011). Distribution and

accumulation of endocrine-disrupting chemicals and pharmaceuticals in wastewater irrigated soils in Hebei, China. *Environmental Pollution*, 159(6), 1490–1498. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.03.016>

Choi, K. J., Kim, S. G., Kim, C. W., & Kim, S. H. (2005). Effects of activated carbon types and service life on removal of endocrine disrupting chemicals : amitrol, nonylphenol , and bisphenol-A, 58, 1535–1545. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.08>

Clara, M., Windhofer, G., Weilgony, P., Gans, O., Denner, M., Chovanec, A., & Zessner, M. (2012a). Chemosphere Identification of relevant micropollutants in Austrian municipal wastewater and their behaviour during wastewater treatment. *Chemosphere*, 87(11), 1265–1272. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.033>

Clara, M., Windhofer, G., Weilgony, P., Gans, O., Denner, M., Chovanec, A., & Zessner, M. (2012b). Identification of relevant micropollutants in Austrian municipal wastewater and their behaviour during wastewater treatment. *Chemosphere*, 87(11), 1265–1272. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.033>

Collins C., Fryer M., Grosso A., 'Plant uptake of non-ionic organic chemicals', *Envi. Sci. and Tech.*, Vol.40, No.1, 45-52, 2006.

Danish EPA. *Effects of Organic Chemicals in Sludge Applied to Soil: Degradation and Toxicity to Organisms Living in Soil*

Dodgen, L. K., Li, J., Parker, D., & Gan, J. J. (2013). Uptake and accumulation of four PPCP / EDCs in two leafy vegetables, 182, 150–156. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.038>

Domene, X., Ramírez, W., & Solà, L. (2009). Soil pollution by nonylphenol and nonylphenol ethoxylates and their effects to plants and invertebrates, 555–567. <http://doi.org/10.1007/s11368-009-0117-6>

Doucette, W., Heeler, B., Hard, J, Ugbee, B., Aylor, C., Arbone, J, & Ims, R. (2005). UPTAKE OF NONYLPHENOL AND NONYLPHENOL ETHOXYLATES BY CRESTED WHEATGRASS, 24(11), 2965–2972.

Duan, P., Hu, C., Quan, C., Yu, T., Zhou, W., & Yuan, M. (2016). 4-Nonylphenol induces apoptosis , autophagy and necrosis in Sertoli cells : Involvement of ROS-mediated AMPK / AKT-mTOR and JNK pathways. *Toxicology*, 341–343, 28–40. <http://doi.org/10.1016/j.tox.2016.01.004>

Düring, R. A., Krahe, S., & Gäth, S. (2002). Sorption behavior of nonylphenol in terrestrial soils. *Environmental Science and Technology*, 36(19), 4052–4057. <http://doi.org/10.1021/es0103389>

- EC (2002) European Union Risk Assessment Report—4-Nonylphenol (branched) and nonylphenol, Volume 10. EUR 20387 EN. European Commission - Joint Research Centre
- Essandoh, M., Kunwar, B., Pittman, C. U., Mohan, D., & Mlsna, T. (2015). Sorptive removal of salicylic acid and ibuprofen from aqueous solutions using pine wood fast pyrolysis biochar. *CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL*, 265, 219–227. <http://doi.org/10.1016/j.cej.2014.12.006>
- Fang, K., Jiang, Z., Wang, J., She, Y., Jin, M., Jin, F., & Yang, M. (2015). Environmental Science Processes & Impacts Simulation of nonylphenol degradation in leafy vegetables using a deuterated tracer. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17, 1323–1330. <http://doi.org/10.1039/C5EM00073D>
- Fernandez, M. P., Ikonou, M. G., & Buchanan, I. (2007). An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters, 373, 250–269. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.018>
- Ghanem, A., Bados, P., Rua, A., Felipe, L., Alencastro, D., Taibi, S., ... Mougin, C. (2007). Concentrations and specific loads of glyphosate, diuron, atrazine, nonylphenol and metabolites thereof in French urban sewage sludge, 69, 1368–1373. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.022>
- Gibson, R., Durán-álvarez, J. C., León, K., Chávez, A., & Jiménez, B. (2010). Chemosphere Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 81(11), 1437–1445. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.006>
- Gibson, R. W., Wang, M., Padgett, E., Lopez-real, J. M., & Beck, A. J. (2007). Impact of drying and composting procedures on the concentrations of 4-nonylphenols, di-(2-ethylhexyl) phthalate and polychlorinated biphenyls in anaerobically digested sewage sludge, 68, 1352–1358. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.020>
- Giger, W., Brunner, P. H., & Schaener, C. (1984). *SCIENCE* :, 225(August), 623–625.
- Grzeskowiak, T., Rydlichowski, R., & Zenon, Ł. (2009). Chemosphere Determination of nonylphenol and short-chained nonylphenol ethoxylates in drain water from an agricultural area, 75, 513–518. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.022>
- Han, Z., Sani, B., Mroziak, W., Obst, M., Beckingham, B., Karapanagioti, H. K., & Werner, D. (2014). ScienceDirect Magnetite impregnation effects on the sorbent properties of activated carbons and biochars. *Water Research*, 70, 394–403. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2014.12.016>

- Hang, L. I. U. A. N. Z., Uan, P. E. N. G. Y., & E, H. O. N. G. I. N. G. H. (2010). Influence of Biochars on Plant Uptake and Dissipation of Two Pesticides in an Agricultural Soil, 7915–7921. <http://doi.org/10.1021/jf1011352>
- Höhne, C., & Püttmann, W. (2008a). Occurrence and temporal variations of the xenoestrogens bisphenol A, 4-tert-octylphenol, and tech. 4-nonylphenol in two German wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 15(5), 405–416. <http://doi.org/10.1007/s11356-008-0007-2>
- Höhne, C., & Püttmann, W. (2008b). Occurrence and temporal variations of the xenoestrogens bisphenol A, 4- tert -octylphenol , and tech . 4-nonylphenol in two German wastewater treatment plants, 405–416. <http://doi.org/10.1007/s11356-008-0007-2>
- Huang, B., Li, X., Sun, W., & Ren, D. (2014). Occurrence , removal , and fate of progestogens , androgens , estrogens , and phenols in six sewage treatment plants around Dianchi Lake in China, 12898–12908. <http://doi.org/10.1007/s11356-014-3236-6>
- Inyang, M., & Dickenson, E. (2015). Chemosphere The potential role of biochar in the removal of organic and microbial contaminants from potable and reuse water : A review. *Chemosphere*, 134, 232–240. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.072>
- Jiang, J. Q., Yin, Q., Zhou, J. L., & Pearce, P. (2005). Occurrence and treatment trials of endocrine disrupting chemicals ( EDCs ) in wastewaters, 61, 544–550. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.029>
- Jung, C., Park, J., Hun, K., Park, S., Heo, J., Her, N., ... Yoon, Y. (2013). Adsorption of selected endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals on activated biochars. *Journal of Hazardous Materials*, 263, 702–710. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.10.033>
- Kearns, J. P., Wellborn, L. S., Summers, R. S., & Knappe, D. R. U. (2014). ScienceDirect 2 , 4-D adsorption to biochars : Effect of preparation conditions on equilibrium adsorption capacity and comparison with commercial activated carbon literature data. *Water Research*, 62, 20–28. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.023>
- Kim, E., Jung, C., Han, J., Her, N., Min, C., Jang, M., ... Yoon, Y. (2016). Journal of Industrial and Engineering Chemistry Sorptive removal of selected emerging contaminants using biochar in aqueous solution. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 36, 364–371. <http://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.004>
- Kinney, C. A., Burkhardt, M. R., Werner, S. L., & Jorgensen, G. R. (2006). Survey of Organic Wastewater Contaminants in Biosolids Destined for Land Application †, 40(23), 7207–7215.



- Land, C., & Sa, G. O. (2005). SORPTION AND DEGRADATION OF ESTROGEN-LIKE-ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS IN SOIL, *24*(10), 2640–2645.
- Langdon, K. A., Warne, M. S. J., Smernik, R. J., Shareef, A., & Kookana, R. S. (2011). Chemosphere Degradation of 4-nonylphenol , 4-t-octylphenol , bisphenol A and triclosan following biosolids addition to soil under laboratory conditions. *Chemosphere*, *84*(11), 1556–1562. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.053>
- Langdon, K. A., Warne, M. S. J., Smernik, R. J., Shareef, A., & Kookana, R. S. (2012). Chemosphere Field dissipation of 4-nonylphenol , 4-t-octylphenol , triclosan and bisphenol A following land application of biosolids. *Chemosphere*, *86*(10), 1050–1058. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.11.057>
- Larous, S., & Meniai, A. (2016). ScienceDirect Adsorption of Diclofenac from aqueous solution using activated carbon prepared from olive stones. *International Journal of Hydrogen Energy*, *41*(24), 10380–10390. <http://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.01.096>
- Legind, C. N., Kennedy, C. M., & Rein, A. (2011). Dynamic plant uptake model applied for drip irrigation of an insecticide to pepper fruit plants, (January), 521–527. <http://doi.org/10.1002/ps.2087>
- Lepretti, M., Paoletta, G., Giordano, D., Marabotti, A., Gay, F., Capaldo, A., ... Caputo, I. (2015). Toxicology in Vitro 4-Nonylphenol reduces cell viability and induces apoptosis and ER-stress in a human epithelial intestinal cell line. *Toxicology in Vitro*, *29*(7), 1436–1444. <http://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.04.022>
- Li, Y., Duan, X., Li, X., & Zhang, D. (2013). Photodegradation of nonylphenol by simulated sunlight. *Marine Pollution Bulletin*, *66*(1–2), 47–52. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.014>
- Liao, X., Zhang, C., Yao, L., Li, J., Liu, M., Xu, L., & Evalde, M. (2014). Science of the Total Environment Sorption behavior of nonylphenol ( NP ) on sewage-irrigated soil : Kinetic and thermodynamic studies. *Science of the Total Environment*, *The*, *473–474*, 530–536. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.055>
- Liping, L., Guanghuan, C., Jingyou, D., Mingyang, S., Huanyu, C., Qiang, Y., & Xinhua, X. (2014). Mechanism of and relation between the sorption and desorption of nonylphenol on black carbon-inclusive sediment. *Environmental Pollution*, *190*, 101–108. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.03.027>
- Liscio, C., Magi, E., Carro, M. Di, Suter, M. J., & Vermeirssen, E. L. M. (2009). Combining passive samplers and biomonitors to evaluate endocrine disrupting compounds in a wastewater treatment

- plant by LC / MS / MS and bioassay analyses. *Environmental Pollution*, 157(10), 2716–2721. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.04.034>
- Lou, L., Yao, L., Cheng, G., Wang, L., He, Y., & Hu, B. (2015). Application of Rice-Straw Biochar and Microorganisms in Nonylphenol Remediation: Adsorption-Biodegradation Coupling Relationship and Mechanism, 1–14. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0137467>
- Lu, J., Wu, J., Stoffella, P. J., & Wilson, P. C. (2015). Uptake and distribution of bisphenol A and nonylphenol in vegetable crops irrigated with reclaimed water. *Journal of Hazardous Materials*, 283, 865–870. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.018>
- Lu, Z., & Gan, J. (2014). Isomer-Specific Biodegradation of Nonylphenol in River Sediments and Structure-Biodegradability Relationship.
- Luo, Y., Guo, W., Hao, H., Duc, L., Ibney, F., Zhang, J., ... Wang, X. C. (2014). Science of the Total Environment A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, The, 473–474, 619–641. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>
- Ma, W., Yan, Y., Ma, M., Zhang, Y., Nie, C., & Lun, X. (n.d.). Effect of biochar on migration and biodegradation of 4-n-nonylphenol ( NP ) during river-based groundwater recharge with reclaimed water. <http://doi.org/10.1080/19443994.2016.1167631>
- Mao, Z., Zheng, X., Zhang, Y., Tao, X., Li, Y., & Wang, W. (2012). Occurrence and Biodegradation of Nonylphenol in the Environment, 491–505. <http://doi.org/10.3390/ijms13010491>
- Martínez-zapata, M., Aristizábal, C., & Pe, G. (2013). Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry Photodegradation of the endocrine-disrupting chemicals 4 n -nonylphenol and triclosan by simulated solar UV irradiation in aqueous solutions with Fe ( III ) and in the absence / presence of humic acids, 251, 41–49. <http://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2012.10.009>
- McFarlane C., Pfleeger T., Fletcher J. (1990). Effect, Uptake and Disposition of Nitrobenzene in Several Terrestrial Plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 513- 520.
- Melzer, D., Rice, N., Lewis, C., Henley, W., & Galloway, T. (2010). Association of urinary bisphenol A concentration with heartdisease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS* 5, 8673
- Mohan, D., Sarswat, A., Sik, Y., & Pittman, C. U. (2014). Bioresource Technology Organic and inorganic contaminants removal from water with biochar , a renewable , low cost and sustainable adsorbent – A critical review. *Bioresource Technology*, 160, 191–202. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.120>

- Mortensen, & Kure, (2003). DEGRADATION OF NONYLPHENOL IN SPIKED SOILS AND IN SOILS TREATED WITH ORGANIC WASTE PRODUCTS, 22(4), 718–721.
- Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., & Kiri, K. (2006). Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, 40, 3297–3303. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.039>
- Pasquini, L., Rimlinger, N., Dauchy, X., France, X., & Tatiana, G. (2013). Assessment of the fate of some household micropollutants in urban wastewater treatment plant, 67(6), 601–612. <http://doi.org/10.2478/s11696-013-0339-3>
- Pellera, F., Giannis, A., Kalderis, D., Anastasiadou, K., Stegmann, R., Wang, J., & Gidaracos, E. (2012). Adsorption of Cu ( II ) ions from aqueous solutions on biochars prepared from agricultural by-products. *Journal of Environmental Management*, 96(1), 35–42. <http://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.10.010>
- Pothitou, P., & Voutsas, D. (2008). Chemosphere Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere*, 73(11), 1716–1723. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.037>
- Queensland, S. E., Tan, B. L. L., Hawker, D. W., Müller, J. F., Leusch, F. D. L., Tremblay, L. A., & Chapman, H. F. (2007). Comprehensive study of endocrine disrupting compounds using grab and passive sampling at selected wastewater treatment plants in, 33, 654–669. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2007.01.008>
- Ra, J., Lee, S., Lee, J., Kim, Y., Lim, B. J., Kim, H., & Don, S. (2011). Occurrence of estrogenic chemicals in South Korean surface waters and municipal wastewaters, 101–109. <http://doi.org/10.1039/c0em00204f>
- Rajkovich, S., Enders, A., Hanley, K., Hyland, C., & Zimmerman, A. R. (2012). Corn growth and nitrogen nutrition after additions of biochars with varying properties to a temperate soil, 271–284. <http://doi.org/10.1007/s00374-011-0624-7>
- Ranato, T. (2010). TRICLOCARBAN , TRICLOSAN , POLYBROMINATED DIPHENYL ETHERS , AND 4-NONYLPHENOL IN BIOSOLIDS AND IN SOIL RECEIVING 33-YEAR BIOSOLIDS APPLICATION, 29(3), 597–605. <http://doi.org/10.1002/etc.66>
- Recchia, A. G., Vivacqua, A., & Gabriele, S. (n.d.). Xenoestrogens and the induction of proliferative effects in breast cancer cells via direct activation of oestrogen receptor a. <http://doi.org/10.1080/02652030310001641177>

- Rein, A., Legind, C. N., & Trapp, S. (2011). New concepts for dynamic plant uptake models. <http://doi.org/10.1080/1062936X.2010.548829>
- Roberts, P., Roberts, J. P., & Jones, D. L. Ã. (2006). Behaviour of the endocrine disrupting chemical nonylphenol in soil : Assessing the risk associated with spreading contaminated waste to land, *38*, 1812–1822. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.12.006>
- Roig, B., Mnif, W., Ibn, A., Hassine, H., Zidi, I., Bayle, S., ... Thomas, O. (n.d.). Endocrine Disrupting Chemicals and Human Health Risk Assessment: A Critical Review. <http://doi.org/10.1080/10643389.2012.672076>
- Sakamoto, M., & Suzuki, T. (2015). Effect of Root-Zone Temperature on Growth and Quality of Hydroponically Grown Red Leaf Lettuce ( *Lactuca sativa* L . cv . Red Wave ), (September), 2350–2360.
- Sjostrom, Å. E. (2008). Degradation and plant uptake of nonylphenol ( NP ) and nonylphenol-12-ethoxylate ( NP12EO ) in four contrasting agricultural soils, *156*, 1284–1289. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.005>
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008a). Nonylphenol in the environment : A critical review on occurrence , fate , toxicity and treatment in wastewaters, *34*, 1033–1049. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.004>
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008b). Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International*, *34*(7), 1033–1049. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2008.01.004>
- Spagnoletti, A., Paulesu, L., Mannelli, C., Ermini, L., Romagnoli, R., Cintorino, M., & Ietta, F. (2015). Molecular and Cellular Endocrinology Low concentrations of Bisphenol A and para - Nonylphenol affect extravillous pathway of human trophoblast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *412*, 56–64. <http://doi.org/10.1016/j.mce.2015.05.023>
- Suen, J., Hung, C., Yu, H., & Huang, S. (2012). Alkylphenols d potential modulators of the allergic response. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, *28*(7), S43–S48. <http://doi.org/10.1016/j.kjms.2012.05.009>
- Tang, J., Zhu, W., Kookana, R., & Katayama, A. (2013). Characteristics of biochar and its application in remediation of contaminated soil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *116*(6), 653–659. <http://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.05.035>
- Tanghe, T. O. M., & Verstraete, W. (2001a). Adsorption of nonylphenol onto granular activated

carbon, 61–72.

- Tanghe, T. O. M., & Verstraete, W. (2001b). Adsorption of nonylphenol onto granular activated carbon inngenzi.pdf, 61–72.
- Thompson, K. A., Shimabuku, K. K., Kearns, J. P., Knappe, D. R. U., Summers, R. S., & Cook, S. M. (2016). Environmental Comparison of Biochar and Activated Carbon for Tertiary Wastewater Treatment. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b03239>
- Toxicity, A., & Leaching, C. (2001). lky lp h en ol E th oxy late D eg rad ation u cts in L an d p p lied S ewag e d g e ( B iosolid s ), 35(24), 4798–4804.
- Trapp, S. (2010). Fruit Tree model for uptake of organic compounds from soil and air y. <http://doi.org/10.1080/10629360701303693>
- Uchimiya, M., Bannon, D. I., & Wartelle, L. H. (2012). Retention of Heavy Metals by Carboxyl Functional Groups of.
- Upamali, A., Chen, S. S., Tsang, D. C. W., Zhang, M., Vithanage, M., Mandal, S., ... Sik, Y. (2016). Chemosphere Engineered / designer biochar for contaminant removal / immobilization from soil and water : Potential and implication of biochar modi fi cation. *Chemosphere*, 148, 276–291. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.043>
- Uptake, P., Nonylphenol, O. F. C., Water, U., & Hill, O. M. (2007). NONYLPHENOL TETRAETHOXYLATE , AND NONYLPHENOL NONYLETHOXYLATE, 26(2), 193–200.
- Urgess, R. O. M. B., Elletier, M. A. C. P., Undersen, J. E. L. G., Erron, M. O. M. P., & Yba, S. T. A. R. (2005). EFFECTS OF DIFFERENT FORMS OF ORGANIC CARBON ON THE PARTITIONING AND BIOAVAILABILITY OF NONYLPHENOL, 24(7), 1609–1617.
- Xu, G., Ma, S., Tang, L., Sun, R., Xiang, J., & Xu, B. (2016). Occurrence , fate , and risk assessment of selected endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants and receiving river of Shanghai , China. *Environmental Science and Pollution Research*. <http://doi.org/10.1007/s11356-016-7669-y>
- Xu, G., Ma, S., Tang, L., Sun, R., Xiang, J., Xu, B., ... Wu, M. (2016). Occurrence, fate, and risk assessment of selected endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants and receiving river of Shanghai, China. *Environmental Science and Pollution Research*. <http://doi.org/10.1007/s11356-016-7669-y>
- Ying, G., Williams, B., & Kookana, R. (2003). Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates — a review, 28, 215–226.

- Yu, X., Pan, L., Ying, G., & Kookana, R. S. (2010). Enhanced and irreversible sorption of pesticide pyrimethanil by soil amended with biochars. *Journal of Environmental Sciences*, 22(4), 615–620. [http://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60153-4](http://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60153-4)
- Yu, Z., Peldszus, S., & Huck, P. M. (2008). Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound-Naproxen, carbamazepine and nonylphenol-on activated carbon. *Water Research*, 42(12), 2873–2882. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2008.02.020>
- Zhang, C., Li, Y., Wang, C., Niu, L., & Cai, W. (2016). Occurrence of endocrine disrupting compounds in aqueous environment and their bacterial degradation: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(1), 1–59. <http://doi.org/10.1080/10643389.2015.1061881>
- Zhang, Z., Le, M., Rhind, S. M., Kyle, C. E., Hough, R. L., Duff, E. I., & McKenzie, C. (2015). Science of the Total Environment A study on temporal trends and estimates of fate of Bisphenol A in agricultural soils after sewage sludge amendment. *Science of the Total Environment*, The, 515–516, 1–11. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.053>

## **SITOGRAFIA**

I-CHAR: <http://www.ichar.org>

EBC 2012: <http://www.european-biorchar.org>