

CAPITOLO 3

BIOADSORBIMENTO

3.1 Inquinamento da metalli pesanti

L'inquinamento ambientale da metalli tossici è strettamente correlato alle attività militari, industriali e agricole. Nella tabella 1 sono riportate le attività industriali, i metalli tossici derivanti da tali attività e le tonnellate annue prodotte.

Industrie	Metalli pericolosi	Tonnellate
Elettriche ed Elettroniche	As, Cr,Hg, Se, Ni, Cu	1.2 milioni
Petrolio e Carbone	As, Pb, V, Cd, Ni, Zn	1.2 milioni
Minerarie e Metallurgiche	Hg, Cr, Cu, As, Zn, Pb	0.39 milioni
Agricole	Mg, As, Cu	1.4 milioni
Manufatturiere	Cr, Co, Ni, Fe	0.24 milioni
Scarti di lavorazione	Vari	0.72 milioni

Tabella 1: Brower, Environmental Science and Technology (1997)

Le specie metalliche rilasciate nell'ambiente come scarti delle attività tecnologiche umane, a differenza di altri inquinanti tossici, non sono biodegradabili e quindi, possono accumularsi nei tessuti e nella catena alimentare, divenendo una seria minaccia per l'ambiente, gli animali e gli uomini (Velea et al., 1995; Volesky e Holan, 1995).

La circolazione di elementi e composti potenzialmente tossici verso la biosfera in generale, e l'uomo in particolare, avviene soprattutto attraverso le sfere geochimiche con dinamica più elevata. L'atmosfera e l'idrosfera giocano il ruolo più importante da questo punto di vista, sia per i flussi elevati di molti elementi in traccia, sia per l'alto grado di biodisponibilità degli elementi che vi circolano.

3.1.1 Tipi di metalli

I metalli possono essere classificati, in base al loro interesse economico e al loro impatto ambientale, in quattro categorie principali (Volesky e Holan, 1995):

- 1) metalli pesanti tossici
- 2) metalli strategici
- 3) metalli preziosi
- 4) isotopi radioattivi

Le categorie pericolose per l'ambiente sono la prima e la quarta.

Nella prima categoria, i tre metalli pesanti più tossici sono Hg, Pb e Cd. Il mercurio a causa della sua elevata tossicità è stato sostituito in molti processi industriali grazie all'introduzione di nuove tecnologie. E' ancora utilizzato nei termometri, nei barometri, nelle pompe ad alto vuoto, nelle batterie e nei tubi di luce fluorescenti. Il cadmio è usato nella costruzione di accumulatori alcalini, nei pigmenti per vernici e per la ricopertura di materiali metallici vista la sua elevata resistenza alla corrosione. Al contrario del mercurio, il consumo del cadmio è in costante aumento in tutto il mondo. La fonte principale di piombo nell'ambiente è dovuto al suo utilizzo come antidetonante nelle benzine per aumentarne il numero di ottano. Le particelle di piombo inalate si accumulano nell'organismo, fissandosi nei polmoni e nelle ossa. La legge italiana prescrive un tasso massimo di piombo nell'aria di $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Il consumo di piombo è in netta diminuzione grazie soprattutto al diffondersi di benzine verdi che usano altre sostanze antidetonanti, come ad esempio l'MTBE. Altri metalli che possono risultare nocivi sono: Cr, As, Se, Ni, V, Zn, Cu.

Nella categoria dei metalli strategici e preziosi rientrano metalli quali titanio, oro, gallio e platino che non sono necessariamente tossici per l'ambiente. In questo caso l'interesse principale è il recupero dei metalli tramite concentrazione di soluzioni diluite.

La quarta categoria comprende gli isotopi radioattivi provenienti dall'industria nucleare, militare e dalle loro acque di scarico. La pericolosità di un radioisotopo è correlata al suo tempo di dimezzamento e all'intensità dell'emissione radioattiva.

3.1.2 Fonti di inquinamento da metalli

L'immissione di metalli nell'ambiente idrico può trarre origine da diverse fonti che possono essere così classificate:

1. erosione di formazioni minerali dovuta agli agenti atmosferici
2. processi industriali di estrazione e di lavorazione dei minerali
3. utilizzazioni industriali dei metalli e dei loro derivati

4. scarichi che si originano da insediamenti residenziali
5. scarichi da zone agricole

L'erosione di formazioni minerali dovuta all'azione degli agenti atmosferici è una delle più rilevanti fonti di rilascio di metalli nell'ambiente.

In letteratura sono riportati numerosi esempi che testimoniano la notevole influenza esercitata da questo fenomeno sulle caratteristiche dell'acqua, dei sedimenti, della flora e della fauna acquatica nelle zone circostanti formazioni minerali e in quelle dove hanno luogo fenomeni geotermici.

Nelle zone minerarie sottoposte a sfruttamento, oltre all'inquinamento determinato dall'erosione naturale, si accompagna quello provocato dall'attività estrattiva e di prima lavorazione dei minerali. In questi casi l'inquinamento causato dall'intervento dell'uomo risulta prevalente rispetto ai fenomeni naturali e numerosi sono gli esempi di aree minerarie completamente modificate, per la qualità delle acque e nell'assetto territoriale, per l'effetto dell'inquinamento prodotto dall'attività di estrazione e di lavorazione dei minerali. In alcuni casi l'inquinamento determinato dalle acque di miniera ha raggiunto livelli tali da distruggere la vita acquatica nei corpi idrici. I detriti e i residui dei minerali, soggetti ad un'erosione accelerata, producono effetti deleteri sull'ambiente che si possono protrarre anche per molti anni dopo la cessazione dell'attività estrattiva.

Le attività industriali costituiscono una delle più vaste fonti di inquinamento ambientale da metalli; i molteplici settori da cui traggono origine le acque di scarico possono essere così schematizzati:

- Industria siderurgica
- Industria dei metalli non ferrosi
- Industria meccanica e galvanica
- Industria di produzione e lavorazione di minerali non metalliferi
- Industria della carta
- Industrie chimiche e derivate
- Industria della concia
- Industria dei componenti elettrici ed elettronici
- Industria fotografica
- Industria del legno
- Industria tipografica

Considerevoli quantità di metalli pesanti possono essere rilasciate nell'ambiente per altra via rispetto agli scarichi acquosi, ad esempio attraverso le ciminiere, gli inceneritori e i sistemi antincendio.

L'inquinamento da metalli che si origina dagli insediamenti residenziali e prevalentemente veicolato dagli scarichi domestici e dagli scarichi che si producono a seguito delle precipitazioni meteoriche. Potenziali fonti di inquinamento sia delle acque superficiali che di quelle sotterranee sono anche le discariche di rifiuti. Gli scarichi domestici possono veicolare apprezzabili quantitativi di metalli. La componente sospesa dei normali liquami di fogna presenta infatti concentrazioni di Pb, Zn, Cu e Cd che risultano da 15 a 50 volte più elevate rispetto a quelle presentate mediamente dagli strati rocciosi. Analogamente, le concentrazioni di metalli in fase disciolta, anche se suscettibili di ampie variazioni nelle diverse situazioni locali, è prevedibile che siano ugualmente apprezzabili. La presenza di Cu, Pb, Zn e, anche se in minor misura, di Cd è dovuta prevalentemente alla corrosione della rete di distribuzione dell'acqua. Apporto di metalli di una certa entità è anche determinato da alcuni tipi di detersivi che in certi casi, oltre al boro possono contenere Fe, Mn, Cr, Co, Zn e As.

Un contributo notevole all'inquinamento da metalli delle acque superficiale è determinato dagli scarichi che si formano in occasione di precipitazioni meteoriche. Le più elevate concentrazioni di inquinanti organici ed inorganici sono di solito presenti in tali acque nei primi 20 minuti dall'inizio delle precipitazioni, quando risulta esaltata l'azione dilavante che le acque meteoriche esercitano sulle superfici metalliche soggette a corrosione e su quelle ricoperte da polveri immesse nell'atmosfera da varie fonti. Le elevate concentrazioni di piombo (solubile e particellato) riscontrate nelle acque di prima pioggia sono prevalentemente dovute al dilavamento del piombo immesso nell'atmosfera dai gas di scarico delle automobili. Le elevate concentrazioni di rame e zinco, metalli che unitamente al piombo sono normalmente presenti in questo tipo di acque, sono invece in gran parte determinate dalla corrosione di superfici metalliche e degli attrezzi da giardino.

L'attività agricola contribuisce apprezzabilmente all'inquinamento dei sistemi acquatici naturali. L'inquinamento che si origina dalle zone agricole è di tipo diffuso e, data la vastità dei territori interessati, il suo controllo risulta particolarmente complesso. L'inquinamento derivante dalle aree agricole è prodotto essenzialmente dall'erosione del suolo, dall'uso di fertilizzanti e pesticidi, e dalle deiezioni degli animali. Le coltivazioni contribuiscono per oltre il 95% all'erosione del suolo. L'uso dei fertilizzanti, oltre a contribuire ai fenomeni di eutrofizzazione delle acque superficiali, può determinare anche inquinamento da metalli.

3.1.3 Aspetti generali delle tecnologie di depurazione

Le tecnologie maggiormente adottate per il recupero di metalli pesanti presenti nelle acque di scarico degli impianti sono le seguenti:

- Precipitazione
- Scambio ionico
- Evaporazione
- Elettrolisi
- Osmosi inversa
- Elettrodialisi
- Cristallizzazione
- Adsorbimento su carbone attivo
- Processi a membrane liquide supportate

Precipitazione

Il metodo più largamente utilizzato per la rimozione dei metalli è quello basato sulla precipitazione come ossidi o idrossidi, che viene impiegato soprattutto quando la concentrazione iniziale degli elementi da rimuovere è abbastanza elevata e non risulta conveniente recuperare i metalli rimossi.

La precipitazione chimica è governata dalla concentrazione dello ione metallico in soluzione e dal pH, correlati al prodotto di solubilità K_s secondo l'espressione:

$$[M^{z+}][OH^-]^z = K_s$$

in cui z è il numero di ossidazione del metallo M .

Per alcuni metalli (alluminio, cromo) la formazione di precipitati rappresenta uno stadio lento nel processo di rimozione. In tali casi ad ogni pH la concentrazione residua dello ione metallico in soluzione può risultare maggiore di quella prevedibile sulla base delle condizioni di equilibrio termodinamico. Il fenomeno è dovuto al meccanismo di formazione dei precipitati che prevede la nucleazione e la crescita di unità macromolecolari a densità di carica via via decrescenti fino alla formazione del precipitato vero e proprio.

In alcuni casi, sono state riscontrate concentrazioni finali inferiori a quelle teoricamente prevedibili in base agli equilibri di solubilità; il meccanismo di tale comportamento non è ancora completamente chiarito, ma sembra dovuto essenzialmente a fenomeni di coprecipitazione.

Infine, è bene tener presente che alcuni metalli hanno un comportamento anfotero e presentano quindi la tendenza alla ridissoluzione in ambiente alcalino.

Rame, zinco, ferro(III), manganese, nichel, cobalto e cromo possono essere rimossi in misura praticamente completa se vengono precipitati come idrossidi. Il pH ottimale per la precipitazione dipende dalla natura del metallo ma è generalmente compreso nell'intervallo $7 \div 11$ e in genere viene ottenuto tramite l'aggiunta di calce; tale reattivo viene preferito ad altri agenti precipitanti per il basso costo, a meno che non si prenda in considerazione il recupero del metallo rimosso. Quando la soluzione da trattare è fortemente acida, può risultare più conveniente effettuare una parte della neutralizzazione utilizzando il carbonato di calcio.

Talvolta i precipitati che si formano (per es. i fiocchi di idrossido di ferro) sono caratterizzati da velocità di sedimentazione molto basse; inoltre i fanghi risultanti dalla precipitazione possono essere molto voluminosi e difficilmente disidratabili. In questi casi un trattamento di coagulazione-flocculazione, con l'impiego di sali di alluminio o di ferro e di polielettroliti come coadiuvanti, consente di ottenere precipitati più facilmente sedimentabili e disidratabili. In ogni caso è molto importante una scelta opportuna dei criteri di progetto e delle condizioni di esercizio delle unità operative in cui si fa avvenire la separazione dei precipitati. Tale operazione avviene in genere in sedimentatori dove spesso una parte del fango raccolto viene ricircolata nelle vasche di coagulazione-flocculazione così da favorire la formazione dei precipitati. Talvolta la coagulazione, la flocculazione e la sedimentazione avvengono in compartimenti separati di un'unica apparecchiatura dotata di ricircolazione interna dei fanghi (chiari-flocculatori a letto di fango). Per la separazione dei precipitati si impiegano anche filtri di vario tipo (a sabbia, sotto vuoto, filtropresse, ecc.) e centrifughe quando è necessario rimuovere precipitati dispersi in forma finemente suddivisa.

Per cadmio, mercurio e piombo spesso la rimozione tramite precipitazione degli idrossidi non avviene in misura tale da consentire che la concentrazione residua di tali elementi nell'effluente trattato sia inferiore ai limiti ammissibili. Essendo i solfuri metallici nei sistemi acquosi generalmente meno solubili dei corrispondenti idrossidi, si usa correntemente come agente precipitante per la rimozione del mercurio il solfuro di sodio (a $\text{pH}=7$); anche per l'abbattimento del cadmio si impiega talvolta la precipitazione come solfuro (a $\text{pH}=7.5 \div 8.5$).

Tale sistema presenta l'inconveniente connesso all'eccesso di solfuro nella fase liquida che, oltre a peggiorare le caratteristiche di sedimentabilità dei fanghi prodotti, può, a valori di pH bassi, provocare emissioni di idrogeno solforato. Talvolta si ricorre all'impiego di solfuro di ferro (invece di solfuro di sodio) sotto forma di sospensione preparata di fresco; in tal caso non si ha eccesso di solfuro disciolto in fase liquida.

Per il piombo, si preferisce adottare la precipitazione come carbonato basico (a $\text{pH}=8\div9$) tramite aggiunta di idrossido e di carbonato di sodio.

Se sono presenti sostanze interferenti, è necessario che la precipitazione chimica (con la formazione di idrossidi, solfuri, ecc.) sia preceduta da un adatto pretrattamento. Le sostanze interferenti che più frequentemente si riscontrano negli scarichi contenenti metalli sono i composti ammoniacali e i cianuri, capaci entrambi di formare complessi solubili con la maggior parte degli ioni metallici tossici. L'ammoniaca viene generalmente eliminata per stripping a pH di circa 12; i cianuri vengono ossidati tramite clorazione in ambiente alcalino ($\text{pH}=12$, $T=70^{\circ}\text{C}$) o in alternativa con ozono in tempi brevi e a temperatura ambiente.

La precipitazione dell'idrossido di cromo, se questo elemento è inizialmente presente come cromo esavalente, deve essere preceduta da un trattamento di riduzione chimica (con composti solforosi, idrazina o solfato ferroso).

In definitiva le principali operazioni che possono intervenire, direttamente o meno, in un processo di precipitazione chimica (escludendo quelle specificatamente destinate al trattamento dei fanghi prodotti) sono:

- pretrattamento (stripping, scambio ionico, ossidazione, riduzione)
- aggiunta di reattivi chimici
- coagulazione e flocculazione
- separazione liquido-solido (sedimentazione, flottazione, filtrazione, centrifugazione).

Gli impianti che realizzano la precipitazione chimica sono prevalentemente a funzionamento discontinuo quando le portate degli scarichi da trattare sono relativamente modeste o quando gli scarichi sono così variabili da richiedere frequenti modifiche delle caratteristiche del trattamento. Quando le portate sono elevate, si tende, comunque, a rendere continuo il funzionamento degli impianti, provvedendo ad installare a monte del trattamento un'adeguata capacità di equalizzazione e di omogeneizzazione se gli scarichi presentano caratteristiche molto variabili.

I processi di precipitazione sono relativamente economici e sono utili per rimuovere il grosso degli ioni metallici in soluzione, ma non sono convenienti se sono richiesti dei bassi livelli di metalli residui (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996). In questo caso, la precipitazione può divenire costosa perché richiede un'unità di chiarificazione e dei filtri finali di pulizia (Sung et al., 1998). La precipitazione e la coagulazione diventano molto costose e poco efficaci, anche se la concentrazione iniziale degli ioni metallici varia tra $1\div100$ mg/L (Kapoor e Viraraghavan, 1995).

Scambio ionico

Lo scambio ionico è un processo unitario che comporta, di solito, lo scambio di ioni in soluzione con controioni in un polimero insolubile contenente gruppi fissi cationici o anionici. La matrice polimerica dello scambiatore può essere un copolimero di divinilbenzene (DVB) e stirene, polimetacrilato, fenolo e formaldeide o polimeri naturali quali carbone, cellulosa ecc. Se lo scambio riguarda cationi, lo scambiatore è detto cationico ed i gruppi fissi nel polimero sono anioni del tipo SO^{3-} (solfonico), -COO^- (carbossilico), -PO^{3-} (fosfonico). In scambiatori anionici, il gruppo fisso è solitamente una ammina, di tipo quaternario, terziario, secondario o addirittura primario. Lo scambiatore cationico viene rigenerato normalmente con acido solforico, quello anionico con soda caustica.

Nelle resine a scambio ionico le cariche fisse sono distribuite uniformemente in tutta la matrice polimerica. Per utilizzare la massima parte di queste cariche è necessario che gli ioni diffondano sin all'interno del granulo di resina, mentre gli ioni scambiati possano retrodiffondere agevolmente. Gli scambiatori più comuni, di tipo gel, privi di reale porosità, si rigonfiano passando dallo stato secco a quello idratato tanto più quanto minore è il loro grado di reticolazione (% DVB). Nella forma idratata rigonfiata si ottiene una struttura sufficientemente aperta da consentire agli ioni acquosi di diffondere verso e dallo scambiatore. Con ioni molto grandi, tuttavia, la reazione di scambio può avere luogo soltanto sulla superficie esterna del granello di resina. Spesso alcuni ioni penetrano nel granello, ma non sono più capaci di uscirne, provocando l'avvelenamento (fouling) delle resine. Per superare tale inconveniente sono stati preparati scambiatori dotati di elevata porosità, detti macroporosi o macroreticolati: specialmente questi ultimi si rivelano utili nel trattamento di soluzioni industriali, ove sono solitamente presenti anche macro-anioni organici (brillantanti, detersivi, ecc.).

Tre aspetti dello scambio ionico vanno evidenziati in particolare:

- la natura stechiometrica, che richiede che ogni ione rimosso dalla soluzione venga sostituito da una equivalente quantità di altra specie ionica dello stesso segno
- la capacità di concentrare soluzioni diluite, i cui componenti ionici, dopo essere stati fissati dalla resina, vengono eluiti ad una concentrazione molto maggiore di quella iniziale, con fattori di concentrazione fino a 10^4 .
- la selettività, in base alla quale la resina presenta differente affinità per specie ioniche diverse, che quindi possono essere separate tra di loro.

Nell'utilizzo di sistemi di scambio ionico, è necessario un controllo del pH nelle acque, poiché a valori bassi di pH si riduce l'efficienza della resina, mentre ad alti valori di pH si satura la resina con solidi (idrossidi).

Il controllo della saturazione della resina avviene analizzando l'acqua in uscita dalle colonne. Una concentrazione di metalli nelle acque in uscita pari al valore riscontrato all'ingresso, indica la saturazione della resina. Per non bloccare il ciclo di depurazione quando è necessaria la rigenerazione della resina, si ricorre all'uso di colonne di depurazione in stand-by.

L'efficienza delle resine nei confronti dei metalli pesanti diminuisce quando nelle acque da depurare sono presenti sostanze organiche; per eliminarle si ricorre ad un preventivo adsorbimento su carbone attivo.

Rispetto ad altri metodi disponibili, quali ad esempio la precipitazione chimica, lo scambio ionico può offrire i seguenti vantaggi nel trattamento di soluzioni contenenti metalli:

- possibilità di recupero di metalli di valore;
- notevole riduzione di volume delle acque di scarico;
- recupero di acqua per ulteriori usi.

Naturalmente, non tutti questi vantaggi sono sempre simultaneamente ottenibili, inoltre il processo di scambio ionico richiede un'alta spesa di capitale per l'acquisto e la gestione del sistema (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996).

Evaporazione

I sistemi di recupero dei metalli pesanti basati sul processo ad evaporazione possono, nel caso sia disponibile una fonte di energia termica a basso costo, ridurre i costi del trattamento convenzionale attraverso una sostanziale riduzione dei volumi di acqua da trattare, consentendo anche l'eliminazione d'inquinanti di difficile trattabilità. Inoltre, e questo è il dato più interessante, permettono una riconcentrazione dei bagni galvanici tale da consentire il diretto riutilizzo nel ciclo produttivo.

I processi di evaporazione si dividono in due tipi:

- 1) evaporazione atmosferica
- 2) evaporazione sotto vuoto

Nell'evaporazione atmosferica l'acqua di scarico è spruzzata su grigliati, piatti forati o riempimenti, in controcorrente con aria calda che provoca l'evaporazione. Il vantaggio di tale processo è offerto dai bassi costi, mentre il più grande svantaggio sta nell'incapacità dell'acqua di evaporare in condizioni di umidità relativa nell'ambiente di lavoro superiore all'80-90%. E' necessario in questi casi, un preventivo riscaldamento dell'acqua prima di effettuare il trattamento.

Poiché i flussi di lavoro sono compresi tra i 40 e i 150 litri l'ora, si dispongono più evaporatori in serie per avere la convenienza nell'applicazione del metodo.

Gli evaporatori sottovuoto si distinguono tra loro per la tecnica utilizzata per effettuare il vuoto. Lo scopo di tali macchine è di permettere l'ebollizione dell'acqua a temperature più basse dei 100 °C (tra 43 e 54 °C), mediante modifica dei valori di pressione. Con questa metodologia, sostanze che sono degradate ad alta temperatura, mantengono invariate le loro proprietà. Il recupero del condensato e dell'acqua e la funzionalità in tutte le condizioni climatiche, fanno sì che questo sistema sia molto vantaggioso. Gli svantaggi riguardano i costi, la manodopera e la possibile formazione di schiume presenti in acque di scarico contenenti tensioattivi (provenienti da impianti di lavaggio). Il costo proibitivo del processo di evaporazione limita il suo uso ad applicazioni in cui ci sia un alto beneficio economico dal recupero di un prodotto, come nel riciclaggio di metalli preziosi nelle industrie che producono catalizzatori (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996).

Osmosi inversa

Il processo di osmosi inversa può essere utilizzato per la rimozione di sali inorganici dalle acque. L'acqua da depurare è fatta passare ad alte pressioni (400-800 psi) attraverso una membrana che permette il passaggio dell'acqua e trattiene i sali. Per evitare una riduzione della durata della membrana, è bene effettuare un pretrattamento dell'acqua per eliminare calcio, ferro, piombo e carbonati.

Le caratteristiche dissalanti delle membrane di acetato di cellulosa sono tra le migliori, mentre è ristretto l'intervallo di pH in cui esse possono essere utilizzate. Le membrane copoliammidiche hanno, al contrario, una notevole resistenza al pH, ma le loro proprietà di flusso sono ridotte.

L'uso dei processi a membrana nella rimozione dei metalli pesanti è stato limitato da vari fattori: gli alti costi, la complessità del processo, la bassa efficienza nella rimozione, le limitate velocità di flusso e l'instabilità delle membrane in presenza di sali, acidi e altre impurezze organiche ed inorganiche per cui le acque da trattare devono essere precedentemente filtrate e pretrattate per avere dei valori di pH basici (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996).

Elettrolisi

Questa metodologia fa uso di una differenza di potenziale applicata che permette il recupero di metalli al catodo. Questo tipo di recupero è applicato a correnti concentrate e non alle acque di lavaggio. L'elettrolisi permette la rimozione del metallo dalla soluzione nella forma di solido metallico per il riciclaggio o la vendita. I vantaggi di questa tecnica sono che non sono necessari

reagenti chimici extra e che non vengono prodotti fanghi. Comunque, su una scala più generale, considerevoli risorse sono richieste e alti livelli di inquinanti sono prodotti come risultato del secondo processo (fanghi anodici). L'uso dell'elettricità implica che l'economicità del metodo dipende molto fortemente dal prezzo dell'energia e dalla quantità di elettricità consumata rispetto al volume trattato di soluzione (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996). In termini generali, il recupero elettrochimico dei metalli da soluzioni diluite dell'ordine di qualche mg/l, non è conveniente dal punto di vista dei consumi di energia. Viene pertanto richiesto un processo di pre-concentrazione, del tipo a scambio ionico, osmosi inversa, o evaporazione.

Elettrodialisi

L'elettrodialisi è un processo a membrane in cui la separazione viene ottenuta grazie al trasporto selettivo degli ioni attraverso membrane cariche sotto l'influenza di un campo elettrico applicato tra le due facce della membrana. Questo processo può essere applicato per separare specie elettrolitiche da specie non-elettrolitiche, nella concentrazione o nell'allontanamento di elettroliti dalle soluzioni e nello scambio di ioni tra soluzioni diverse.

Per impianto ad elettrodialisi si intende, in genere, l'insieme di più compartimenti separati da membrane anioniche e cationiche, racchiusi tra due elettrodi.

Il cuore del processo è la membrana scambiatrice di ioni. Le membrane preparate da scambiatori di tipo cationico (membrane cationiche) sono permeabili agli ioni carichi positivamente e impermeabili a ioni carichi negativamente. Le membrane anioniche sono invece preparate da scambiatori di tipo anionico e sono impermeabili ai cationi.

Con l'elettrodialisi si possono raggiungere concentrazioni maggiori che con l'osmosi inversa, così che le specie recuperate sono direttamente riutilizzabili nel bagno galvanico. Le membrane impiegate presentano inoltre una resistenza chimica e meccanica superiori a quelle usate in osmosi inversa.

Uno degli svantaggi sta nel fatto che l'elettrodialisi non è economica nel trattamento di soluzioni molto diluite o nel caso che i metalli degli effluenti debbano raggiungere concentrazioni inferiori al mg/L.

Cristallizzazione

La cristallizzazione a freddo è un processo per la separazione di soluti dispersi in un solvente. In genere il solvente utilizzato è l'acqua poiché la formazione di ghiaccio assolutamente puro, esclude dalla matrice solida tutti i soluti. Nel cristallizzatore è presente un liquido refrigerante basso bollente. La soluzione da depurare, posta a contatto con un liquido più freddo, cede calore

abbassando la sua temperatura e favorendo la formazione di cristalli di ghiaccio. Le dimensioni dei cristalli sono mantenute al di sotto dei 350 micron e la percentuale in cui essi sono presenti in soluzione è inferiore al 25%, per diminuire le difficoltà di pompaggio e la presenza di inclusioni. La sospensione è inviata ad un separatore di cristalli dove la soluzione madre è separata come ricircolo, per essere nuovamente inviata al cristallizzatore. Il prodotto cristallizzato invece, è fuso in uno scambiatore di calore, dove il liquido riscaldante è il liquido refrigerante, precedentemente riscaldato dal calore rilasciato dall'effluente e compresso. Il ciclo chiuso appena descritto permette di ridurre i costi per la produzione d'energia. Questo processo è conveniente per soluzioni contenenti alte concentrazioni di inquinanti. Nonostante le alte quantità di metalli pesanti da rimuovere, le soluzioni depurate rilevano dei valori di concentrazione al di sotto dei limiti di legge.

Adsorbimento

L'adsorbimento è un fenomeno chimico-fisico in cui il contatto tra un solido selettivo generalmente poroso e una soluzione contenente soluti da rimuovere, permette ai soluti, in determinate condizioni di pH, temperatura e concentrazione, di diffondere nel solido e adsorbirsi sulla superficie di questo. Il fenomeno è legato al tipo di forze che la superficie esercita sulle molecole in soluzione. Nell'adsorbimento fisico si generano forze di natura elettrostatica (forze di Van der Waals), mentre nell'adsorbimento chimico si generano dei legami chimici tra i complessi adsorbiti e i centri attivi dell'adsorbente. Il solido è dotato di una grande area superficiale proprio per favorire la maggiore penetrazione di liquido all'interno e una maggiore capacità adsorbente. Quando il solido adsorbente è saturo non riesce a adsorbire altro soluto presente in soluzione, che mantiene invariata la concentrazione. Gli adsorbenti generalmente utilizzati sono le resine, la zeolite, Al_2O_3 , SiO_2 e il carbone attivo. Nell'affinità tra il soluto e l'adsorbente intervengono diversi fattori quali il peso molecolare (più è alto più il soluto è adsorbito), la solubilità del composto in soluzione (tanto minore è il suo valore e più il soluto è adsorbito), il pH e la temperatura della soluzione.

L'adsorbimento su carbone attivo è un metodo valido per la rimozione dei metalli pesanti nelle acque di scarico; il carbone attivo è stato per quasi tre decenni l'adsorbente standard per la purificazione delle acque municipali e industriali a fini potabili. Nonostante il suo largo uso, il carbone attivo rimane un materiale costoso, e quindi la ricerca di un'alternativa a basso costo è stato lo scopo degli ultimi anni (Aderhold, Williams e Edyvean, 1996).

Processi a membrane liquide

I processi a membrane liquide supportate costituiscono attualmente una potenziale alternativa alle tradizionali tecnologie di separazione e recupero di specie chimiche in soluzioni acquose. Numerosi sono infatti i vantaggi che tale tecnica presenta:

1. grandi volumi di soluzione possono essere trattati con limitati consumi energetici;
2. le specie trattate possono essere recuperate, anche in soluzioni molto concentrate, con elevati livelli di purezza;
3. gli alti flussi delle specie permeate e la possibilità di concentrare specie chimiche anche contro gradiente permettono di realizzare separazioni molto efficienti.

Una membrana liquida supportata è costituita da un sottile supporto solido polimerico contenente nei suoi pori una soluzione organica di agente estraente. Tale estraente presenta la caratteristica fondamentale di reagire con le specie metalliche presenti in soluzione sotto ben determinate condizioni chimiche. La membrana liquida supportata separa la fase acquosa contenente inizialmente la specie da recuperare (soluzione di “feed”) dalla fase acquosa in cui la specie medesima deve essere recuperata e concentrata (soluzione di “strip”). Nel corso del processo di permeazione l'equilibrio descritto è fortemente spostato a destra sulla interfaccia membrana-soluzione di strip, mantenuta a valori elevati di pH, e a sinistra in corrispondenza dell'interfaccia membrana-soluzione di feed, mantenuta invece a bassi valori del pH. Tale situazione, artificialmente creata nella maggior parte dei casi, determina lo stabilirsi di un gradiente costante di forza motrice (ΔpH , in questo caso) che assicura il funzionamento del processo. All'interfaccia lato feed il carrier HX reagisce con lo ione metallico formando il complesso MeX , il quale, una volta giunto per moto diffusivo all'interfaccia lato strip, rilascia lo ione metallico secondo la reazione inversa all'equilibrio scritto. Come risultato globale gli ioni metallici migrano dalla soluzione di feed a quella di strip con un flusso accoppiato, ma diretto in verso opposto, a quello degli ioni idrogeno.

La validità della tecnica del trasporto accoppiato in membrane liquide supportate nei processi di recupero e separazione di ioni metallici è stata ampiamente verificata.

Qualche incertezza rimane tuttavia sull'uso di tali sistemi nei processi industriali di separazione a causa delle poche informazioni di cui ancora si dispone circa la stabilità delle membrane stesse.

Svantaggi generali delle tecniche tradizionali

L'applicazione delle tecniche tradizionali di separazione è talvolta inadeguata a garantire i limiti stabiliti dalla legge a causa di vincoli sia economici che tecnici. Alcuni svantaggi significativi delle tecniche tradizionali sono l'incompleta rimozione dei metalli, alte esigenze di reagenti e di energia, produzione di fanghi tossici e di altri prodotti di scarto di difficile gestione, alti costi

quando le concentrazioni di inquinanti sono nel range 10÷100 mg/l (Sag e Kutsal, 1995). Inoltre, lavorando con alte concentrazioni di metalli pesanti, le tecniche tradizionali di rimozione dei metalli non funzionano in modo efficiente o non riducono le concentrazioni dei metalli sotto gli standard regolamentari. Molte acque di scarico oltre i metalli pesanti contengono sostanze organiche, agenti complessanti, metalli alcalino-terrosi che possono ridurre la capacità di rimozione dei metalli pesanti delle tecniche tradizionali (Brower, Ryan e Pazirandeh., 1997). In questo caso diventa necessario fare una prima precipitazione seguita da un ulteriore trattamento di purificazione per adeguare gli scarichi agli standard: esistono quindi, alcuni casi in cui le tecniche tradizionali non sono idonee per rimuovere metalli pesanti dalle acque di scarico.

3.2 Bioadsorbimento

3.2.1 Definizione

La ricerca di un nuovo materiale adsorbente a basso costo e facilmente reperibile, ha portato allo studio di nuove tecniche di depurazione (Schneider e Rubio, 1995): batteri alghe, funghi e lieviti possono rimuovere metalli pesanti e radionuclidi da soluzioni acquose.

Il termine bioadsorbimento è stato coniato per indicare la proprietà di alcuni tipi di biomasse microbiche inattive e morte, di legare e concentrare metalli pesanti anche a partire da soluzioni acquose molto diluite. Le biomasse esibiscono questa proprietà agendo proprio come una sostanza chimica, come uno scambiatore ionico di origine biologica. In particolare, è la struttura della parete cellulare di alcune alghe, funghi e batteri ad essere ritenuta responsabile dell'accumulo dei metalli pesanti. Al contrario del bioadsorbimento, la bioaccumulazione è un processo attivo guidato metabolicamente che avviene solo con cellule vive (Volesky, 1986). Il fenomeno del bioadsorbimento è stato considerato come possibile strumento per l'utilizzazione di sistemi biologici per la rimozione dei metalli dalle acque reflue o da acque di dilavamento di depositi minerari d'origine antropica. Il bioadsorbimento potrebbe inoltre essere utilizzato anche per il recupero di metalli preziosi, quali argento e oro, e di radionuclidi.

Il bioadsorbimento offre alcuni vantaggi se comparato con le tecnologie esistenti per la rimozione dei metalli pesanti dalle acque di scarico. Il primo vantaggio è la possibilità di utilizzare come materiali adsorbenti delle biomasse di scarto a basso costo, che tuttavia per essere utilizzate in impianti di depurazione tradizionali necessitano di una fase di immobilizzazione. Il secondo grande vantaggio è la capacità di alcune biomasse di rimuovere totalmente i metalli pesanti anche a concentrazioni bassissime (10 ppm) dove la maggior parte delle tecniche tradizionali falliscono o diventano antieconomiche.

Il bioadsorbimento si pone come alternativa ai convenzionali processi di rimozione dei metalli che avviene prevalentemente con resine scambiatrici di ioni. Pertanto la bioaccumulazione costituisce il trattamento finale di un processo di depurazione le cui prime fasi sono generalmente costituite da tecniche convenzionali quali precipitazione di ioni con reagenti opportuni, estrazione con solvente etc.

3.2.2 Materiali bioadsorbenti

I materiali bioadsorbenti maggiormente utilizzati possono essere così suddivisi:

- biomasse di funghi, lieviti e batteri
- biomasse di alghe
- biopolimeri

Biomasse di funghi, lieviti e batteri

Le biomasse possono essere coltivate o di scarto; la biomassa coltivata in un fermentatore può essere di un ceppo misto presente tal quale in natura, o di un ceppo selezionato o ancora di uno ingegnerizzato nel tentativo di accrescerne le proprietà adsorbenti. Si è anche provato a utilizzare dei ceppi batterici che raccolti in ambienti contaminati da metalli pesanti, presentano delle inusuali capacità nel legare i metalli pesanti attraverso elevate produzioni di esopolisaccaridi. Si è anche tentato di trattare chimicamente la biomassa per incrementarne le capacità adsorbenti e la resistenza meccanica: le modificazioni chimiche possono includere trattamenti con acidi, alcali, CS_2 , POCl_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{NaCO}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, $\text{HOC}_6\text{H}_6\text{SO}_3$ etc.

Le biomasse di scarto possono essere ottenute in modo economico da processi industriali fermentativi. Ad esempio il fungo del ceppo *Aspergillus* è usato in molti processi fermentativi per la produzione di acidi organici (gallico, citrico) e di enzimi (amilasi, glucosio isomerasi, pectinasi, lipasi, gluconasi). Il *Saccharomices cerevisiae* è molto usato nell'industria alimentare e delle bevande. La biomassa può quindi essere ottenuta in modo semplice ed economico e in grandi quantità come sottoprodotto di questi impianti industriali di fermentazione. In questo modo è risolto anche il problema dello smaltimento di queste biomasse da parte delle stesse industrie che le producono.

Biomasse di alghe

Un'altra fonte economica di biomassa è l'oceano in cui sono presenti grandi quantità di differenti tipi di microalghe, alcune delle quali hanno dimostrato buone capacità adsorbenti nei confronti dei metalli pesanti e dei radionuclidi. Le alghe marroni in particolare sono molto adatte

per legare gli ioni metallici, probabilmente a causa del loro alto contenuto di polisaccaridi. Si pensa che il bioadsorbimento da parte di queste alghe nei confronti dei metalli pesanti avvenga in due fasi: una rapida reazione superficiale e una più lenta cattura del metallo. La prima fase è attribuita ad un adsorbimento superficiale soprattutto basato su uno scambio ionico con la partecipazione del gruppo carbossile dell'acido urico. La seconda fase rappresenta la diffusione degli ioni nella struttura cellulare.

Sebbene le alghe marine abbiano mostrato capacità adsorbenti estremamente elevate, queste tendevano a disgregarsi e rigonfiarsi in acqua, il che impediva il loro utilizzo in colonna. Come con il chitosano, la reticolazione ha migliorato la stabilità e le proprietà meccaniche delle alghe.

Biopolimeri

Un ultimo tipo di materiale bioadsorbente è costituito da biopolimeri in generale e, in particolare, da materiali di origine cellulosica molto abbondanti in natura. La necessità di un materiale bioadsorbente a basso costo ha fatto sì che l'attenzione dei ricercatori si focalizzasse su materiali organici di scarto dell'industria agricola, quali lana, riso, paglia, involucri delle noci di cocco, muschio di torba, corteccia di alberi, bucce e pelli di arachidi, piante da coltivazione (tabacco, pomodori). Questi materiali a basso costo potrebbero essere particolarmente adatti per l'applicazione in piccole industrie e in paesi in via di sviluppo. Tali materiali spesso richiedono un pretrattamento per aumentare le capacità adsorbenti o evitare problemi legati al rilascio di sostanze dalla matrice solida; tale costo è però spesso ammortizzato dalle aumentate prestazioni.

I principali biopolimeri utilizzati per studi di bioadsorbimento di metalli pesanti sono:

- Corteccia e altri materiali ricchi di tannino
- Lignina
- Chitina e chitosano
- Xanthato
- Alginati

3.2.3 Meccanismi di bioadsorbimento

La complessità della struttura dei microrganismi comporta diversi meccanismi d'accumulo del metallo, legati ai numerosi siti attivi che l'enorme varietà delle specie microbiche note può offrire. I meccanismi di bioadsorbimento sono perciò vari e in alcuni casi non ancora ben chiari.

I meccanismi di bioadsorbimento possono essere classificati secondo vari criteri come è possibile vedere in Figura 1 (Vegliò e Beolchini, 1997); se guardiamo alla dipendenza dal metabolismo delle cellule, i meccanismi di bioaccumulazione possono essere divisi in:

- 1) Meccanismi metabolismo dipendenti
- 2) Meccanismi metabolismo indipendenti

Se si considera invece dove il metallo rimosso viene accumulato, possiamo distinguere tre diversi tipi di meccanismi di accumulazione:

- 1) accumulazione extracellulare/precipitazione
- 2) adsorbimento superficiale/precipitazione
- 3) accumulazione intracellulare

Figura 1: Meccanismi di bioadsorbimento

Meccanismi di bioadsorbimento indipendenti dal metabolismo cellulare

I processi basati su questo tipo di meccanismi sono molto veloci e, in genere, reversibili. Inoltre il fenomeno del bioadsorbimento si verifica sia con biomassa vivente che con biomassa non vivente. L'uso di microrganismi privi di vita elimina l'eventuale problema della tossicità del metallo; è inoltre economicamente vantaggioso dal momento che la gestione del materiale non vivente è più facile. Per i meccanismi indipendenti dal metabolismo cellulare, in letteratura si usa spesso il termine generico di adsorbimento. In realtà in queste categorie sono incluse tutte le possibili interazioni chimico-fisiche tra metallo e parete cellulare, basate sui seguenti fenomeni:

- a) adsorbimento fisico
- b) formazione di complessi
- c) precipitazione
- d) scambio ionico

I polisaccaridi, le proteine e i lipidi della parete cellulare sono i componenti dei microrganismi ai quali è attribuita gran parte del processo di bioadsorbimento metabolismo-indipendente. Si tratta di biomolecole provviste di numerosi gruppi funzionali in grado di legare i metalli, pur con diverso potere coordinante. Spesso i fenomeni citati avvengono anche contemporaneamente uno all'altro. Vediamo degli esempi tratti dalla letteratura.

Meccanismi di bioadsorbimento dipendenti dal metabolismo cellulare

I meccanismi di bioaccumulazione di cationi dipendenti dai processi metabolici dei microrganismi, sono spesso associati ad un sistema attivo di difesa dei microrganismi stessi. In definitiva, il microrganismo reagisce alla presenza di un dato centro metallico tossico, incrementando, ad esempio, la produzione degli esopolisaccaridi responsabili del processo di bioadsorbimento. Sfortunatamente, è proprio la tossicità di certi elementi che rende difficile determinare l'effetto di alte concentrazioni del metallo sulla bioaccumulazione. Questo comportamento è stato verificato, ad esempio, con i batteri appartenenti ai generi *Arthrobacter*, *Pseudomonas* e *Klebsiella*: alcuni di essi in presenza di cadmio sono produttori di esopolisaccaridi. La produzione di polimeri esterni permette di legare il cadmio ad una distanza sufficientemente grande da evitare il potenziale danneggiamento della cellula. I microrganismi non in grado di secernere polisaccaridi hanno invece un sistema di detossificazione che permette la precipitazione del cadmio internamente alla cellula.

Un altro mezzo di difesa da elementi tossici è la trasformazione di questi ultimi in composti volatili.

Per la natura dei processi di bioaccumulazione legati a meccanismi dipendenti dal metabolismo cellulare, il processo di rimozione dei metalli dalle soluzioni risulta più lento e molto spesso si verificano contemporaneamente anche fenomeni di bioadsorbimento non legati all'attività metabolica.

In termini riassuntivi, l'interazione tra cationi metallici in fase acquosa e biomassa è riconducibile a due meccanismi fondamentali:

- a) adsorbimento non metabolismo-dipendente controllato prevalentemente da interazioni elettrostatiche o covalenti
- b) adsorbimento metabolismo-dipendente che, in associazione ad un meccanismo di tipo a) si realizza con un fenomeno complesso che può portare fino alla precipitazione del centro metallico sulla parete cellulare o alla sua internalizzazione da parte del microrganismo.

3.2.4 Fattori influenzanti il bioadsorbimento

In letteratura sono riportati i lavori di autori differenti relativi ad esperimenti di bioaccumulazione da parte di biomassa libera in soluzione; tuttavia questi lavori non possono di norma essere confrontati direttamente poiché in pratica le condizioni operative sono diverse, pur essendo, in alcuni casi, nominalmente uguali. Da un'analisi complessiva dei risultati si possono in ogni modo fare le seguenti osservazioni.

Effetto della temperatura

Il campo di variabilità della temperatura sia per le biomasse viventi che per le non-viventi è limitato a 40-50°C, per non denaturare le biomolecole esistenti sulla superficie delle cellule. L'andamento delle isoterme di adsorbimento dipende dal tipo di legame (fisico o chimico) che si instaura tra gli ioni e i siti attivi dei gruppi funzionali. Le reazioni di adsorbimento fisico sono normalmente esotermiche e quindi favorite dalla diminuzione della temperatura. Se il meccanismo principale del processo è invece l'adsorbimento chimico, esso può essere esotermico o endotermico, favorito nel secondo caso dalle alte temperature. Inoltre un incremento di temperatura è responsabile dell'eventuale rottura di alcuni legami interni per i più intensi moti vibrazionali e favorisce la diffusione degli ioni nella biomassa.

E' riportato di seguito l'esempio di Gupta (1998) che ha riscontrato che l'accumulo di Cu^{2+} e di Ni^{2+} da parte di un fango attivo, aumenta all'aumentare della temperatura da 30 a 40 °C (Figura 2).

Questo potrebbe essere dovuto al cambiamento delle dimensioni dei pori dell'adsorbente oppure all'aumento del numero dei siti di adsorbimento causato dalla rottura ad alte temperature di alcuni legami interni sul bioadsorbente. L'aumento della velocità di diffusione intraparticellare di Cu^{2+} e Ni^{2+} nei pori dell'adsorbente ad alte temperature, potrebbe inoltre contribuire all'aumento dell'accumulo perché la diffusione è un processo endotermico.

Figura 2: Isoterme di adsorbimento del Nichel adsorbito da fanghi attivi a varie temperature (Gupta, 1998).

Effetto del pH

Il pH gioca un ruolo spesso determinante nei fenomeni di bioadsorbimento dei metalli pesanti. E' noto che i potenziali siti di legame nei biopolimeri e negli organismi non viventi, sono carbossilati, ammine, fosfati, solfati, idrossidi e altri gruppi funzionali. Attraverso studi di carica superficiale, è stato trovato che la disponibilità e la natura dei siti liberi dipende dal pH. E' stato trovato che per bassi valori di pH gli ioni H_3O^+ entrano in competizione per i siti leganti con le specie cationiche del metallo: si ha di conseguenza un minor accumulo. In base a questa proprietà per rigenerare il materiale bioadsorbente vengono spesso utilizzati dei lavaggi con soluzioni acide. E' stato inoltre osservato che sono disponibili più siti per l'adsorbimento del metallo lavorando a valori più alti di pH.

I dati sperimentali dell'equilibrio di adsorbimento si dispongono generalmente secondo due tipi di curve, rappresentative dei diversi meccanismi di rimozione degli ioni. Queste si presentano con una caratteristica forma ad "S", oppure mostrano un andamento crescente con il pH fino ad un valore massimo, per poi decrescere in ambiente basico.

Le curve si differenziano ad alti valori di pH quando, in relazione al tipo di ioni, diventa probabile la formazione di complessi per mezzo degli idrossidi presenti, che precipitando all'interno della soluzione sottraggono gli ioni dal legame con il biomateriale facendo diminuire la quantità rimossa. Gli idrossidi metallici sono la specie chimica dominante in soluzione basica e danno origine a cationi monovalenti quali $\text{Me}(\text{OH})^+$. Se questi non mostrano attitudine a complessare, le capacità adsorbenti permangono invariate intorno al valore massimo e le curve presentano il tipico andamento a S.

In ambiente fortemente acido l'adsorbimento è impedito dagli ioni idrogeno che competono con gli altri cationi presenti in soluzione, per legarsi ai gruppi funzionali sulla superficie della biomassa. Essi si rivelano altamente competitivi nei confronti di tutte le altre specie trattate a causa dell'intenso campo elettrico di cui dispongono e della loro elevata mobilità. A bassi valori di pH i legami tra i metalli pesanti e le cellule microbiche possono subire delle modificazioni, dovute alla natura delle interazioni chimiche e al punto isoelettrico delle cellule stesse, che rappresenta il pH

per il quale la cellula possiede carica complessiva nulla. Prima di tale punto la superficie della biomassa presenta un eccesso di carica positiva, dovuta alla protonazione dei gruppi funzionali che inibisce l'adsorbimento dei cationi. Le interazioni elettrostatiche con la parete cellulare sono favorite oltre il punto isoelettrico, quando i gruppi carbossilico, amminico e solfato delle proteine presenti si caricano negativamente, permettendo l'avvicinamento degli ioni metallici e la successiva reazione superficiale (precipitazione, scambio ionico o adsorbimento fisico).

Per ogni tipo di biomassa e di ione metallico adsorbito si può definire un valore di pH ottimale a cui corrisponde la massima quantità rimossa, a parità di condizioni.

Un esempio è fornito dal *Rhizopus nigricans* (Figura 3) un bioprodotto di scarto delle industrie farmaceutiche, utilizzato nella eliminazione del piombo. A pH=2 gli ioni idrogeno presenti in numero preponderante rispetto agli altri competono con il metallo nell'adsorbirsi ai siti di legame disponibili; l'effetto negativo si riduce via via che si aumenta il pH. Il limite a tale incremento è rappresentato dalla formazione a pH=5 di idrossidi di piombo insolubili, che precipitando nella soluzione impediscono la rimozione del metallo stesso, impedendo il superamento di tale valore.

Figura 3: Isoterme Effetto del pH sulla rimozione del piombo da *Rhizopus nigricans* (Zhang e Yaoting, 1998).

Effetto della forza ionica

La forza ionica gioca un ruolo importante nel bioadsorbimento dei metalli pesanti: come effetto generale all'aumentare della forza ionica diminuisce l'adsorbimento degli ioni metallici in soluzione.

Lee et al., usando residui di mela, hanno trovato che fino a valori di concentrazione di cloruro di sodio pari a 0,1 N la diminuzione nella rimozione dei cationi è trascurabile, divenendo più

significativa intorno ad 1 N con un decremento per il rame del 30%. Nello scambio ionico sono favoriti gli ioni ad alta valenza (Cu^{2+} e Pb^{2+}) rispetto al sodio monovalente, ma ad alte concentrazioni questi ricoprono tutta la superficie della biomassa impedendo che si leghino i metalli.

Anche nel caso di biopolimeri, come l'alginato, si nota lo stesso effetto della forza ionica: l'accumulo di rame da parte di alginato non risente dell'effetto della forza ionica se questa varia fra 0.005 e 0.05 M, ma sopra 0.5 M, la quantità di metallo legato diminuisce drammaticamente: la competizione per i gruppi funzionali tra rame e altri ioni gioca un ruolo importante nel bioadsorbimento. Infatti, essendo fisso il numero di gruppi funzionali ad un dato pH, i siti disponibili per l'accumulo di rame diminuiscono all'aumentare della forza ionica e quindi la rimozione di rame diminuisce all'aumentare della forza ionica. Da questi risultati si può trarre un'informazione importante sul meccanismo di accumulo degli ioni metallici da parte dei diversi bioadsorbenti: se l'accumulo di metallo è sensibile ai cambiamenti in concentrazione dell'elettrolita di supporto, significa che l'attrazione elettrostatica è il meccanismo predominante con cui il metallo viene legato.

Effetto della concentrazione della biomassa

La concentrazione della biomassa in soluzione influenza l'accumulo specifico dei metalli; concentrazioni più basse del materiale bioadsorbente danno luogo ad un maggior accumulo per unità in peso di biomassa.

Questo fenomeno è stato spiegato da Gadd et al. (1988); secondo gli autori, le interazioni elettrostatiche tra le cellule possono essere un fattore importante nella dipendenza della bioaccumulazione dalla concentrazione dei microrganismi: l'adsorbimento specifico è relativamente più alto quando la distanza tra le cellule è maggiore; Fourest e Roux hanno invalidato questa ipotesi, attribuendo la responsabilità della diminuzione dell'accumulo specifico alla deficienza in soluzione del metallo (Fourest e Roux, 1992). Comunque, questo fattore dovrebbe essere preso in considerazione in ogni applicazione di biomassa come materiale adsorbente. Nel caso dell'accumulo simultaneo di piombo, zinco, rame e cadmio usando l'alga *Chlorella vulgaris* (Pascucci, 1993), si è riscontrato che aumentare la massa di alga nel campione è il metodo migliore per incrementare la quantità di metalli rimossi in soluzione. Tuttavia lavorare con una soluzione satura di alghe è poco maneggevole perché presenta problemi di decantazione.

Effetto dei trattamenti chimici

I pretrattamenti chimici possono migliorare le capacità adsorbenti delle biomasse, agendo sui gruppi funzionali presenti sulla superficie della parete cellulare.

In genere il trattamento con acido non influisce sul potere di rimozione dei metalli, lasciando invariata l'isoterma di adsorbimento ottenuta senza trattamenti. Il lavaggio pulendo la superficie delle cellule dalle impurità (come K^+), lascia inalterata l'attività biologica superficiale e stabilizza i siti attivi. Gli ioni idrogeno si legano ai gruppi polisaccaridi, bloccando alcuni siti attivi ed entrando in competizione con i cationi metallici in soluzione. Non raggiungendo la saturazione, le capacità adsorbenti della biomassa restano costanti. Un incremento significativo delle stesse si ottiene invece con un lavaggio alcalino, che oltre a favorire la formazione di nuovi siti di legame ad opera degli ioni OH^- , produce un'attrazione elettrostatica notevole tra la parete cellulare carica negativamente e gli ioni metallici. L'effetto ottenuto si manifesta anche trattando le biomasse con altre basi forti come KOH, con un miglioramento del potere adsorbente tanto maggiore, quanto più è alta la concentrazione di idrossido in soluzione. Risultati simili si riscontrano su diversi microrganismi batterici come il *Rhizopus nigricans*, in cui la soda caustica favorisce l'idrolisi dei gruppi acetile e il contemporaneo rilascio delle ammine presenti sulla superficie delle cellule, responsabili in larga parte del bioadsorbimento dei cationi. I trattamenti con NaOH accrescono i siti attivi e di conseguenza aumentano gli ioni Pb^{2+} che si legano alla biomassa non-vivente, raddoppiando la quantità adsorbita.

Il lavaggio con acqua distillata mostra una diminuzione degli ioni rimossi per il degradamento della biomassa. In tutti i trattamenti che si realizzano si deve necessariamente tenere conto dei tempi aggiuntivi e dei costi che questi comportano.

3.2.5 Configurazioni reattoristiche per processi di bioadsorbimento

Nonostante i molti sforzi nell'ambito della ricerca, solo pochi processi di bioadsorbimento hanno trovato applicazione industriale: è infatti evidente che un nuovo processo di bioadsorbimento di metalli pesanti, per essere accettato, deve essere economicamente competitivo e funzionare bene, almeno come i trattamenti già esistenti e in uso. Per queste ragioni c'è ancora bisogno di ricerca e sviluppo per realizzare dei sistemi che siano efficaci e competitivi nel trattamento delle acque di scarico.

Un processo ottimale per la rimozione dei metalli in soluzioni acquose da parte della biomassa, deve avere le seguenti caratteristiche:

- rapidità ed efficienza nelle fasi di adsorbimento del metallo e di rigenerazione del materiale adsorbente;
- economicità del materiale adsorbente e suo riutilizzo in più cicli;

- economicità dell'agente usato nella rigenerazione;
- moderate riduzioni della capacità di accumulo del materiale adsorbente durante la rigenerazione.

Di seguito viene riportata una breve rassegna sulle principali configurazioni reattoristiche che possono essere utilizzate nello sviluppo di processi di bioadsorbimento su scala più ampia.

L'utilizzo di reattori batch con biomassa libera assicura un buon contatto tra soluzione ed adsorbato, ma presenta differenti svantaggi quali

- minor efficienza dei processi continui a causa dei tempi morti di *start-up* e di *shut-down*;
- alto capitale per il costo delle apparecchiature a causa della loro bassa produttività;
- variazione del prodotto da *batch* a *batch*;
- necessità di separare le cellule alla fine del processo;
- trattamenti a valle del processo per ridurre la concentrazione delle cellule negli scarichi al di sotto dei limiti consentiti.

D'altra parte, nonostante mettere a contatto grandi volumi di soluzioni acquose dei metalli con le biomasse microbiche in unità convenzionali di processo per gli svantaggi sopra elencati, le inadeguate proprietà meccaniche della biomassa rendono impossibile mettere questi bioadsorbenti tal quali in colonna. La collocazione della biomassa all'interno di strutture solide e chimicamente accessibili, operazione chiamata immobilizzazione, può produrre invece particelle meccanicamente forti e rigide, con caratteristiche simili a quelle dei convenzionali materiali adsorbenti quali resine a scambio ionico e carboni attivi; in questo modo la biomassa può essere utilizzata in colonne a flusso continuo, in cicli ripetuti di assorbimento-desorbimento attraverso un'operazione di rigenerazione.

Tecniche di immobilizzazione

In conformità a queste considerazioni sono state sviluppate diverse tecniche di immobilizzazione dei microrganismi, basate essenzialmente sui seguenti fenomeni:

- a) adsorbimento su supporti inerti;
- b) legami covalenti a composti vettori;
- c) intrappolamento in matrici polimeriche;
- d) reticolazione, mediante l'aggiunta di opportuni agenti chimici polifunzionali.

a) Adsorbimento su supporti inerti

Le tecniche basate su questo fenomeno si articolano in tre fasi:

1. introduzione dei supporti nel fermentatore
2. sterilizzazione
3. inoculo

Dopo qualche giorno si assiste alla comparsa di un biofilm di microrganismi a rivestimento dei supporti; in questo modo la biomassa ha le caratteristiche indispensabili per l'uso in colonne a flusso continuo. Questa tecnica è stata adottata da numerosi autori.

b) Legami covalenti a composti vettori

Nelle tecniche basate sull'instaurarsi di legami covalenti, il composto vettore (carrier) più impiegato è il gel di silice; i microrganismi più comunemente immobilizzati in questo modo sono le alghe.

c) Intrappolamento in matrici polimeriche

I polimeri più usati per intrappolare i microrganismi sono l'alginato, la poliacrilammide, il polisolfone e la polietilenammina.

c) Reticolazione

L'aggiunta di un opportuno agente reticolante (cross-linker) determina la formazione di aggregati cellulari stabili. Questa tecnica è usata prevalentemente per immobilizzare le alghe, usando come cross-linkers i seguenti composti chimici:

- formaldeide;
- dialdeide glutarica;
- divinilsolfone;
- miscela di urea e formaldeide.

Il confronto tra le diverse tecniche di immobilizzazione dei microrganismi pone in evidenza i loro lati positivi e negativi. I più importanti vantaggi apportati all'immobilizzazione sono:

- opportunità di sviluppare un processo continuo più efficiente: la biomassa è confinata in un reattore e l'alimentazione può essere pompata in continuo;
- recupero e riutilizzo della biomassa;
- migliori possibilità di controllo del processo.

I problemi connessi all'utilizzo di cellule immobilizzate sono invece:

- perdita di attività: il materiale adsorbente, preparato sfruttando adsorbimento o legami covalenti, contiene una minor quantità di biomassa per unità di volume rispetto a quello ottenuto per intrappolamento o per reticolazione;
- l'aumento della resistenza al trasporto di materia: l'immobilizzazione per intrappolamento o per reticolazione dà luogo a più rilevanti problemi di diffusione,

soprattutto nel caso di gel o di reticoli molto stretti, rispetto a quella per adsorbimento o per legami covalenti;

- possibilità di contaminazioni delle colture microbiche durante l'immobilizzazione;
- costi aggiuntivi dovuti allo stadio di immobilizzazione.

3.2.6 Tecnologie esistenti

La fonte della biomassa di scarto e il costo dell'immobilizzazione (se richiesto) sono i fattori importanti nel determinare il costo globale del materiale bioadsorbente. Spesso si considera l'immobilizzazione come lo step costoso nella preparazione del bioadsorbente; sorprendentemente, il costo dell'immobilizzazione non è molto alto perché la biomassa non richiede una grande quantità di materiale di supporto. L'ottenimento della biomassa grezza è uno dei più importanti fattori nel determinare il costo totale del materiale bioadsorbente. Il costo totale del processo di bioadsorbimento dipende da fattori quali la capacità adsorbenti della biomassa, la cinetica del processo, la facilità ed il limite della rigenerazione.

Svariati processi di bioadsorbimento sono in via di sviluppo o sono stati sviluppati, brevettati e introdotti come tecniche di rimozione dei metalli contaminanti da acque superficiali e del sottosuolo; Brierley (1990) ha descritto lo stato dell'arte di queste tecnologie specifiche. Le più importanti sono le seguenti:

1. BIOCLAIM: questo processo impiega microorganismi, soprattutto batteri del genere *Bacillus*, che sono stati
 - trattati con soluzioni fortemente caustiche per aumentare l'accumulo dei metalli
 - lavati con acqua per rimuovere i residui caustici
 - immobilizzati in beads usando polietilenimina (PEI) e glutaraldeide;
2. AlgaSORB: in questa tipologia di processo rientrano vari tipi di alghe non viventi e svariate matrici di immobilizzazione;
3. BIO-FIX: questo processo consiste nell'immobilizzare una biomassa di alghe, lieviti, muschi, batteri e flora acquatica, in polisulfone;
4. Biomassa immobilizzata di *Rhizopus arrhizus*: questo processo utilizza una biomassa immobilizzata del fungo *Rhizopus Arrhizus* e ha trovato applicazione nel recupero dell'uranio dalle soluzioni di biolisciviazione del minerale.

3.3 Modelli per il bioadsorbimento

3.3.1 Classificazione dei modelli di equilibrio

I modelli interpretativi per l'adsorbimento di metalli pesanti in soluzione sono descrizioni matematiche della distribuzione all'equilibrio di ioni metallici tra la fase liquida e la fase solida, in funzione delle condizioni al contorno.

Un modello può avere due diversi obiettivi:

1. la descrizione empirica di un comportamento osservato sperimentalmente che sia la più generale possibile in relazione alle differenti condizioni al contorno;
2. la comprensione e la descrizione del meccanismo di base coinvolto nel processo studiato.

A seconda dell'obiettivo che si prefiggono, i modelli possono essere quindi suddivisi in:

- *modelli empirici*,
- *modelli chimico-fisici*.

Nei modelli empirici la forma del modello è scelta a posteriori a seconda del profilo dei dati sperimentali di adsorbimento. La forma matematica deve essere la più semplice possibile e il numero dei parametri minimo. Nessuna cura particolare viene data al meccanismo e quindi i parametri hanno una validità molto limitata; nonostante questi limiti i modelli empirici sono molto utilizzati quando l'obiettivo è la descrizione empirica di un comportamento sperimentale perché evitano complicazioni non necessarie.

Nei modelli chimico-fisici la forma matematica del modello è scelta a priori in base alla conoscenza o ad assunzioni fatte sulle reazioni tra fase solida e liquida coinvolte nell'adsorbimento con lo scopo di descrivere in maniera predittiva il comportamento del sistema al variare delle condizioni operative (pH, forza ionica, sistemi multicomponenti, ligandi organici in soluzione....). In questo caso, la forma matematica del modello può essere anche molto complicata (un set di equazioni di equilibrio legate dai bilanci di materia dei vari componenti con eventuali termini di correzione elettrostatica) ed il numero dei parametri da stimare (numero totale dei siti, costanti di equilibrio e potenziale elettrostatico) è alto. Un modello chimico-fisico richiede quindi un alto numero di prove sperimentali in un ampio intervallo delle grandezze investigate, ma permette di ottenere informazioni sul meccanismo e sui parametri che assumono valenza chimico-fisica.

3.3.2 Modelli di equilibrio empirici

I modelli empirici descrivono attraverso una semplice relazione matematica (l'isoterma di adsorbimento) la relazione tra le concentrazioni all'equilibrio dello ione metallico sull'adsorbente e in soluzione acquosa in determinate condizioni operative di temperatura, pH e forza ionica.

I modelli empirici vengono definiti in letteratura come General Purpose Adsorption Isotherms: la loro applicazione ha successo specialmente quando si studia un processo di

adsorbimento di un singolo metallo in condizioni di pH e forza ionica costante. La determinazione dei parametri caratteristici richiede soltanto una sperimentazione di tipo batch in cui una quantità nota di adsorbente (G) è sospesa in soluzione acquosa con una certa concentrazione iniziale (C_0) del metallo da adsorbire. Raggiunte le condizioni di equilibrio, previamente determinate tramite prove cinetiche ad hoc, si separa la fase solida da quella liquida e si misura la concentrazione residua (C_f) del metallo in soluzione. La quantità specifica di metallo adsorbito (q:concentrazione del metallo in fase solida all'equilibrio) può quindi essere calcolata in base al bilancio di materia:

$$q = \frac{C_0 \cdot V_0 - C_f \cdot V_f}{G} \quad (1)$$

dove V_0 e V_f sono i volumi iniziali e finali della sospensione. In genere si effettuano più prove di adsorbimento con concentrazioni iniziali di metallo variabili in modo da ottenere tutta l'isoterma di adsorbimento riportando q vs. C_f . Ottenuto il profilo dell'isoterma, i parametri caratteristici possono essere determinati usando metodi di regressione lineare e non lineare.

Nonostante le critiche mosse per la mancanza di significato fisico dei parametri, questi modelli continuano ad essere molto utilizzati in letteratura per la loro semplicità e anche per l'introduzione di nuove forme in grado di considerare la presenza di più ioni in soluzione e l'eterogeneità superficiale dell'adsorbente. A causa della natura empirica, la scelta del modello di adsorbimento più adeguato è basata solo sulla migliore capacità di rappresentare i dati sperimentali. La discriminazione fra i modelli può essere effettuata mediante l'utilizzo di semplici procedure statistiche quali l'analisi della varianza e i test d'ipotesi, il confronto di parametri quali il coefficiente di determinazione e l'analisi della distribuzione dei residui.

In generale le equazioni di equilibrio relative a modelli empirici possono essere equazioni derivate da modelli teorici sviluppati per sistemi fisici differenti (come l'isoterma di Langmuir) o equazioni prettamente empiriche prive di alcuna base teorica.

Sistemi monocomponente

In tabella 2 vengono riportate le isoterme di adsorbimento generalmente utilizzate per sistemi monocomponente in condizioni operative costanti di pH, forza ionica e temperatura.

Tra tutti i modelli empirici l'isoterma di Langmuir gioca un ruolo chiave non solo perché è quella maggiormente utilizzata ma anche perché come si vedrà in seguito diverse altre relazioni di equilibrio ottenute prendendo in considerazione differenti fattori operativi convergono in una forma matematica riconducibile alla Langmuir.

Isoterma	Equazione
----------	-----------

Langmuir	$q = \frac{q_m b C}{1 + b C}$	(2)
Freundlich	$q = K C^{1/n}$	(3)
Sips	$q = \frac{q_m (b C)^{1/n}}{1 + (b C)^{1/n}}$	(4)
Redlich-Peterson	$q = \frac{q_m b C}{1 + (b C)^a}$	(5)
Toth	$q = \frac{q_m b C}{[1 + (b C)^a]^{1/a}}$	(6)

Tabella 2: Isoterme empiriche per sistemi monocomponente

L'isoterma di Langmuir è stata derivata originariamente per descrivere l'adsorbimento di gas su superfici piane di vetro, mica e platino (Langmuir, 1918). La derivazione teorica del modello di Langmuir è basata su diverse ipotesi quali superficie piane omogenee con un solo tipo di siti attivi, ogni sito è capace di adsorbire una molecola in un monostrato, reversibilità della reazione di adsorbimento, molecole adsorbite incapaci di muoversi lateralmente sulla superficie, stessa energia di adsorbimento per tutti i siti indipendentemente dal grado di ricoprimento della superficie, interazione trascurabile tra le molecole adsorbite. Queste assunzioni, non sempre valide nel caso di adsorbimento di gas su superfici metalliche, sono completamente lontane dalla realtà chimico-fisica dell'adsorbimento di ioni metallici su una matrice biologica. Tuttavia l'isoterma di Langmuir è stata adattata al caso di metalli in soluzione, sostituendo alle pressioni parziali dei gas le concentrazioni dei metalli in soluzione.

L'isoterma di Langmuir è stata derivata originariamente definendo le velocità di adsorbimento (r_A) e di desorbimento (r_D) rispettivamente come

$$r_A = k_A C(1 - \theta) \quad (7)$$

$$r_D = k_D \theta \quad (8)$$

dove k_A e k_D sono le costanti cinetiche di adsorbimento e di desorbimento, C è la concentrazione di soluto non adsorbito, θ è la frazione di superficie risoperta dal soluto adsorbito $\theta = q_{eq}/q_{max}$ dove q_{max} è la quantità di soluto adsorbito per unità di peso dell'adsorbente necessaria a saturare un monostrato.

All'equilibrio le due velocità sono uguali per cui

$$\frac{\theta}{1-\theta} = \frac{k_A}{k_D} C_{eq} = bC_{eq} \quad (9)$$

da cui riarrangiando si ottiene la ben nota espressione

$$\theta = \frac{q_{eq}}{q_{\max}} = \frac{bC_{eq}}{1+bC_{eq}} \quad (10)$$

ed infine

$$q_{eq} = \frac{q_{\max} b C_{eq}}{1 + b C_{eq}} \quad (11)$$

dove $q_{\max}$ e b sono i due parametri caratteristici.

La determinazione dei parametri dell'isoterma di Langmuir può essere effettuata mediante una regressione lineare o non lineare dei dati di adsorbimento. Infatti anche se la Langmuir non è un'equazione lineare nei parametri, si può passare ad una forma linearizzata trasformando opportunamente le variabili. Nella tabella 3 vengono riportate le principali linearizzazioni dell'isoterma di Langmuir.

Isoterma di Langmuir(non lineare nei parametri) $q = \frac{q_m b C}{1 + b C}$		
Linearizzazione Langmuir	$\frac{C}{q} = \frac{1}{q_m b} + \frac{1}{q_m} C$	(12)
Linearizzazione Lineweaver-Burk	$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{q_m b} \frac{1}{C}$	(13)
Linearizzazione Eadie-Hoffsie	$q = q_m + \frac{1}{b} \frac{q}{C}$	(14)
Linearizzazione Scatchard	$\frac{q}{C} = q_m b - b q$	(15)

Tabella 3: Linearizzazioni della isoterma di Langmuir

E' necessario comunque evidenziare il fatto che i parametri calcolati utilizzando lo stesso set di dati sperimentali ma linearizzazioni differenti, risultano generalmente diversi: questo è dovuto al peso improprio o assente associato ad ogni valore della variabile dipendente durante la regressione lineare. Infatti, ogni forma di linearizzazione cambia sia la variabile dipendente che l'errore ad essa associato rispetto alla forma non lineare di partenza.

Risulta quindi necessario pesare opportunamente le variabili del sistema linearizzato rispetto a quello originale (minimi quadrati pesati) o utilizzare un metodo di regressione non lineare.

Sistemi multicomponente

La descrizione dell'adsorbimento di ioni in soluzione su matrici solide richiede spesso l'analisi di sistemi multicomponente in cui è necessario considerare la competizione dei diversi componenti per i siti attivi. Raramente infatti nelle acque reflue o in natura si rileva la presenza di una singola specie metallica tossica, risulta invece più frequente l'inquinamento da parte di una molteplicità di metalli. In particolare possono presentarsi sistemi in cui è necessario studiare l'adsorbimento di differenti metalli pesanti, ma anche casi in cui la competizione è tra metalli pesanti e protoni o metalli pesanti e metalli alcalini e alcalino-terrosi.

I modelli empirici per sistemi multicomponenti sono spesso riadattamenti di modelli empirici monocomponente che hanno lo scopo di considerare l'effetto di altre specie in soluzione. Possono essere distinti a seconda che i parametri aggiustabili siano determinati solamente sulla base delle isoterme monocomponente (*predittivi*), oppure siano aggiunti anche parametri ottenuti da dati di equilibrio di sistemi multicomponente. In questo secondo caso si possono avere modelli in cui coefficienti correttivi sono inseriti nei modelli predittivi per tener conto della non idealità delle interazioni tra specie che si adsorbono (*modelli predittivi con correzioni*) e modelli in cui tutti i parametri sono determinati direttamente sui dati di sistemi mono- e multicomponente insieme (modelli stimati).

3.3.3 Modelli di equilibrio chimico-fisici

I modelli chimico-fisici sono dei modelli che rappresentano il fenomeno dell'adsorbimento attraverso la descrizione di possibili reazioni (acido-base, scambio ionico e complessazione) tra gli ioni in soluzione e la superficie solida.

All'interno di questa classe di modelli si possono distinguere differenti gradi di complessità che deve essere strettamente correlata ad una conoscenza sempre più approfondita e alla caratterizzazione chimico-fisica dell'adsorbente per far sì che i parametri aggiustabili mantengano il loro significato fisico. Si possono quindi distinguere:

- *modelli meccanicistici* ottenuti tramite la combinazione di bilanci di materia dei siti con costanti di equilibrio di reazioni ipotizzate tra specie in soluzione e siti attivi sulla base della caratterizzazione chimico-fisica dell'adsorbente e della speciazione in soluzione degli ioni metallici;

- *modelli meccanicistici con correzioni elettrostatiche* che considerano l'effetto del potenziale generato in soluzione dalla superficie adsorbente carica e permettono di valutare l'effetto della forza ionica;
- *modelli basati sull'eterogeneità dell'adsorbente* che introducono funzioni di distribuzione per le costanti di formazioni dei complessi sito attivo-specie ionica.

Modelli meccanicistici

I modelli meccanicistici si basano su una descrizione particolareggiata delle reazioni fra siti attivi e specie ioniche in soluzione. Come visto precedentemente, il bioadsorbimento è un fenomeno imputabile a reazioni superficiali di vario tipo quali lo *scambio ionico*, la *complessazione*, la *microprecipitazione superficiale* e loro combinazioni, oltre che al generico adsorbimento fisico dovuto ad interazioni aspecifiche tipo van der Waals.

Nello sviluppo di modelli meccanicistici risulta molto importante la caratterizzazione preliminare dell'adsorbente per l'individuazione di possibili siti attivi e la guida nella scelta delle reazioni con i metalli in soluzione.

La caratterizzazione dell'adsorbente viene generalmente effettuata tramite capacità di scambio ionico (CEC), curve di titolazione potenziometriche e conduttometriche e spettrometria IR su solido. L'analisi della curva di titolazione può fornire informazioni preliminari relativamente a concentrazione dei siti e costanti acide di equilibrio.