

# INDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>4</b>
1.1	I METODI NATURALI DI DEPURAZIONE DEI LIQUAMI .....	4
1.2	GENERALITA' SUI SISTEMI DI FITODEPURAZIONE O ZONE UMIDE COSTRUITE (CONSTRUCTED WETLANDS) .....	5
1.3	MECCANISMI DEPURATIVI DELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB-SUPERFICIALE .....	7
1.4	RUOLO DELLE IDROFITE NELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB-SUPERFICIALE .....	7
1.5	RENDIMENTI DEPURATIVI DELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUBSUPERFICIALE .....	8
1.6	RIMOZIONE DI COMPOSTI ORGANICI IN ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUBSUPERFICIALE .....	10
1.7	SCOPO DEL LAVORO DI TESI .....	11
<b>2</b>	<b>PARTE SPERIMENTALE.....</b>	<b>12</b>
2.1	DESCRIZIONE DELL'IMPIANTO PILOTA .....	12
2.2	APPARECCHIATURE.....	16
2.2.1	<i>Spettrofotometro per la determinazione dei parametri di routine .....</i>	<i>16</i>
2.2.2	<i>Gascromatografo ad alta risoluzione con colonna capillare .....</i>	<i>17</i>
2.2.3	<i>Gascromatografo accoppiato a uno spettrometro di massa a impatto elettronico .....</i>	<i>17</i>
2.2.3	<i>Cromatografo liquido ad alta prestazione (HPLC) .....</i>	<i>17</i>
2.2.4	<i>Determinazione di <math>PO_4^{3-}</math>, P, Ca, Mg, Al e Fe.....</i>	<i>18</i>
2.2.5	<i>Campionatore per solidi.....</i>	<i>18</i>
2.3	CAMPIONAMENTO .....	19
2.3.1	<i>Acqua.....</i>	<i>19</i>
2.3.2	<i>Solidi.....</i>	<i>19</i>
2.4	CONCENTRAZIONE A PICCOLO VOLUME DEGLI ESTRATTI ORGANICI .....	19
2.5	REAGENTI E MATERIALI.....	21
2.6	TRATTAMENTO DEI CAMPIONI.....	22
2.6.1	<i>Campioni di acqua: filtrazione ed estrazione .....</i>	<i>22</i>
2.6.2	<i>Analisi dei parametri di routine .....</i>	<i>23</i>
2.6.3	<i>Campioni di solidi .....</i>	<i>23</i>



2.7	DERIVATIZZAZIONI .....	24
2.8	IDENTIFICAZIONE DEI COMPOSTI ORGANICI .....	25
2.9	ANALISI QUALI-QUANTITATIVA DELLA FLORA MICROBICA ADESA ALLE RADICI .....	26
2.10	ANALISI DEGLI INDICI DI CONTAMINAZIONE FECALE .....	26
2.10.1	<i>Metodi di analisi</i> .....	27
2.10.2	<i>MPN Coliformi</i> .....	27
2.10.2.1	Prova presuntiva .....	28
2.10.2.2	Prova di conferma .....	28
2.10.3	<i>MPN streptococchi fecali</i> .....	28
2.10.3.1	Prova presuntiva .....	29
2.10.3.2	Prova di conferma .....	29
2.11	CARATTERIZZAZIONE DEI SUOLI DANESI RISPETTO ALLE LORO PROPRIETA' IDRAULICHE .....	29
2.12	PROVE DISCONTINUE DI RIMOZIONE DEL FOSFORO .....	30
2.13	PROVE DI RIMOZIONE DEL FOSFORO IN CONTINUO SU COLONNE ..	30
<b>3</b>	<b>RISULTATI E DISCUSSIONE .....</b>	<b>32</b>
3.1	ANALISI DEI PARAMETRI DI ROUTINE .....	32
3.1.1	<i>Rimozione dell'azoto</i> .....	32
3.1.1.1	Meccanismi di rimozione .....	32
3.1.1.2	Efficienza di rimozione del sistema SF-h .....	33
3.1.1.3	Efficienza di rimozione del sistema SF-v .....	38
3.1.2	<i>Rimozione della materia organica</i> .....	41
3.1.2.1	Efficienza di rimozione del sistema SF-h .....	41
3.1.2.2	Efficienza di rimozione del sistema SF-v .....	44
3.1.3	<i>Rimozione dei SST</i> .....	46
3.1.4	<i>Rimozione dei fosfati</i> .....	47
3.2	RIMOZIONE DEGLI INDICI DI CONTAMINAZIONE FECALE .....	48
3.3	RIMOZIONE DI COMPOSTI ORGANICI NELLA ZONA UMIDA COSTRUITA SF-H/PT	53
3.4	STUDIO DELLA RIMOZIONE DEL TRITON X-100 .....	54
3.4.1	<i>Messa a punto della procedura analitica</i> .....	54
3.4.2	<i>Descrizione degli esperimenti effettuati</i> .....	59
3.4.3	<i>Analisi chimiche</i> .....	60



3.4.3.1	Confronto tra la gascromatografia e l'HPLC.....	60
3.4.3.2	Composizione delle entrate reali della vasca a 30, 300 e 1000 ppm .....	65
3.4.3.3	Dosaggio di 30 ppm.....	65
3.4.3.4	Dosaggio di 300 ppm.....	68
3.4.3.5	Dosaggio di 1000 ppm.....	71
3.4.4	<i>Analisi microbiologiche .....</i>	73
3.4.5	<i>Valutazione dell'efficienza di rimozione del Triton X-100 da parte dell'impianto pilota</i>	78
3.4.5.1	Bilancio di massa degli etossimeri disciolti nella fase acquosa.....	79
3.4.5.2	Bilancio di massa degli etossimeri nel particolato.....	82
3.4.6	<i>Valutazione dell'efficienza di rimozione attraverso i valori di COD .....</i>	83
3.5	STUDIO DELLA RIMOZIONE DEL FOSFORO DA PARTE DI SUOLI DANESI UTILIZZABILI COME “MEDIUM” IN ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB- SUPERFICIALE .....	85
3.5.1	<i>Origine dei suoli e loro caratterizzazione.....</i>	85
3.5.2	<i>Isoterme di adsorbimento di Langmuir e analisi statistiche relative.....</i>	89
3.5.3	<i>Esperimenti in colonna e analisi statistiche relative.....</i>	96
3.5.4	<i>Frazionamento del fosforo trattenuto in colonna e analisi statistiche relative</i>	99
3.5.5	<i>Conclusioni.....</i>	101
4	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>103</b>



# 1 INTRODUZIONE

## 1.1 I METODI NATURALI DI DEPURAZIONE DEI LIQUAMI

La fitodepurazione è un metodo naturale di trattamento delle acque di scarico.

Con il termine di metodo naturale di trattamento devono essere intese tutte quelle tecniche che fanno ricorso alle capacità di autodepurazione di un determinato sistema ambientale, sia esso naturalmente esistente oppure costruito dall'uomo.

I sistemi naturali di trattamento si rivolgono in modo particolare alla depurazione di liquami civili e possono essere sommariamente suddivisi in due grandi categorie (Kruzic e White, 1996):

Sistemi di smaltimento su terreno (sub-irrigazione, scorrimento superficiale, infiltrazione-percolazione e sistemi di fitodepurazione a flusso idraulico sub-superficiale).

Sistemi acquatici (stagni e sistemi di fitodepurazione a flusso idraulico superficiale).

La sub-irrigazione (subsurface infiltration) consiste nell'immissione del liquame, tramite apposite tubazioni, direttamente al di sotto della superficie del terreno. I sistemi di sub-irrigazione trovano la loro migliore applicazione nel trattamento di liquami di case e ville isolate; tali liquami devono essere previamente condizionati mediante l'uso di vasche tipo Imhoff per abbassarne il contenuto in solidi sospesi.

Lo scorrimento superficiale (overland flow) viene realizzato applicando in modo controllato il liquame su terreno argilloso. La superficie su cui si realizza lo scorrimento deve avere una moderata pendenza (2-6%), deve essere priva di potenziali zone di ristagno (depressioni, protuberanze) e coltivata a prato; l'erba infatti, svolge una azione "filtrante" nei confronti dei solidi sospesi. Alla fine del tratto di scorrimento, un canale di raccolta provvede al recupero del liquame depurato per un eventuale riuso.

L'infiltrazione-percolazione sfrutta invece la presenza di terreno dotato di elevata permeabilità negli strati superiori e caratterizzato da una grande capacità di accumulo in profondità. Il liquame, posto in fosse appositamente costruite, può così percolare a lungo nel terreno realizzando il processo di autodepurazione. Inoltre, una volta raggiunti gli strati inferiori esso può contribuire alla alimentazione di una falda con eventuale uso a scopo agricolo, industriale o, se la qualità lo consente, per scopi idropotabili. Questo sistema può funzionare efficacemente come post-trattamento su liquami con basso contenuto di solidi sospesi.

Fra i sistemi acquatici gli stagni (ponds) possono essere classificati, in base al tipo di attività biologica che in essi si sviluppa, in aerobici-anaerobici, anaerobici ed aerobici (Masotti, 1993). Gli stagni aerobici-anaerobici sono, tra le tre tipologie, i più utilizzati. Il loro nome deriva dalle



condizioni di aerazione (e dalle relative reazioni di degradazione) che si instaurano rispettivamente in superficie e sul fondo del bacino. Sulla superficie dello stagno, esposta alle radiazioni solari, si sviluppano alghe verdi che funzionano da pompe di ossigeno determinando, insieme alla riareazione superficiale, condizioni aerobiche. Scendendo in profondità (questo tipo di stagni può avere una profondità variabile tra 1 e 2 metri), a causa della ridotta penetrazione delle radiazioni solari, la crescita algale è via via più modesta; conseguentemente la concentrazione di ossigeno disciolto diminuisce progressivamente e già a 50-60 cm di profondità si instaurano condizioni anaerobiche. Questa descrizione è in realtà una semplificazione valida solo per valori di temperatura sufficientemente elevati. Nel periodo invernale, infatti, le basse temperature determinano l'assenza di vita algale e quindi la quasi completa sospensione delle reazioni aerobiche nonché un rallentamento di quelle anaerobiche. Condizioni di totale assenza di ossigeno disciolto, come quelle realizzate negli stagni anaerobici, possono essere ottenute costruendo bacini molto profondi (3-5 metri) e applicando un carico organico sufficientemente elevato da esaurire l'ossigeno presente nell'acqua. Questi sistemi possono essere assimilati a dei digestori anaerobici e, come questi, soffrono del problema dei cattivi odori che si originano dalle reazioni di degradazione anaerobica. Viceversa, costruendo bacini aventi profondità compresa tra i 25 e i 40 cm si realizzano quelle condizioni proprie degli stagni aerobici. La permanenza di tali condizioni è subordinata all'introduzione di appropriate quantità di liquame che abbia una bassa % di solidi sedimentabili (il cui accumulo sul fondo determinerebbe l'instaurarsi di reazioni anaerobiche) a volte accoppiata con il loro frequente mescolamento nello stagno.

Veniamo ora a parlare dei sistemi di fitodepurazione.

## **1.2 GENERALITA' SUI SISTEMI DI FITODEPURAZIONE O ZONE UMIDE COSTRUITE (CONSTRUCTED WETLANDS)**

Le tipologie costruttive delle zone umide costruite sono molteplici, tuttavia tali sistemi si basano tutti sull'impiego di macrofite acquatiche (idrofite) radicate o galleggianti che si sviluppano in terreni saturi di acqua o in bacini veri e propri (wetlands). Queste piante presentano un apparato rizomiale estremamente ramificato e sono caratterizzate da elevata resistenza e velocità di accrescimento.

In dipendenza del tipo di macrofite utilizzate si distinguono trattamenti fitodepurativi con idrofite radicate sommerse (quali la *Elodea*), radicate emergenti (quali la *Typha*, la *Scirpus* e la *Phragmites australis*) e galleggianti (Reed et al., 1995). I sistemi con piante galleggianti (floating aquatic plant systems) non sono altro che stagni nei quali vengono inserite specie vegetali la cui parte radicale non affonda nel terreno ma rimane appunto sospesa nell'acqua (*Eichornia crassipes*, *Lemnacee*).



Larga utilizzazione in questo tipo di sistemi hanno avuto la lenticchia e il giacinto d'acqua i quali però a causa della loro grande capacità moltiplicativa, necessitano di costose opere di manutenzione per la rimozione della biomassa. L'utilizzo di tale biomassa per scopi energetici (combustione o produzione di biogas) potrebbe comunque compensare i costi di manutenzione.

Esistono poi tre fondamentali tipologie di sistemi fitodepurativi che impiegano idrofite emergenti: i sistemi a flusso orizzontale superficiale (FWS - free water surface), quelli a flusso sub-superficiale orizzontale (SF/h - horizontal subsurface flow) e quelli a flusso subsuperficiale verticale (SF/v - vertical subsurface flow); mentre, per quanto riguarda i sistemi a idrofite sommerse l'unica tipologia possibile è la FWS a flusso orizzontale.

Nei sistemi FWS il liquame scorre, con una profondità modesta (0.1-0.3 m), sopra la superficie del suolo, mentre in quelli SF i bacini sono riempiti di un materiale avente un'appropriata conducibilità idraulica ("medium"), solitamente di tipo naturale quale sabbia o ghiaia, che funziona da supporto di crescita per i rizomi e sotto al quale scorre il liquame.

Rispetto ai trattamenti biologici convenzionali i sistemi fitodepurativi offrono alcuni indubbi vantaggi, ma presentano anche dei punti deboli. Tra i vantaggi dobbiamo sicuramente annoverare la semplicità ed economia di esercizio e, peculiarità di tali impianti, l'ottimo inserimento ambientale; questi sistemi, infatti, si presentano esternamente come delle comuni zone verdi eliminando perciò quasi completamente i problemi di impatto paesaggistico propri degli impianti di depurazione tradizionali. Gli alti tempi di ritenzione idraulici, necessari per l'ottenimento di buone rese depurative, conferiscono inoltre a questo tipo di impianti una buona resistenza agli shock di carico organico e idraulico. Di contro le zone umide costruite necessitano della disponibilità di aree molto estese e, per quanto riguarda gli impianti SF, hanno costi di costruzione del tutto paragonabili a quelli degli impianti a fanghi attivi; gli impianti SF, inoltre, possono presentare problemi di intasamento con liquami ricchi in solidi sospesi, per scongiurare i quali è prassi comune dotarli di un sistema di sedimentazione primaria.

I sistemi SF però, per come sono concepiti, hanno ulteriori e innegabili vantaggi rispetto alle soluzioni fitodepurative FWS.

Minimizzano l'impatto igienico-sanitario e ambientale (proliferazione di zanzare e insetti in genere, sviluppo e diffusione di cattivi odori).

Assicurano una maggiore protezione termica della "zona di depurazione" mantenendo più elevata l'efficienza depurativa anche durante i mesi freddi.

Necessitano di aree minori perché il "medium" di riempimento offre una superficie molto maggiore per le biomasse adese responsabili dei processi depurativi.

Per queste ragioni il nostro studio sui sistemi di fitodepurazione si è orientato verso le tipologie di



impianto a flusso sub-superficiale, sia orizzontale che verticale.

### **1.3 MECCANISMI DEPURATIVI DELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB-SUPERFICIALE**

In questo tipo d'impianti la rimozione degli inquinanti avviene in massima parte attraverso il metabolismo della biomassa adesa ai rizomi delle piante ed al "medium" di riempimento (meccanismo biologico) (Vymazal et al., 1998). Le popolazioni batteriche degli ambienti acquatici hanno infatti una notevole tendenza ad aderire alle superfici con cui sono in contatto formando dei biofilms, i quali in condizioni favorevoli (ambienti ricchi di nutrienti) si possono sviluppare fino a formare agglomerati pluristratificati ad alta concentrazione di biomassa, particolarmente efficienti per l'attuazione dei meccanismi depurativi.

E' ormai accertato, invece, che solo una piccola porzione dei nutrienti è rimossa tramite assunzione diretta da parte delle piante (Brix, 1994).

Molto efficienti sono poi i processi di natura fisica (sedimentazione) a carico dei solidi sospesi, mentre un'importanza non trascurabile rivestono i meccanismi di natura chimica (precipitazione e complessazione) e chimico-fisica (adsorbimento), responsabili tra l'altro della rimozione del fosforo (Zurayk et al., 1997).

### **1.4 RUOLO DELLE IDROFITE NELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB-SUPERFICIALE**

Sebbene le idrofite svolgano un'azione depurativa diretta estremamente limitata, esse rivestono un'importanza fondamentale per il mantenimento delle condizioni ottimali di funzionamento di questo tipo di impianti (Brix, 1994a).

Il ruolo che è stato individuato come il principale tra quelli svolti dalle idrofite nei sistemi fitodepurativi SF, è senza dubbio il trasporto dell'ossigeno dalla parte superiore della pianta alle radici ed il suo successivo rilascio nella rizosfera, sebbene siano presenti in letteratura dati quantitativi assai contrastanti circa l'entità di tale rilascio (Brix, 1990; Gries et al., 1990; Armstrong et al., 1990). In un ambiente di per sé anaerobico, come quello costituito dal "medium" di riempimento e dal liquame, si viene ad inserire così una ragnatela di rizomi che pompano ossigeno. Un sistema di questo tipo presenta probabilmente un'alternanza continua di micrositì aerobici ed anaerobici che favoriscono lo sviluppo contemporaneo sia di microorganismi aerobici quali i nitrosatori/nitrificatori che anaerobici come ad esempio i denitrificatori e i fosforo-accumulanti. In tal modo la sostanza organica solubile e biodegradabile nei tempi di residenza impartiti al sistema, subisce un processo di degradazione prevalentemente aerobica ad opera dei microorganismi (batteri,



funghi) adesi ai rizomi e all'inerte, mentre nei siti anaerobici hanno luogo i processi di denitrificazione, abbattimento del fosforo e digestione endogena della biomassa.

Per piante a flusso convettivo di ossigeno, quali le *Phragmites australis*, Armstrong et al. (1992) hanno proposto un sistema di potatura idoneo a esaltare, in presenza di venti sostenuti, la circolazione dell'ossigeno nelle cavità delle piante ed il suo rilascio nella rizosfera (effetto Venturi indotto), durante i mesi di riposo vegetativo.

Altre funzioni svolte dalle idrofite sono la stabilizzazione della conducibilità idraulica dell'impianto (una volta che l'apparato rizomiale ha completato la sua ramificazione) e l'isolamento termico del letto durante il periodo invernale; infine, di grande importanza per i sistemi SF/v, è la prevenzione degli intasamenti del letto (clogging), che si esplica grazie alla trasmissione del moto oscillatorio creato dal vento, dalla parte superiore delle piante alla loro parte sommersa.

## **1.5 RENDIMENTI DEPURATIVI DELLE ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUBSUPERFICIALE**

I numerosi impianti di fitodepurazione già in funzione da molti anni soprattutto in U.S.A., Danimarca e Germania forniscono dati molto positivi e incoraggianti circa l'utilizzo di questi sistemi per il trattamento di scarichi civili. Le rimozioni di BOD e COD sono in genere molto elevate e, come per tutti i processi di tipo biologico, dipendono dalla temperatura (Kadlec e Knight, 1996). Reed e Brown (1995), riassumendo i dati relativi a 14 impianti SF-h situati negli Stati Uniti hanno riportato percentuali di rimozione per il BOD<sub>5</sub> del 60-90 % con tempi di ritenzione idraulica di 3-5 giorni. Recentemente, Brix (1998) ha riassunto le performance di 66 impianti a flusso sub-superficiale orizzontale situati in Danimarca, proponendo un dimensionamento compreso tra i 3.2 e i 4.7 m<sup>2</sup>/P.E. (P.E. = persona equivalente, 1 P.E. = 60g BOD<sub>5</sub>/giorno) per l'ottenimento di un effluente con BOD<sub>5</sub> = 20 mg/l, con un carico in ingresso pari a 150 l/giorno·P.E. L'obiettivo di depurazione preso come riferimento è diverso da zero e tiene conto che, trattandosi di sistemi naturali, le zone umide costruite sono caratterizzate dalla presenza nell'effluente di un fondo di materia organica (Kadlec e Knight, 1996).

In buon accordo con quanto riportato da Brix, Vymazal (1998), sulla base dei dati relativi a 35 sistemi SF-h, ha proposto l'utilizzo di sistemi aventi un'area di 5 m<sup>2</sup>/P.E. per l'ottenimento di abbattimenti di BOD<sub>5</sub> superiori all'85%.

I sistemi SF hanno alti rendimenti di rimozione anche per i solidi sospesi; Kadlec e Knight (1996) hanno riportato i dati relativi a 114 impianti a flusso sub-superficiale, mostrando rimozioni medie percentuali oscillanti tra il 75 e il 92%.

Tuttavia, a questo proposito, non deve essere dimenticato che tale rimozione, dovuta in massima



parte a meccanismi fisici, determina, con la crescita dei sedimenti all'interno dell'impianto, il tempo di vita dell'impianto stesso. Occorre inoltre ricordare che la maggior parte dell'N organico è contenuto nei solidi sospesi e che la loro rimozione è accompagnata dalla formazione di N ammoniacale per catabolismo proteico.

Tra i nutrienti, la rimozione dell'azoto, essendo dovuta a meccanismi biologici (nitrificazione/denitrificazione), è direttamente influenzata dalle condizioni climatiche (Vymazal et al., 1998), oltre che dalle caratteristiche di dimensionamento. Per questa ragione, è presente in letteratura un largo spettro di dati. Brix e Schierup (1989), ad esempio, hanno riportato le efficienze depurative di 25 impianti SF-h situati in Danimarca, mostrando una grande variabilità (9-85 %) dell'N totale rimosso. In un altro studio, Brix, (1994b) riassumendo le performance di 104 impianti ha riportato una rimozione dell'N totale oscillante tra il 30 e il 40%, mentre Hammer e Knight (1994), per 9 impianti SF-h situati nel nord degli Stati Uniti, hanno mostrato una rimozione dell'N totale maggiore del 70%. In accordo con Brix (1994a) una scarsa ossigenazione influenza negativamente i processi di nitrificazione ed è spesso il fattore limitante della rimozione dell'N, mentre la denitrificazione, che è un processo anaerobico non risente di tale limitazione. Per esaltare i processi di nitrificazione vari autori hanno suggerito l'uso di sistemi a flusso verticale con applicazione intermittente dei liquami (Hosomi et al., 1996; von Felde e Kunst, 1996).

Per la stessa ragione, altri autori (Johansen e Brix, 1996; Cooper et al., 1998), hanno proposto l'utilizzo di sistemi ibridi come buona combinazione dei vantaggi delle due tecniche impiantistiche. La rimozione del fosforo, dipendendo principalmente dal contenuto in metalli quali Ca, Mg, Al e Fe del medium di riempimento, può variare sensibilmente da caso a caso. Richardson (1985), studiando l'adsorbimento del P in differenti zone umide naturali ha proposto il contenuto in Al come parametro di previsione della capacità di rimozione di un medium. Più recentemente Arias et al. (in attesa di stampa) hanno invece individuato nel contenuto di Ca il miglior parametro di previsione.

La rimozione degli indici di contaminazione fecale (coliformi fecali e totali e streptococchi fecali) in zone umide costruite di tipo sub-superficiale è consistente solo per liquami in ingresso caratterizzati da una scarsa qualità. I microorganismi indicatori, infatti, sono presenti naturalmente in acque superficiali che non ricevono alcun tipo di liquame (Kadlec e Knight, 1996). A causa della presenza di queste colonie microbiche naturali, la rimozione degli indicatori patogeni è elevata per liquami caratterizzati da elevate popolazioni batteriche in ingresso e decresce con il miglioramento della qualità dei liquami. Meccanismi di rimozione di tali microorganismi sono la sedimentazione, la filtrazione, l'effetto della temperatura e della luce solare (Khatiwada e Polprasert, 1998), ai quali si può probabilmente aggiungere lo stress derivante dal passaggio da micrositi aerobici ad



anaerobici.

## **1.6 RIMOZIONE DI COMPOSTI ORGANICI IN ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUBSUPERFICIALE**

Mentre le zone umide costruite di tipo SF, piantumate con *Phragmites australis*, sono state largamente utilizzate per il trattamento di acque di scarico di tipo civile, molto meno frequenti risultano le loro applicazioni industriali (American Petroleum Institute, 1998). Inoltre, a fronte di una conoscenza abbastanza approfondita dei parametri di routine, ben pochi sono gli studi riguardanti la rimozione e la biodegradabilità di composti organici antropogenici in questo tipo di sistemi (Inaba e Amano, 1988; Del Bubba et al., 1998). E' quindi importante determinare le reali potenzialità delle zone umide costruite nel trattamento di scarichi contenenti composti organici quali ftalati, idrocarburi policiclici aromatici e le varie classi di tensioattivi che rivestono un particolare interesse ambientale. Tra questi, i tensioattivi, con particolare riferimento a quelli anionici e non ionici, sono prodotti in quantità ingentissime (produzione annuale mondiale di tensioattivi anionici nel 1987 pari a 1.8 milioni di tonnellate) ed in conseguenza del loro larghissimo utilizzo sia domestico che industriale debbono essere considerati inquinanti ubiquitari. La presenza di sostanze tensioattive nelle acque di scarico civili ed industriali e, conseguentemente, nei fiumi, laghi e mari, comporta tutta una serie di effetti negativi: schiumeggiamento che impedisce la riareazione del corpo idrico, effetti tossici sugli organismi acquatici e deposizione sulla vegetazione costiera tramite aerosol con conseguente deperimento della stessa (Gellini et al., 1983; Gellini et al., 1985).

Particolare attenzione deve essere poi rivolta ai tensioattivi non ionici della classe degli alchilfenoli polietossilati (APEOx); tali composti, infatti, insieme con i loro metaboliti, sono largamente diffusi nelle matrici ambientali (Blackburn et al., 1999; Lepri et al., 1997) poiché prodotti in quantità considerevoli (produzione annuale mondiale nel 1990 pari a 0.3 milioni di tonnellate) ed ampiamente utilizzati nella fabbricazione di vernici, detergenti, inchiostri e pesticidi (Ejlertsson et al., 1999). La loro diffusione nell'ambiente desta preoccupazione in quanto alcuni prodotti di degradazione, quali l'ottil ed il nonilfenolo, possiedono una capacità mimica nei confronti dei recettori estrogenici (Tanghe et al., 1999; Soto et al., 1991) ed appartengono perciò, con ogni probabilità, alla classe degli "environmental endocrine disruptors". Il nonilfenolo, ad esempio, possiede un'attività estrogenica tre volte maggiore del DDT (Soto et al., 1991). Inoltre, i prodotti di degradazione finale degli alchilfenoli polietossilati, a causa delle loro proprietà lipofile, tendono a bioaccumularsi nei tessuti grassi degli organismi acquatici e possono così entrare nella catena alimentare umana.



## 1.7 SCOPO DEL LAVORO DI TESI

Lo scopo di questo lavoro di Tesi è stato di verificare le potenzialità delle zone umide costruite a flusso sub-superficiale rispetto ad alcuni parametri chimici e microbiologici previsti dalla Legge 152/99 quali pH, solidi sospesi totali (SST), domanda biochimica di ossigeno ( $BOD_5$ ), domanda chimica di ossigeno (COD), tensioattivi anionici, N-ammoniacale, N-nitroso, N-nitrico, fosfati, coliformi totali e fecali, streptococchi fecali (parametri di routine). Infatti, è da sottolineare che in Italia sono molto limitate le esperienze di costruzione e gestione di zone umide costruite per la depurazione di liquami civili (Pergetti et al., 1995; Piraccini, 1998; Del Bubba et al., 1998; Masi et al., 1999), caratterizzate tra l'altro da rese depurative sensibilmente diverse. Durante un periodo di circa due anni, è stato perciò condotto il monitoraggio dei suddetti parametri, sui reflui in entrata e in uscita ad una zona umida costruita SF-h e ad una SF-v, ambedue di tipo pilota e riceventi gli influenti di un impianto di depurazione tradizionale preventivamente trattati con due sedimentatori. Estremamente originale, anche a livello internazionale, è poi lo studio del destino di molecole aventi particolare rilevanza ambientale all'interno di zone umide costruite di tipo SF-h. A tal fine sono state determinate alcune classi di composti organici nelle acque in entrata e in uscita da una zona umida costruita a flusso sub-superficiale orizzontale di tipo pilota, che riceve l'effluente di un impianto tradizionale e funzionante perciò da post-trattamento (SF-h/PT). Sullo stesso impianto sono state quindi effettuate prove di rimozione e/o biodegradazione di un tensioattivo non ionico commerciale (Triton X-100), costituito da una miscela di etossimeri del 4-t-ottilfenolo polietossilato ( $n$  medio = 9.5), utilizzando tre differenti concentrazioni di Triton, pari a 30, 300 e 1000 ppm. Questi studi sono frutto della collaborazione tra il Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale dell'Università degli Studi di Firenze, l'Agenzia Nazionale di Protezione Ambientale (ANPA), sponsor di questo Dottorato di Ricerca e la Divisione Produzione Acqua e Depurazione del Comune di Firenze.

Infine, in collaborazione con il Prof. Hans Brix, dell'Università di Arhus (Danimarca) è stato effettuato uno studio sulla capacità di rimozione del fosforo da parte di 13 differenti materiali naturali, determinando la loro idoneità ad essere utilizzati come mezzo di riempimento in zone umide costruite a flusso sub-superficiale e correlando la quantità di fosforo rimossa con il loro contenuto in Ca, Mg, Al e Fe.



## 2 PARTE SPERIMENTALE

### 2.1 DESCRIZIONE DELL'IMPIANTO PILOTA

In Figura 1 è rappresentato lo schema a blocchi dell'impianto pilota. Tale impianto, collocato presso il Depuratore Comunale di via della Torre (un classico depuratore a fanghi attivi), consta di tre sistemi SF, due di tipo orizzontale e uno verticale.

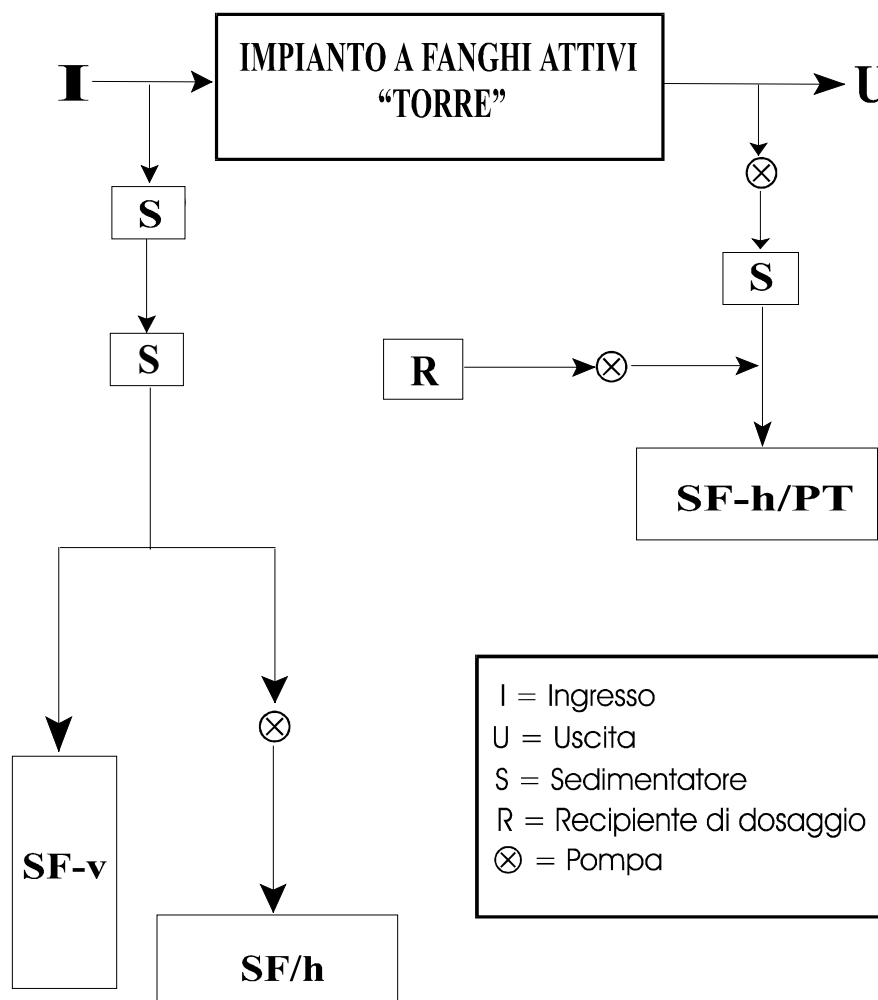


Figura 1 – Schema delle zone umide costruite a flusso sub-superficiale di tipo pilota ricevanti le acque in entrata (SF-h e SF-v) e in uscita (SF-h/PT) dall'impianto di depurazione a fanghi attivi



“Torre”.

Uno dei due sistemi orizzontali (SF-h) e il sistema verticale (SF-v) ricevono l'acqua di ingresso dell'impianto e funzionano perciò da trattamento secondario, mentre l'altro sistema orizzontale riceve l'acqua in uscita all'impianto e funziona così da post-trattamento (SF-h/PT).

Le fotografie degli impianti pilota, scattate durante la primavera del 1999, sono riportate in Figura 2 e 3. Le vasche sono state costruite in plexiglass trasparente e protette lungo tutte le pareti con pannelli asportabili in poliuretano ricoperto di una sottile pellicola di carta catramata in modo da svolgere la duplice funzione di coibentazione e di protezione dalla luce solare, che porterebbe alla indesiderata formazione di alghe. Tutte le tubazioni sono state realizzate in materiale alimentare di alta qualità al fine di evitare cessioni di composti organici (come ad esempio gli ftalati) all'acqua di scarico.

Le due vasche orizzontali, seppure dimensionate diversamente (SF-h:  $160 \times 55 \times 60 \text{ cm}^3$ , area superficiale  $0.88 \text{ m}^2$ , tempo di residenza idraulico  $7 \pm 0.8$  giorni; SF-h/PT:  $152 \times 43 \times 60 \text{ cm}^3$ , area superficiale  $0.65 \text{ m}^2$ , tempo di residenza idraulico  $5 \pm 0.4$  giorni), sono costruite secondo il medesimo principio: sono riempite cioè di ghiaia avente diametro medio di 8 mm e dotate di una zona di filtrazione in testa all'impianto per facilitare la sedimentazione dei solidi sospesi e di una zona di drenaggio all'uscita della vasca tutte e due create con pietrisco avente diametro medio di 8 cm. Lo strato superiore del riempimento (5 cm in altezza) è in argilla espansa per favorire l'attecchimento e lo sviluppo dei rizomi. Queste vasche sono alimentate in modo continuo ( $0.024 \text{ m}^3/\text{giorno}$ ) tramite pompe peristaltiche.

Il dosaggio del tensioattivo nel sistema SF-h/PT, è stato realizzato aspirando da una tanica, mediante una pompa peristaltica, una soluzione acquosa del tensioattivo stesso (vedi Figure 1 e 3). Poco prima dell'ingresso nell'impianto avviene il mescolamento dei flussi e la loro omogeneizzazione. Lungo la vasca sono sistemati, a circa 40, 80 e 120 cm dall'entrata, tre tubicini rigidi pescanti ad una profondità di 25 cm, che permettono di prelevare l'acqua, a varie distanze dall'ingresso, operando con una comune pompetta aspirante.





**Fig. 2 - Zone umide costruite SF-h e SF-v riceventi le acque in entrata dall'impianto di depurazione a fanghi attivi "Torre": 1) e 2) sedimentatori; 3) pompa peristaltica; 4) ingresso; 5) uscita con pozzetto di regolazione del livello dei liquami all'interno della vasca SF-h.**





**Fig. 3 – Zona umida costruita SF-h/PT ricevente le acque in uscita dall’impianto di depurazione a fanghi attivi “Torre”: 1) recipiente di dosaggio; 2) sedimentatore; 3) pompe peristaltiche; 4) ingresso; 5) uscita con pozzetto di regolazione del livello dei liquami all’interno della vasca.**

Al fine di impedire fenomeni di diluizione da parte dell’acqua piovana, la vasca è stata dotata, durante tutto l’esperimento (Febbraio/Novembre 1999), di una copertura trasparente di Nylon, realizzata in modo tale da garantire una buona areazione (vedi Figura 3).

La vasca verticale (SF-v, 40x40x85 cm<sup>3</sup>), alimentata in modo discontinuo, è costruita usando



materiale di riempimento a conducibilità idraulica inferiore andando dall'alto verso il basso (30 cm di ghiaia  $\varnothing=8$  mm, 30 cm di pietrisco  $\varnothing=30$  mm, 25 cm di pietrisco  $\varnothing=50-60$  mm), per favorire il trattenimento dei solidi sospesi in testa all'impianto ed evitare così l'occlusione completa dello stesso. Anche in questo caso lo strato superiore del riempimento è stato realizzato in argilla espansa. Il tipo di idrofita scelto è la *Phragmites australis*, caratterizzata da una velocità di crescita e da uno sviluppo rizomiale maggiori rispetto alle altre idrofite radicate emergenti utilizzabili per questo tipo di impianti.

L'area superficiale del sistema SF-h è stata calcolata utilizzando l'equazione (1) (Reed et al., 1995).

$$A_s = [(\ln BOD_{IN} - \ln BOD_{OUT}) \cdot Q] \div n \cdot K_t \cdot y \quad (1)$$

dove:

- $A_s$  = area superficiale espressa in  $m^2$  (area superficiale teorica  $0.75 m^2$ );
- $K_t = K_{20} \cdot \Theta^{(T-20)} = 0.6165$  con  $K_{20} = 1.104$ ,  $\Theta = 1.06$  e  $T = 10^\circ C$ ;
- $n$  = porosità del medium (0.35);
- $y$  = profondità della vasca (0.6 m);
- $Q$  = portata ( $0.024 m^3/g$ );
- $BOD_{IN} = 280$  mg/l (valore massimo registrato durante il periodo gennaio 1994-aprile 1997);
- $BOD_{OUT} = 5$  mg/l.

L'impianto è stato intenzionalmente sovradimensionato di circa il 15% dell'area superficiale teorica calcolata, per favorire i processi di rimozione e/o degradazione dei composti organici, che sono di solito caratterizzati da lunghi tempi di ritenzione idraulica. Il tempo di ritenzione idraulica sperimentale è pari a  $7 \pm 0.8$  giorni (media di 6 determinazioni) contro i 6.5 giorni teorici calcolati.

Il sistema SF-h/PT è stato dimensionato in modo analogo a quello SF-h, sulla base di un valore di  $COD_{IN}$  (220 mg/l) corrispondente a 30 mg/l di Triton X-100 e di un  $COD_{OUT}$  di 10 mg/l e sovradimensionando infine l'area superficiale effettiva del 15% di quella teorica calcolata ( $0.57 m^2$ ). Il tempo di ritenzione idraulica sperimentale è pari a  $5 \pm 0.4$  giorni (media di 6 determinazioni) contro i 3.7 giorni teorici calcolati.

## 2.2 APPARECCHIATURE

### 2.2.1 Spettrofotometro per la determinazione dei parametri di routine

E' stato impiegato uno spettrofotometro DR/2010 (Hach Company, U.S.A.) a prisma di Littrow operante tra 400 e 900 nm, precalibrato per le determinazioni colorimetriche dei parametri di routine.



### 2.2.2 Gascromatografo ad alta risoluzione con colonna capillare

E' stato impiegato un gascromatografo Carlo Erba HRGC 5160, munito di una colonna capillare Chrompack (lunghezza 30 m, diametro interno 0.25 mm, rivestimento interno CP-SIL 8 CB LOW BLEED/MS, spessore del film 0.25  $\mu\text{m}$ ) e di un detector a ionizzazione di fiamma (HRGC-FID): temperatura di lavoro 310 °C, flusso  $\text{H}_2$  = 30 ml/minuto, flusso aria = 300 ml/minuto.

Gas carrier He, flusso = 1ml/minuto. Programma di temperatura:  $T_{\text{iniziale}}$  = 40°C per un minuto,  $T_{\text{finale}}$  = 300°C, rampa 4°C/minuto.

Per la registrazione dei gascromatogrammi è stato utilizzato un integratore Carlo Erba Mega Series.

### 2.2.3 Gascromatografo accoppiato a uno spettrometro di massa a impatto elettronico

E' stato utilizzato un Ion Trap Detector accoppiato con un gascromatografo Varian 3400 (HRGC-MS) provvisto di iniettore SPI, di colonna capillare identica a quella impiegata per le determinazioni HRGC e operante nelle medesime condizioni operative di quest'ultima.

Ion Trap Detector: corrente di emissione 15  $\mu\text{A}$ , potenziale di ionizzazione 70 eV, voltaggio dell'elettromoltiplicatore 1600 V. Tutte le acquisizioni sono state effettuate in "full scan" da 50 a 600 m/e. I riconoscimenti dei composti sono stati effettuati utilizzando le librerie NIST, NBS ed una libreria realizzata, nell'ambito del nostro gruppo di ricerca, utilizzando composti standard.

### 2.2.3 Cromatografo liquido ad alta prestazione (HPLC)

E' stato impiegato un cromatografo liquido Shimadzu LC-10 AD VP provvisto di colonna Restek RP18 LC-PAH (25.6 cm x 4.6 mm; fase stazionaria 5 $\mu\text{m}$ ) e operante nelle seguenti condizioni:

- temperatura ambiente;
- fase mobile  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  - flusso = 1ml/minuto;
- %  $\text{CH}_3\text{CN}$  iniziale = 60, isocratica per 10 minuti;
- gradiente  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ : incremento lineare per 15 minuti;
- isocratica  $\text{CH}_3\text{CN}$  = 75% per 15 minuti;
- gradiente  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ : incremento lineare per 20 minuti;
- isocratica  $\text{CH}_3\text{CN}$  = 100% per 10 minuti

Al cromatografo è stato accoppiato un rivelatore a serie di diodi UV/VIS (DAD) Shimadzu SPD-M10A VP, operante a  $\lambda$  comprese fra 190 e 800 nm. Per la registrazione dei cromatogrammi è stato impiegato un sistema di gestione (controller e software) Shimadzu SCL-10A VP.



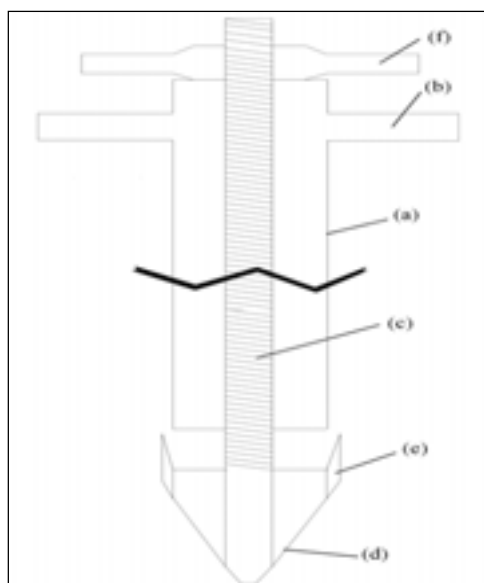
#### 2.2.4 Determinazione di $PO_4^{3-}$ , P, Ca, Mg, Al e Fe

Il contenuto in Ca, Mg, Al, Fe e P dei materiali studiati presso l'Università di Aarhus è stato determinato dopo estrazione (n=2) in  $HNO_3-H_2O_2$  bollenti secondo il metodo di Brix et al. (1983), utilizzando uno spettrometro di emissione con sorgente a plasma accoppiato induttivamente Perkin Elmer Plasma II. La gestione dei dati è stata effettuata con un software Perkin Elmer 7700 versione 2.2. La determinazione dello ione ortofosfato è stata effettuata con il metodo del molibdato di ammonio (IRSA, 1981) utilizzando uno spettrofotometro Shimadzu UV 160A.

#### 2.2.5 Campionatore per solidi

L'apparecchio, realizzato grazie alla collaborazione del personale addetto al Depuratore "Torre", permette il prelievo di campioni di sedimenti e di radici nella vasca a varie profondità. Il campionatore (vedi Figura 4) è costituito da un tubo di acciaio zincato (a) Ø 7 cm lungo circa 1 m, graduato e munito, nella sua parte superiore, di un robusto manubrio (b); in esso scorre una lunga asta filettata di acciaio (c), la cui estremità inferiore è saldata ad un puntale cavo (d), pure esso in acciaio zincato e munito di alcuni piccoli rostri (e). Mediante la rotazione di una manetta (f), è possibile far salire e scendere il puntale rispetto al tubo. L'impiego è relativamente semplice: serrato il puntale al tubo, si introduce l'apparecchio nel medium della vasca, premendo e ruotando, fino alla profondità desiderata. Svitando la manetta, si alza il corpo del tubo di qualche centimetro e, ruotando, si provoca la caduta dei sedimenti e delle radici estirpate nella coppetta costituita dal puntale stesso. Dopo aver fatto risalire il puntale agendo sulla manetta (f) l'apparecchio viene estratto e riaperto, consentendo il prelievo del materiale campionato.

**Figura 4 – Schema del campionatore per solidi utilizzato per il prelievo di sedimenti e radici**





**all'interno della vasca.**

## **2.3 CAMPIONAMENTO**

### *2.3.1 Acqua*

I campioni di acqua sono stati prelevati in entrata, uscita e, per quanto riguarda le prove di rimozione e/o biodegradazione del Triton x-100, anche a varie distanze dall'ingresso (40, 80, e 120 cm), in modo da poter studiare il fenomeno lungo la vasca. Per il prelievo dei campioni in entrata ed in uscita, sono stati predisposti opportuni rubinetti a due vie; per i prelievi intermedi, si è operato connettendo i tubicini rigidi con altri in Tygon<sup>®</sup> di opportuna lunghezza ed innescando il sifone con una pompetta a stantuffo.

In tutti i casi si è provveduto a raccogliere i campioni in bottiglie di vetro Pyrex<sup>®</sup> con tappo in PTFE, precedentemente lavate con miscela cromica, acqua, acetone ed asciugate in stufa; la conservazione dei campioni (quando necessario) è stata effettuata a 4°C per brevi periodi (entro le 12 ore) ed in congelatore (-20°C) per periodi più lunghi.

### *2.3.2 Solidi*

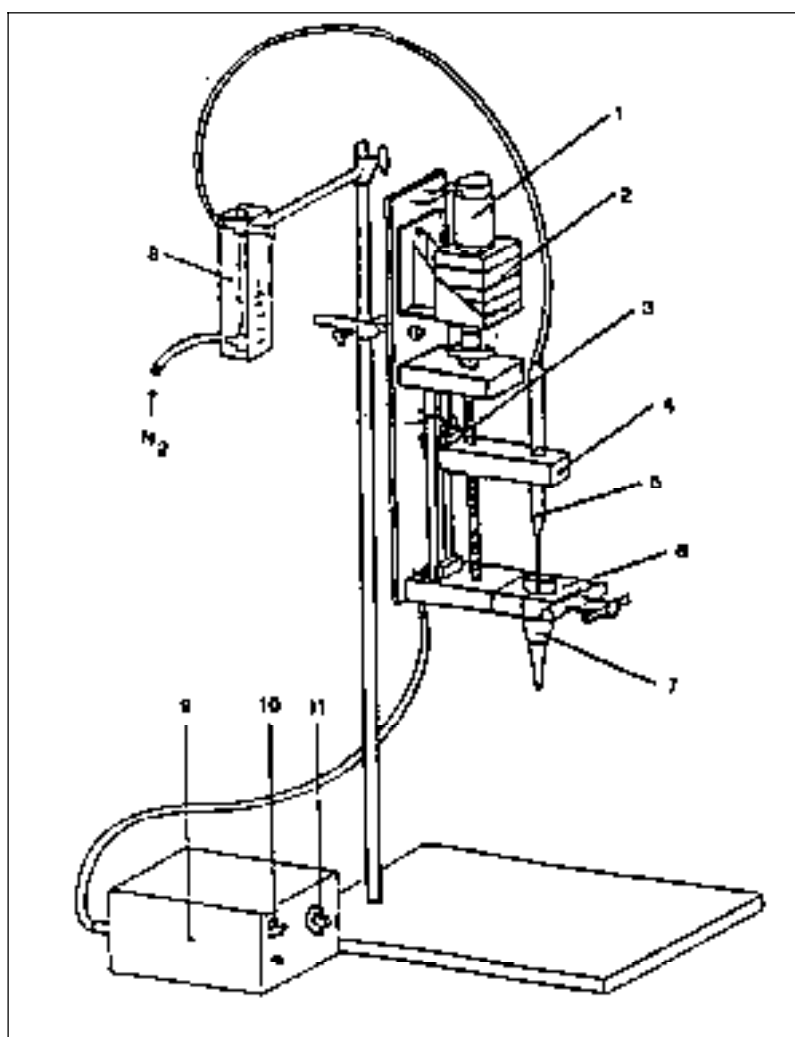
I campioni di sedimento e radici sono stati prelevati in corrispondenza della metà e dei  $\frac{3}{4}$  della vasca, ad una profondità di circa 50 cm (in pratica, la profondità massima raggiungibile dal campionatore); i solidi sono stati raccolti in contenitori sterili monouso in polistirene e conservati come i campioni d'acqua.

## **2.4 CONCENTRAZIONE A PICCOLO VOLUME DEGLI ESTRATTI ORGANICI**

Gli estratti organici, ottenuti trattando i campioni prelevati all'entrata e all'uscita del sistema SF-h/PT, sono stati concentrati a piccolo volume (100 µl) sotto leggero flusso di N<sub>2</sub> (0.2-0.3 Nl/minuto).

Per quanto riguarda l'analisi degli etossimeri del Triton X-100, l'estratto organico è stato concentrato a temperatura ambiente mediante un evaporatore rotante Büchi, fino ad un volume di 3 mL e quindi iniettato nel gascromatografo. L'altro estratto, destinato all'analisi HPLC, è stato concentrato a piccolo volume con la medesima tecnica; successivamente, è stato trasferito in una provetta a fondo conico e, tramite l'apparecchio illustrato in Figura 5, portato a secco in corrente di N<sub>2</sub> (0,3 Nl/min) per la successiva derivatizzazione con NIC o con NC. Gli estratti relativi ai sedimenti ed al particolato sono stati impiegati tal quali per l'analisi gascromatografica.





**Figura 5 – Apparecchio per la concentrazione a piccolo volume degli estratti organici: 1) motore 12 V; 2) riduttore di velocità; 3) asta filettata; 4) supporto pipetta; 5) pipetta Pasteur; 6) morsetto ferma provetta; 7) provetta a fondo conico; 8) regolatore di flusso; 9) scatola di alimentazione e controllo; 10) selettore “up/down”; 11) regolatore di velocità.**



## 2.5 REAGENTI E MATERIALI

Per le analisi dei parametri di routine sono stati utilizzati i seguenti reagenti:

- NaOH in pastiglie (Merck);
- N-alliltiourea (Aldrich);
- fiale per digestione COD (Hach Company);
- tampone solfato (Hach Company);
- colorante cristallo violetto (Hach Company);
- benzene (Merck);
- Phos Ver 3 (Hach Company);
- molibdovanadato (Hach Company);
- reagente di nessler (Hach Company);
- alcol polivinilico (Hach Company);
- soluzione acquosa di tartrato di sodio e potassio e citrato di sodio (Hach Company);
- Nitri Ver 3 (Hach Company);
- Nitra Ver 5 (Hach Company);
- Nitra Ver 6 (Hach Company).

I solventi utilizzati, previa bidistillazione, sono:

- cloroformio per l'analisi di organici in tracce (Merck);
- cloruro di metilene per l'analisi di organici in tracce (Baker);
- n-esano per l'analisi di organici in tracce (Baker);
- metanolo per l'analisi di organici in tracce (Baker).

Per le eluizioni HPLC sono stati utilizzati:

- acqua grado HPLC (Baker);
- acetonitrile grado HPLC (Baker).

Le derivatizzazioni dei gruppi alcolici sono state eseguite utilizzando:

- 1-naftil isocianato (NIC) (Aldrich);
- 1-naftoil cloruro (NC) (Aldrich).

Come disidratante è stato utilizzato solfato di sodio anidro (Merck) purificato in muffola a 450°C per 12 h e mantenuto quindi in stufa a 150°C fino al momento dell'uso.

Per la filtrazione in depressione dei campioni di acqua è stato utilizzato un apparato "Millipore" equipaggiato con filtri in fibra di vetro ( $\cong 0,45 \mu\text{m}$ , GF/F-Whatman) purificati in muffola a 450°C per 12 h prima dell'uso; per i campioni derivatizzati in  $\text{CH}_3\text{CN}$  sono stati utilizzati filtri da siringa



in PTFE (0,20  $\mu\text{m}$ , MINISART SRP15 Sartorius).

Per favorire il processo di “salting out” dei composti organici è stato aggiunto cloruro di sodio puro per analisi (Prolabo).

L'esperimento è stato condotto impiegando Triton X-100 (Sigma); per la preparazione degli standard sono stati utilizzati, oltre al Triton X-100, anche Triton X-15, Triton X-35, Triton X-45 (Nymco) e 4-t-ottilfenolo (Aldrich).

Per la determinazione della carica batterica totale sono stati utilizzati i seguenti terreni di coltura preparati in laboratorio:

TY (0.1% di glucosio, 0.5% Triptone, 0.25% estratto di lievito, 1.8% agar)

TYCV (0.1% di glucosio, 0.5% Triptone, 0.25% estratto di lievito, 1.8% agar, 4  $\mu\text{g/ml}$  di cristallo violetto).

L'identificazione delle colonie batteriche è stata effettuata con il sistema Biolog (Microlog system, USA).

## 2.6 TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

### 2.6.1 *Campioni di acqua: filtrazione ed estrazione*

Per l'analisi dei parametri di routine, una quantità nota di campione è stata filtrata in depressione su filtri in fibra di vetro aventi porosità nominale di  $\approx 0.45 \mu\text{m}$  e precedentemente pesati. Il filtro è stato seccato in stufa a  $105^\circ\text{C}$  per un ora e quindi pesato nuovamente per la determinazione dei SST.

Per l'analisi dei composti organici estraibili in n-esano, campioni di 1-3 litri di acqua di scarico sono stati filtrati su fibra di vetro ( $\approx 0.45 \mu\text{m}$ ) sotto pressione di  $\text{N}_2$ , addizionati di 30-90 g di NaCl e quindi estratti per 3 volte con 9 ml di n-esano complessivi, mediante un apparato di estrazione già più volte utilizzato nel nostro gruppo di ricerca (Desideri, 1992). Gli estratti sono stati riuniti, anidrificati su solfato di sodio anidro, concentrati a 100  $\mu\text{l}$  e quindi analizzati mediante HPLC-DAD, GC e GC-MS.

Per la ricerca degli etossimeri del Triton X-100, i campioni di acqua (aliquote di circa 250 ml) sono stati filtrati in depressione impiegando uno o più filtri in fibra di vetro, a seconda della quantità di solidi sospesi presenti.

Ogniqualvolta si sono presentati fenomeni di schiumeggiamento, il filtrato è stato lasciato riposare fino alla completa scomparsa della schiuma. Aliquote di 200 ml di filtrato sono state addizionate con 20 g di NaCl al duplice scopo di migliorare l'efficienza dell'estrazione liquido-liquido e di evitare il più possibile la formazione di schiume ed emulsioni.



Si sono effettuate tre estrazioni liquido-liquido in imbuto separatore da 500 ml, ogni volta con 10 ml di cloroformio bidistillato; per una buona riproducibilità, ciascuna estrazione è stata condotta agitando l'imbuto separatore per 2' e lasciando riposare la miscela per 5'.

I tre estratti sono stati riuniti, anidrificati su solfato di sodio anidro e suddivisi in due porzioni uguali di circa 15 ml cadauna: una destinata all'analisi GC-GC/MS e l'altra all'analisi HPLC.

### *2.6.2 Analisi dei parametri di routine*

I SST sono stati determinati per pesata del filtro sul quale è stata fatta passare una quantità nota di acqua, dopo essiccamento in stufa a 105 °C per un'ora.

Le determinazioni del BOD<sub>5</sub> sono state eseguite su campioni di acqua non filtrati, per mezzo di sensori elettronici di pressione, con il sistema AQUALYTIC<sup>®</sup>, previa aerazione con aria per 20 minuti e aggiunta di N-allitiourea come inibitore della nitrificazione.

Le misure del COD sono state eseguite sul campione per via colorimetrica dopo digestione del campione a 150°C per 2 ore (Hach Company, 1996).

Tutte le altre determinazioni sono state eseguite sui campioni di acqua dopo filtrazione.

I tensioattivi anionici sono stati analizzati con il metodo del violetto cristallo (Hach Company, 1996).

I fosfati sono stati analizzati con il metodo del molibdovanadato (Hach Company, 1996) o con quello dell'acido ascorbico (Phos Ver 3) (Hach Company, 1996) a seconda del livello di concentrazione da determinare.

L'azoto ammoniacale è stato misurato con il metodo del salicilato (Hach Company, 1996) o con il metodo di Nessler (Hach Company, 1996) a seconda del livello di concentrazione da determinare.

L'azoto nitroso è stato determinato con il metodo della diazotazione (Nitri Ver 3) (Hach Company, 1996).

L'azoto nitrico è stato determinato con il metodo della riduzione con cadmio (Nitra Ver 5) (Hach company, 1996) o per riduzione con cadmio e successiva diazotazione (Nitra Ver 6 e Nitri Ver 3) (Hach Company, 1996), a seconda del livello di concentrazione da determinare.

### *2.6.3 Campioni di solidi*

I sedimenti raccolti sono stati posti in una capsula di Petri e quindi in un essiccatore a pressione ambiente in presenza di CaCl<sub>2</sub> anidro come agente anidrificante. Dopo alcuni giorni, raggiunto un peso costante, la materia secca (1-2 g) è stata trasferita in una provetta da centrifuga e addizionata di 1,5 ml di H<sub>2</sub>O, 1,5 ml di miscela cloruro di metilene/n-esano 1:1 e 0,5 ml di metanolo bidistillati. Inserita nella provetta una piccola ancorotta magnetica, la miscela è stata agitata vigorosamente per



15', quindi centrifugata per 10' a 2500 RPM, ottenendo la separazione di tre strati: inferiormente i sedimenti, nel mezzo la miscela cloruro di metilene/n-esano e superiormente la miscela acqua/metanolo. Lo strato intermedio, prelevato con una pipetta Pasteur, è stato anidrificato su solfato di sodio anidro.

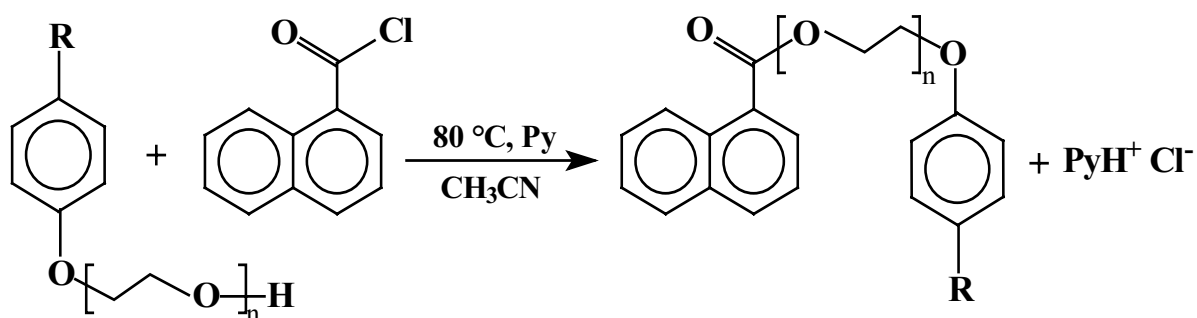
Il particolato ottenuto dalla filtrazione dei campioni di acqua è stato trattato in maniera del tutto analoga, dato che questo tipo di metodologia provoca una completa disgregazione del filtro in fibra di vetro.

## 2.7 DERIVATIZZAZIONI

Le metodiche di derivatizzazione dei singoli etossimeri sono state messe a punto sulla base di quanto riportato in letteratura (Lemr et al., 1994; Marcomini e Zanette, 1994) per la determinazione di alcoli polietossilati. I due derivatizzanti utilizzati sono l'1-naftoil cloruro (NC) e l'1-naftil isocianato (NIC).

### a) NC

L'NC reagisce con il gruppo alcolico terminale del 4-t-ottilfenolo (poli)etossilato dando un estere naftoico; l'HCl liberatosi viene bloccato dalla piridina. Lo schema di reazione è il seguente (**R** = t-ottile):



L'estratto secco è stato ripreso con 1 ml di CH<sub>3</sub>CN grado HPLC e addizionato di 5 µl di piridina e di 60 µl di 1-naftoil cloruro (NC), prelevati con micropipetta di precisione; si è quindi posta la

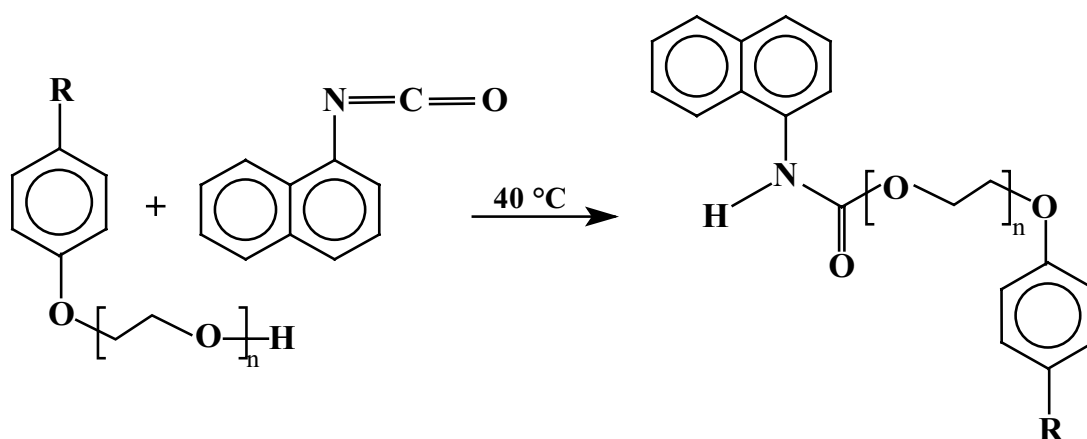


provetta, ermeticamente chiusa, in un bagnomaria a 80°C per 15'.

La soluzione è stata impiegata direttamente per l'analisi HPLC e conservata in freezer a -20°C; nei rari casi di torbidità, si è provveduto a filtrare la soluzione tramite siringa in vetro con filtro in PTFE da 0,20 µm.

#### b) NIC

Il NIC reagisce con il gruppo alcolico terminale del 4-t-ottilfenolo (poli)etossilato formando il corrispondente uretano; lo schema di reazione è il seguente (**R** = t-ottile):



Sull'estratto portato a secco sono stati addizionati 50 µl di NIC, prelevati con micropipetta di precisione sotto atmosfera di N<sub>2</sub>; si è quindi posta la provetta, ermeticamente chiusa, in un bagnomaria a 40°C per 30'.

Terminata la reazione, il solido bianco-giallognolo presente sul fondo della provetta è stato ripreso con 2,5 ml di CH<sub>3</sub>CN grado HPLC, agitando fortemente; ogniqualvolta sono rimaste particelle in sospensione, si è provveduto a filtrare usando il metodo prima descritto. La soluzione limpida è stata impiegata direttamente per l'analisi HPLC e conservata in freezer a -20°C.

## 2.8 IDENTIFICAZIONE DEI COMPOSTI ORGANICI

L'identificazione degli etossimeri del Triton X-100, è stata eseguita comparando i tempi di ritenzione e gli spettri UV dei picchi incogniti con quelli degli standard precedentemente registrati.

L'identificazione dei composti organici in GC e GC-MS, è stata effettuata comparando gli spettri di massa dei campioni con quelli riportati nelle librerie NBS, NIST e in quella creata nell'ambito del nostro gruppo di ricerca utilizzando composti standard.



La conferma dell'identificazione è stata quindi effettuata facendo uso degli indici di ritenzione gascromatografici calcolati secondo van den Dool e Kratz (1963) e Tejada e Sigsby (1988) rispetto a otto n-alcani (C-8, C-12, C-16, C-20, C-24, C-28, C-32, C-34) scelti come standard.

Per quanto attiene invece alla determinazione quantitativa, sia per quanto riguarda l'analisi dell'acqua che per quella del particolato, si è proceduto alla esecuzione di una prova di recovery mediante l'aggiunta di standard interni. In particolare gli standard aggiunti sono stati 1-eicosene per la classe degli alcani, n-esilbenzene per alchilbenzeni e idrocarburi policiclici aromatici, di-n-eptilftalato per gli ftalati e 2,4,6-trimetilfenolo per gli alchilfenoli.

Campioni di “bianco” sono stati analizzati in parallelo con i campioni reali usando le medesime tecniche analitiche.

Le determinazioni quantitative, che si riferiscono alla media su cinque analisi per ciascun campione trattato, hanno una deviazione standard oscillante tra l'8 e il 15% in dipendenza del composto preso in esame.

## **2.9 ANALISI QUALI-QUANTITATIVA DELLA FLORA MICROBICA**

### **ADESA ALLE RADICI**

Sono state determinate la carica batterica totale e il numero di specie batteriche adese alle radici delle *Phragmites australis*, su campioni prelevati a 80 cm dall'ingresso e ad una profondità di 25 cm. Per il campionamento è stato utilizzato l'apparecchio descritto nel paragrafo 2.2.4, avendo cura di evitare contaminazioni dello stesso.

Le radici sono state poste in sacchetti sterili di polietilene e trasportate nel laboratorio, dove sono state immediatamente pesate, lavate con soluzione fisiologica sterile (soluzione acquosa di cloruro di sodio 0.9%) e ridotte in poltiglia utilizzando un mortaio con pestello. La poltiglia è stata addizionata di 10 ml di soluzione fisiologica e la sospensione risultante diluita in soluzione fisiologica (diluizione finale  $10^{-4}$ ). La sospensione così ottenuta è stata seminata per spatolamento su terreni di coltura agarizzati e posta ad incubare a 25 °C per 1 settimana, prima di effettuare la conta delle colonie (stima della carica batterica totale) e l'osservazione delle loro caratteristiche morfologiche. Le singole colonie sono state isolate e sottoposte a processo di identificazione biochimico utilizzando il sistema Biolog.

## **2.10 ANALISI DEGLI INDICI DI CONTAMINAZIONE FECALE**

Per dare una misura del carico inquinante microbiologico delle acque in ingresso ed uscita dal depuratore (sia a fanghi attivi che fitodepuratore) si fa generalmente riferimento a diversi microrganismi indici di contaminazione fecale: coliformi totali e fecali e streptococchi fecali. I coliformi fecali sono microrganismi commensali dell'intestino umano ed animale, mentre i coliformi totali comprendono anche specie di origine ambientale; insieme agli streptococchi fecali sono presenti in quantità molto elevate nei liquami e dunque sono ottimi indicatori.

L'indagine è stata condotta durante il periodo di un anno (Ottobre 1998-Settembre 1999), al fine di



ottenere un quadro completo sullo stato dell'impianto e conoscerne le eventuali variazioni di funzionalità in relazione ai cambiamenti stagionali.

I prelievi sono stati effettuati con diversa frequenza con un minimo di uno ogni due mesi. Il campionamento è effettuato rispettando le norme di sterilità.

Sono stati stabiliti sei punti di prelievo:

- ingresso dell'impianto a fanghi attivi (IA);
- entrata della vasca SF-h, dopo sedimentazione del liquame (ISF);
- uscita del refluo dal sistema SF-h (USF);
- uscita del refluo dall' impianto classico (UA);
- ingresso, dopo sedimentazione, dell'impianto di post-trattamento, alimentato dai reflui di uscita dell'impianto a fanghi attivi (IPT) ;
- uscita dal sistema di post-trattamento (UPT).

I parametri microbiologici di controllo delle acque reflue, previsti e non, dalla normativa 319/76 (Legge Merli), sono valutati utilizzando metodiche MPN (Most Probable Number).

#### *2.10.1 Metodi di analisi*

La tecnica MPN (American Public Health Association et al., 1989) è un metodo fondato sull'elaborazione statistica dei dati positivi e negativi ricavati da più semine del campione diversamente diluito in opportuni terreni di coltura liquidi.

Si utilizzano frazioni prefissate di campione per avere la possibilità di letture immediate della carica batterica attraverso tabelle già standardizzate.

I risultati dei test batteriologici effettuati in base a diluizioni decimali multiple con 3 o 5 provette per diluizione, sono espressi in forma di codici; cioè con un insieme di tre numeri rappresentanti ognuno il numero di provette risultate positive nella corrispondente diluizione (le tre diluizioni vengono ordinate secondo quantità decrescenti di acqua seminata). Ad ogni codice corrisponde un valore di carica batterica.

#### *2.10.2 MPN Coliformi*

Per coliformi si intendono bastoncini gram-negativi non formanti spore e fermentanti il lattosio con produzione di gas entro 48 h a 35° C (American Public Health Association et al., 1989).

La determinazione quantitativa di coliformi nel refluo è eseguita in doppio:

- Prova presuntiva
- Prova di conferma



### 2.10.2.1 Prova presuntiva

Si utilizzano quattro triplette di tubi di brodo lattosato (Oxoid) a singola concentrazione, ogni tripletta è inoculata con volumi del campione opportunamente diluito, in modo da ottenere una successione di triplette inoculate con diluizioni crescenti

Le diluizioni utilizzate per i diversi campioni vengono stabilite in relazione al diverso carico inquinante dei punti esaminati:

- campioni di ingresso (IA e ISF): diluizioni da -3 a -6;
- campioni di uscita e ingresso del post-trattamento (UA, USF, IPT): diluizioni da -1 a -4;
- il campione UPT necessita di un trattamento differenziato.

Si utilizzano tre serie di cinque tubi di cui una serie con terreno doppio concentrato (10 ml) e le altre due con terreno a concentrazione singola; si inoculano 10 ml di campione nella prima serie (si mantiene il rapporto di 1: 1 tra terreno e campione) e 1 ml e 0,1 ml nelle due serie successive.

Il trasferimento dei volumi di campione è stato effettuato utilizzando pipette di plastica sterili.

La positività data dalla crescita batterica, dopo incubazione a 37° C per 48 h, è facilmente evidenziata. La caratteristica fisiologica tipica dei coliformi è la fermentazione del lattosio con produzione di gas ed acidificazione del mezzo di coltura; si considerano, dunque, positivi i tubi che presentano torbidità e formazione di gas (visibile come bolle d'aria in campanelle Durham situate nel brodo).

### 2.10.2.2 Prova di conferma

Si effettuano, quindi, prove di conferma utilizzando un terreno di coltura selettivo per i coliformi: il brodo verde brillante (Oxoid).

Si prelevano dai tubi positivi aliquote di terreno con un'ansa sterile e si inoculano nel terreno specifico (l'operazione si ripete tre volte per una maggiore sicurezza di trasferimento di batteri).

Le conferme vengono effettuate in doppio e si incubano a temperature diverse:

44° C per 48 h per mettere in evidenza la presenza dei coliformi fecali;

37° C per 48 h per identificare i coliformi totali.

Le letture definitive si eseguono verificando la presenza di gas e la torbidità del terreno.

### 2.10.3 MPN streptococchi fecali

Il gruppo degli streptococchi fecali comprende un certo numero di specie del genere *Streptococcus* isolati dalle feci di animali a sangue caldo. L'habitat abituale di queste specie è infatti il tratto gastro-intestinale di animali a sangue caldo. Gli streptococchi fecali sono utilizzati, insieme ai coliformi fecali, per discriminare la contaminazione fecale umana da quella animale. Il rapporto tra i due, infatti, può dare informazioni sulla fonte di contaminazione (American Public Health



Association et al., 1989).

#### *2.10.3.1 Prova presuntiva*

Si procede, come già visto per i coliformi, inoculando una serie di tubi di brodo azide (Oxoid) con appropriate quantità di campione diluito come di seguito:

- campioni di ingresso (IA e ISF): diluizioni da -2 a -5;
- campioni di uscita e ingresso del post-trattamento (UA, USF, IPT): da non diluito a diluizione -3;
- campione UPT: come per MPN coliformi.

I tubi sono incubati a 37° C per 48 h.

Nel brodo azide indica positività la formazione di un deposito batterico sul fondo della provetta insieme all'intorbidamento del mezzo di coltura.

#### *2.10.3.2 Prova di conferma*

Si effettuano, quindi, prove di conferma utilizzando un terreno di coltura selettivo per gli streptococchi fecali: il brodo EVA, etil violetto azide (Oxoid). Si prelevano dai tubi positivi aliquote di terreno con un'ansa sterile e si inoculano nel terreno specifico (l'operazione si ripete tre volte per una maggiore sicurezza di trasferimento di batteri).

Si incubano i tubi a 37° C per 48 h. Le letture definitive si eseguono verificando la presenza di un precipitato violaceo sul fondo della provetta insieme all'intorbidamento del mezzo di coltura.

## **2.11 CARATTERIZZAZIONE DEI SUOLI DANESI RISPETTO ALLE LORO PROPRIETA' IDRAULICHE**

Per ogni suolo investigato sono state determinate le seguenti proprietà idrauliche: coefficiente di uniformità dimensionale, porosità, densità e conducibilità idraulica.

Il coefficiente di uniformità dimensionale è stato calcolato sui materiali, essiccati e setacciati sulla base di quanto precedentemente riportato da Day (1965), come il rapporto tra  $d_{60}$  e  $d_{10}$ , dove  $d_{60}$  e  $d_{10}$  rappresentano rispettivamente i diametri al di sotto dei quali si ha il 60 e il 10% in peso del materiale.

La porosità è stata determinata misurando ( $n=3$ ) la quantità di acqua che occorre per saturare un volume noto di materiale, mentre la densità ( $\text{g/cm}^3$ ) fu ottenuta dividendo il peso secco del materiale per il suo volume ( $n=3$ ).

La conducibilità idraulica è stata determinata con il metodo della costante di testa ( $n=5$ ) in accordo con Klute (1965).



## **2.12 PROVE DISCONTINUE DI RIMOZIONE DEL FOSFORO**

Gli esperimenti sono stati condotti pesando circa 5 g di ogni materiale ( $n = 2$  o  $3$ ) e ponendoli in bottiglie di polietilene, sotto agitazione per 20 ore a temperatura ambiente, con aliquote da 100 ml di acqua di rubinetto tal quale e addizionata di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  fino a raggiungere livelli di concentrazione di P pari a 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 160 e 320 mg/l. Nell'esperimento sono state anche incluse bottiglie contenenti esclusivamente acqua di rubinetto addizionata di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  alle concentrazioni suddette, per valutare eventuali perdite di fosforo, durante l'esperimento, non dovute al suolo testato. Al termine dell'agitazione, i campioni sono stati tenuti a riposo per 1 ora e quindi, una aliquota del surnatante è stata filtrata ed analizzata nel contenuto di ortofosfato, come descritto in 2.2.4. La quantità di fosforo rimossa fu calcolata dalla diminuzione di concentrazione nella soluzione. Le misure di pH e conducibilità sono state invece eseguite su aliquote di campioni non filtrati.

## **2.13 PROVE DI RIMOZIONE DEL FOSFORO IN CONTINUO SU COLONNE**

E' stata studiata la rimozione del fosforo da parte di colonne ( $n=2$ ) riempite con circa 1000 g di ciascuno dei materiali e alimentate in modo continuo per 84 giorni con acqua di rubinetto addizionata di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  fino a raggiungere una concentrazione in P pari a 10 mg/l e il cui pH era stato aggiustato a circa 6.9.

Il contenuto in P dei campioni di acqua in uscita, nonché il loro pH e la loro conducibilità sono stati monitorati giornalmente come descritto in precedenza.

Al termine degli esperimenti in colonna, i materiali ( $n=2$ ) sono stati sottoposti ad una sequenza di estrazioni secondo il seguente schema (Hieltjes e Lijklema, 1980):

- due estrazioni consecutive con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 M a pH = 7 (P adsorbito);
- due estrazioni consecutive con NaOH 0.1 M ed una estrazione con NaCl 1M (P legato con Al e Fe);
- una estrazione con HCl 0.5M (P legato con Ca e Mg).

Il P residuo è stato infine determinato dopo riscaldamento dei materiali a  $550^\circ\text{C}$  ed estrazione con HCl 1M bollente.

Campioni provenienti dalle colonne dopo il termine dell'esperimento sono stati anidrificati a peso costante per determinarne il contenuto di acqua.







### 3 RISULTATI E DISCUSSIONE

#### 3.1 ANALISI DEI PARAMETRI DI ROUTINE

In Tabella 1 sono riportati i dati relativi alla rimozione dei vari parametri di routine per il sistema SF-h, dai quali si evince il generale buon funzionamento di questo sistema per il trattamento di liquami di tipo civile. Un esame più approfondito del funzionamento del sistema può essere condotto analizzando i singoli parametri.

Per il sistema verticale una simile Tabella risulterebbe troppo complicata in quanto le analisi sull'SF-v sono state condotte, non solo in tempi diversi, ma anche testando differenti tempi di ritenzione idraulica. Per questa ragione, i dati sono stati riportati esclusivamente parametro per parametro, nei relativi capitoli.

**Tabella 1 – Media e intervallo delle concentrazioni (mg/l) determinate in ingresso e in uscita al sistema SF-h per COD, BOD<sub>5</sub>, detergenti anionici (D.A.), PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SST e pH durante l'intero periodo di funzionamento (Novembre 1997-Ottobre 1998, n=20-28) e per N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> nel corso dell'ultimo anno di esercizio (Novembre 1998-Ottobre 1999, n=36).**

	Periodo	T (°C)	Ingresso	Uscita	Rimozione (%)
<b>COD</b>	-	-	161 (70-510)	33 (6-96)	79.5
<b>BOD<sub>5</sub></b>	-	-	121 (58-438)	29 (5-78)	76.0
<b>D.A.</b>	-	-	4.87 (2.29-7.18)	1.31 (0.1-5.12)	73.1
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	-	-	6.8 (1.3-13.7)	0.9 (0.1-2.3)	86.5
<b>SST</b>	-	-	69.5 (31.2-370.4)	5.1 (0.9-15.0)	92.7
<b>pH</b>	-	-	7.05 (6.88-7.31)	6.97 (6.86-7.23)	-
<b>N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Nov-Ott	-	26.91 (2.42-47.06)	0.11 (0.01-0.32)	98.9 (91.0-99.9)
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Nov-Feb	7 (5-10)	26.35 (20.74-34.10)	20.33 (13.36-29.59)	33.1 (13.0-45.1)
	Mar-Ott	23 (12-32)	35.4 (12.2-43.7)	1.32 (0.03-5.9)	96.6 (80.1-99.3)

##### 3.1.1 Rimozione dell'azoto

###### 3.1.1.1 Meccanismi di rimozione

La rimozione dell'azoto nelle zone umide costruite avviene attraverso vari meccanismi che includono la volatilizzazione, l'ammonificazione, la nitrificazione/denitrificazione, l'assunzione diretta da parte delle piante e l'adsorbimento da parte del "medium".

Quest'ultimo può essere dovuto a uno scambio cationico dello ione NH<sub>4</sub><sup>+</sup> o anionico degli ioni NO<sub>2</sub><sup>-</sup>



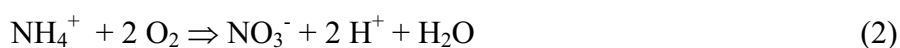
e  $\text{NO}_3^-$  con il materiale presente all'interno della vasca. E' presumibile che il processo sia rapidamente reversibile dando luogo a un equilibrio tra l'ammonio adsorbito e quello disciolto (Vymazal, 1998); conseguentemente questo processo non dovrebbe costituire un meccanismo di rimozione importante se non nel primo periodo di vita dell'impianto.

In accordo con Brix (1994) anche l'assunzione diretta da parte delle piante è trascurabile se comparata con i normali carichi di azoto che si registrano nei liquami di tipo civile. Inoltre questo meccanismo di rimozione può essere preso in considerazione solo nel periodo vegetativo delle piante e se queste vengono periodicamente potate.

L'ammonificazione è il processo di mineralizzazione dell'azoto organico che dà luogo ad azoto ammoniacale. La reazione è tanto più veloce quanto più l'ambiente è ricco di ossigeno e dà luogo ad un surplus di ammoniaca rispetto a quella misurata in ingresso.

La volatilizzazione dell'ammoniaca è trascurabile a pH circa uguale a 7 (valore di pH proprio delle zone umide costruite); solo a  $\text{pH} = 9.3$ , il rapporto tra  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_3$  è pari a uno e la rimozione di ammoniaca per volatilizzazione diventa probabilmente significativa.

La nitrificazione è una reazione che consta di due stadi, l'ossidazione dell'ammoniaca a nitrito e l'ulteriore ossidazione del nitrito a nitrato; i due processi possono essere riassunti con la seguente reazione:



La stechiometria della reazione (1) indica che per ossidare 1 mg di azoto ammoniacale occorrono 4.6 mg di ossigeno. Opinioni contrastanti sono presenti in letteratura circa la reale capacità da parte delle piante di pompare ossigeno all'interno del medium e, conseguentemente, di rimuovere efficacemente l'N ammoniacale per nitrificazione.

La denitrificazione è invece la riduzione del nitrato a azoto molecolare o a diossido di azoto in presenza di carbonio organico disponibile. Il processo di denitrificazione avviene di solito in condizioni anaerobiche o anossiche, ma può aver luogo anche in presenza di ossigeno (Kadlec e Knight, 1996; Vymazal et al., 1998). Le reazioni che descrivono il processo sono le seguenti:



in ambedue i casi si nota un incremento dell'alcalinità di circa 4.4 mg/l di  $\text{HCO}_3^-$  per mg di azoto nitrico ridotto, in contrasto con la sua maggior diminuzione nel caso della nitrificazione (approssimativamente 8.7 mg di  $\text{HCO}_3^-$  per mg di azoto ammoniacale ossidato).

Sulla base della descrizione dei meccanismi suddetti, la rimozione dell'azoto può ragionevolmente essere considerata come dovuta esclusivamente al processo di nitrificazione/denitrificazione.

### 3.1.1.2 Efficienza di rimozione del sistema SF-h

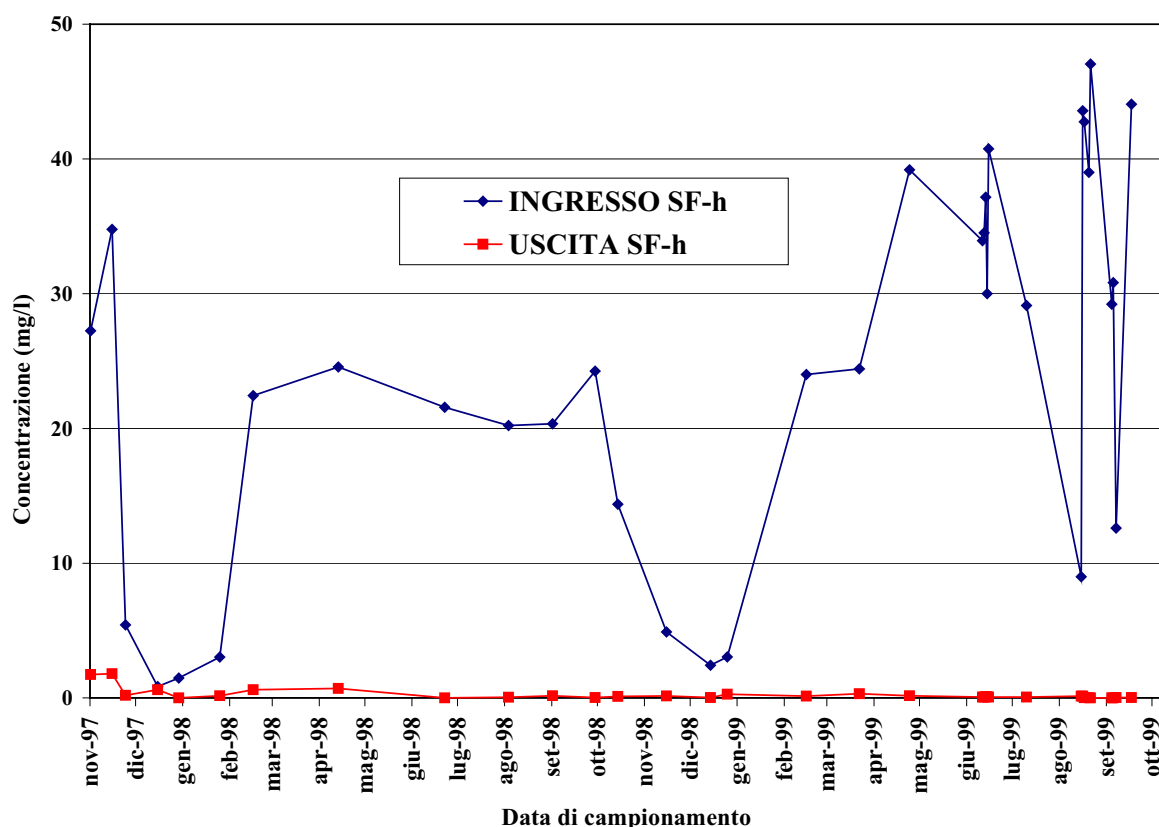
Per quanto riguarda l'azoto nitroso, i valori di concentrazione riscontrati sono stati spesso al di sotto



del limite di rivelabilità (0.001 mg/l) e comunque non hanno mai superato il valore di 0.01 mg/l; per questa ragione possono essere considerati trascurabili rispetto a quelli dell'azoto nitrico.

In accordo con i meccanismi di trasformazione dell'ammoniaca sopra descritti, possiamo considerare l'azoto ammoniacale rimosso uguale a quello nitrico prodotto. Perciò, i valori di concentrazione dell'azoto nitrico riportati, includono i corrispondenti valori di azoto ammoniacale rimosso. Solo in questo modo, infatti, è possibile valutare in modo corretto la capacità denitrificante del sistema in esame.

In Figura 6 sono riportati i valori delle concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e in uscita all'impianto SF-h.



**Figura 6 – Concentrazioni di azoto nitrico in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**

Le concentrazioni riportate in Figura 6 indicano che la rimozione del nitrato non segue un andamento di tipo stagionale. Non si registra, infatti, nella qualità dell'effluente, alcuna significativa differenza tra il periodo invernale e quello estivo.

In Tabella 1 sono riportati il valore medio e gli intervalli di concentrazione per l' $\text{N-NO}_3^-$  ritrovati in entrata e in uscita al sistema SF-h durante l'ultimo anno di funzionamento (Novembre 1988-Ottobre 1999); l'elevatissima efficienza di rimozione osservata nel corso di questo periodo (durante il quale l'impianto può essere considerato a regime), indica la grande abilità di questo tipo di sistema nel



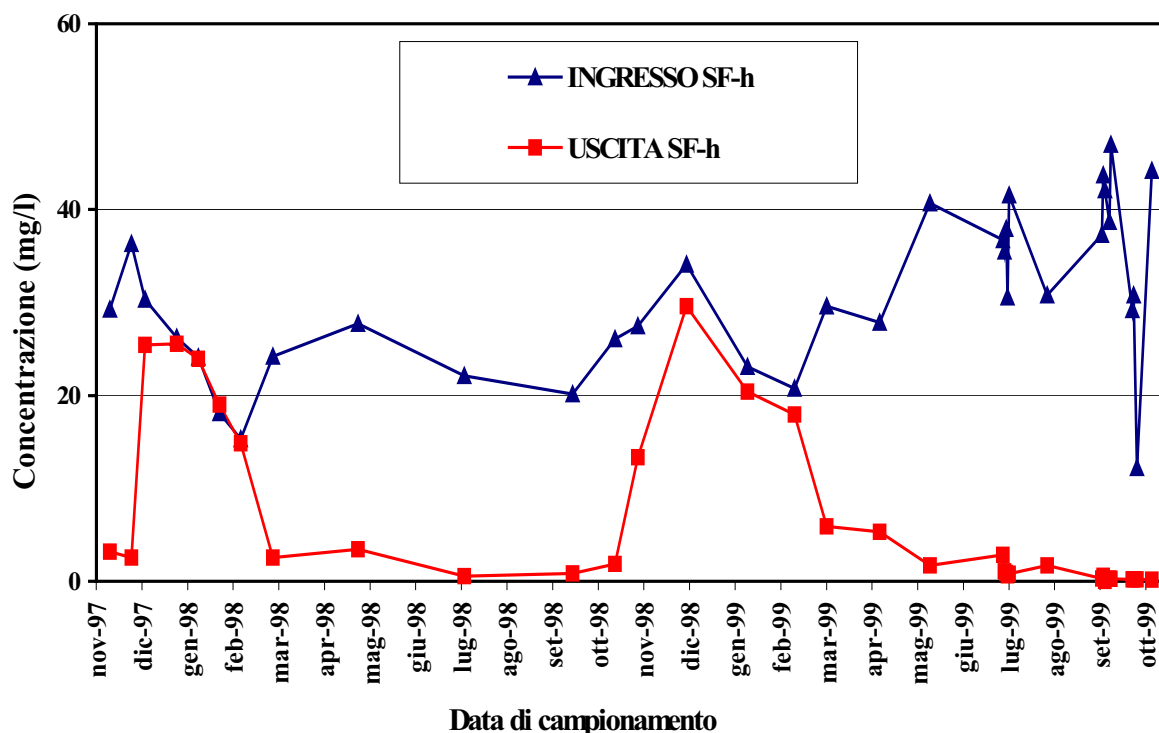
rimuovere l'N-nitrico per denitrificazione.

In Figura 7 sono riportati i valori delle concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e in uscita all'impianto SF-h.

Estremamente interessante è l'andamento della percentuale di rimozione dell'ammoniaca nei primi tre mesi di vita dell'impianto, caratterizzati da basse temperature e mancanza di crescita delle piante; tali condizioni lasciano prevedere l'assenza di popolazioni batteriche nitrificanti (aerobiche) e quindi l'impossibilità di abbattere l'ammoniaca. Come si vede in Figura 7 l'N ammoniacale viene fortemente rimosso durante il primo mese di funzionamento (percentuale di rimozione > 90%). Già alla metà di dicembre, la % di rimozione cala drasticamente per poi attestarsi a valori prossimi allo 0 % nei mesi invernali successivi, in accordo con il già citato meccanismo di adsorbimento da parte del "medium".

Nel periodo seguente, che può essere considerato progressivamente sempre più vicino alle condizioni di regime, si nota un andamento della rimozione di tipo stagionale con buoni rendimenti depurativi durante i mesi caldi e percentuali di rimozione decisamente più basse in quelli freddi. In particolare (vedi Tabella 1), nei quattro mesi invernali (temperatura media 7 °C, range pari a 5-10), a fronte di un valore medio in ingresso di 26.35 mg/l (range pari a 20.74-34.10) si è registrato un valore medio in uscita di 20.33 mg/l (range pari a 13.36-29.59) il che corrisponde ad una rimozione media del 33% (range pari a 13-49). Nei restanti otto mesi, caratterizzati da T decisamente più elevate (temperatura media 23 °C, range pari a 12-32), il valore medio in ingresso fu 31.6 mg/l (range pari a 9.1-43.7) e quello in uscita 1.32 mg/l (range pari a 0.03-5.9), corrispondenti ad una rimozione media del 96% (range pari a 80-99.3).





**Figura 7 - Concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**

I dati ottenuti in questo studio sono stati utilizzati per stimare la velocità di rimozione dell'N-ammoniacale.

Per ogni valore sperimentale della temperatura è stata calcolata la costante di velocità di rimozione e il fattore di temperatura  $\theta$ . E' stato assunto inizialmente che i parametri rappresentativi della velocità di rimozione, correlati con la temperatura, seguissero la seguente relazione (Reed et al., 1995):

$$C_{OUT}/C_{IN} = \exp (K_T \cdot t) \quad (5)$$

e

$$K_T = K_{20} \cdot \theta^{(T-20)} \quad (6)$$

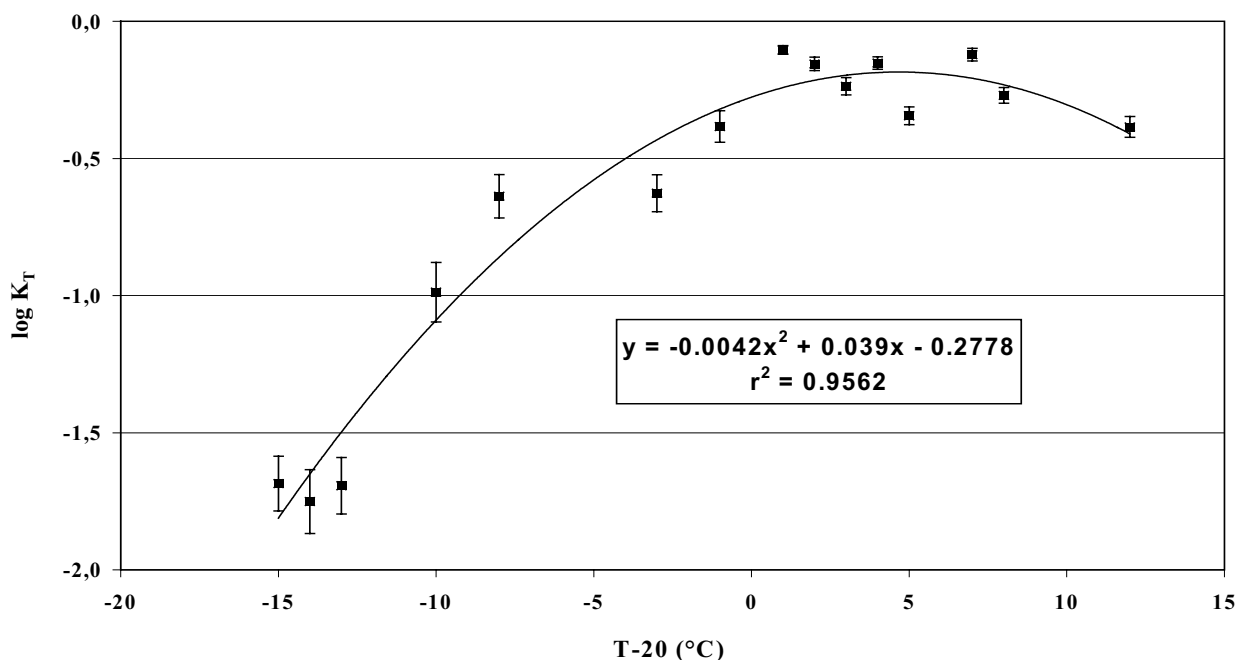
dove:

- $K_T$  = costante di velocità relativa alla rimozione dell'ammoniaca ( $\text{giorni}^{-1}$ );
- $t$  = tempo di ritenzione idraulica (giorni);
- $C_{IN}$  = concentrazione dell'ammoniaca in ingresso (mg/l);
- $C_{OUT}$  = concentrazione dell'ammoniaca in uscita (mg/l);
- $T$  = temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ );
- $\theta$  = fattore di temperatura.



Sulla base della relazione (6), è possibile plottare il  $\log K_T$  contro T-20 (Figura 8). Una buona correlazione fra i dati fu trovata usando una regressione di tipo polinomiale ( $r^2=0.9562$ ). Da questo grafico, attraverso l'intercetta sull'asse y, può essere determinato il  $\log K_{20}$  e quindi la  $K_{20}$  stessa, mentre  $\log \theta$  può essere calcolato dalla porzione di equazione che è funzione di T-20.

**Figura 8 – Grafico del  $\log K_T$  contro T-20 e regressione polinomiale dei dati.**



Il  $\log K_{20}$  così calcolato assume un valore di  $-0.2778$ , conducendo ad una  $K_{20}$  pari a 0.5275 (il valore di  $K_{20}$  riportato da Reed per un impianto totalmente occupato da piante è 0.4304).

Il  $\log$  di  $\theta$  è pari a  $-0.042 \cdot (T-20) + 0.039$ , e conduce a un valore di  $\theta$  di 1.2405 a 7 °C e di 1.0627 a 23 °C (il valore di  $\theta$  riportato da Reed è 1.048).

Tale cinetica rappresenta tra l'altro il reale andamento del processo di nitrificazione rispetto alla temperatura. I batteri nitrificanti, infatti, sono caratterizzati da un range ottimale della temperatura di lavoro compreso tra i 15 e i 35 °C, mentre la loro efficienza cala drasticamente per temperature minori di 10 °C (Vymazal et al., 1998).

Per comprendere se i valori di rimozione dell'azoto ammoniacale sono o meno in accordo con i livelli di  $O_2$  rilasciati presumibilmente dai rizomi sulla base dei dati di letteratura è possibile calcolare un bilancio dell' $O_2$  consumato nei vari processi. Possiamo considerare due fondamentali processi che avvengono nel sistema di depurazione e che richiedono una certa quantità di ossigeno:

- nitrificazione dell'N-ammoniacale;
- ossidazione del C organico eccedente quello richiesto dai processi di denitrificazione come fonte di elettroni.

Per il nostro calcolo possiamo considerare la variazione di COD dall'ingresso all'uscita come una



misura indiretta della materia organica rimossa. Tale materia organica può essere valutata attraverso il COD totale, ammettendo che questa venga rimossa completamente per ossidazione. Viceversa, considerando il solo COD relativo alla componente solubile, si ammette che la rimozione della materia organica insolubile avvenga per sedimentazione.

Assumendo che 1 mg di N-nitrico corrisponda a 2.85 mg di ossigeno, è possibile calcolare la quantità di COD equivalente alla materia organica rimossa nel processo di denitrificazione. Per differenza, ottengo quindi, l'ossigeno richiesto per l'ossidazione della materia organica eccedente la denitrificazione stessa. E' così possibile calcolare la quantità di ossigeno che dovrebbe essere utilizzato per i suddetti processi. I risultati di questi calcoli danno un valore di ossigeno richiesto compreso tra 4.1 e 5.6 g/m<sup>2</sup>·d, che è in accordo con i dati di Armstrong et al. (1990).

Assumendo che l'N rimosso sia tutto e solo quello nitrico, calcolato come descritto precedentemente, ed esprimendolo sulla base dei dati di Tabella 1, cioè come media relativa a 36 determinazioni effettuate durante l'ultimo anno di funzionamento, è possibile fornire una stima della quantità di azoto mediamente rimossa dal sistema SF-h. Il valore così calcolato è pari a 0.73 g/m<sup>2</sup>·giorno che conduce ad una richiesta di area per abitante equivalente di circa 16 m<sup>2</sup>. Tale richiesta aumenta di un fattore circa uguale a 4 ( $\approx 66$  m<sup>2</sup>/P.E.) se consideriamo esclusivamente il periodo invernale (Novembre 1998-Febbraio 1999), durante il quale si riscontra la minore efficienza di rimozione, per quanto riguarda l'N ammoniacale.

I parametri di qualità stabiliti dalla Legge 152/99, per gli scarichi in acque superficiali, prevedono per l'azoto ammoniacale un limite rispettivamente di 10 e 15 mg/l per aree classificate come sensibili o standard. Sulla base dei valori medi riportati in Tabella 1, è perciò possibile esprimere un valore di area superficiale per persona equivalente necessario al mantenimento dell'effluente entro i limiti di Legge. Tale valore risulta essere pari a 11 m<sup>2</sup>/P.E. (valore medio annuale) e 176 m<sup>2</sup>/P.E. (valore invernale) per aree sensibili e pari a 7 m<sup>2</sup>/P.E. (valore medio annuale) e 117 m<sup>2</sup>/P.E. (valore invernale) per aree non sensibili.

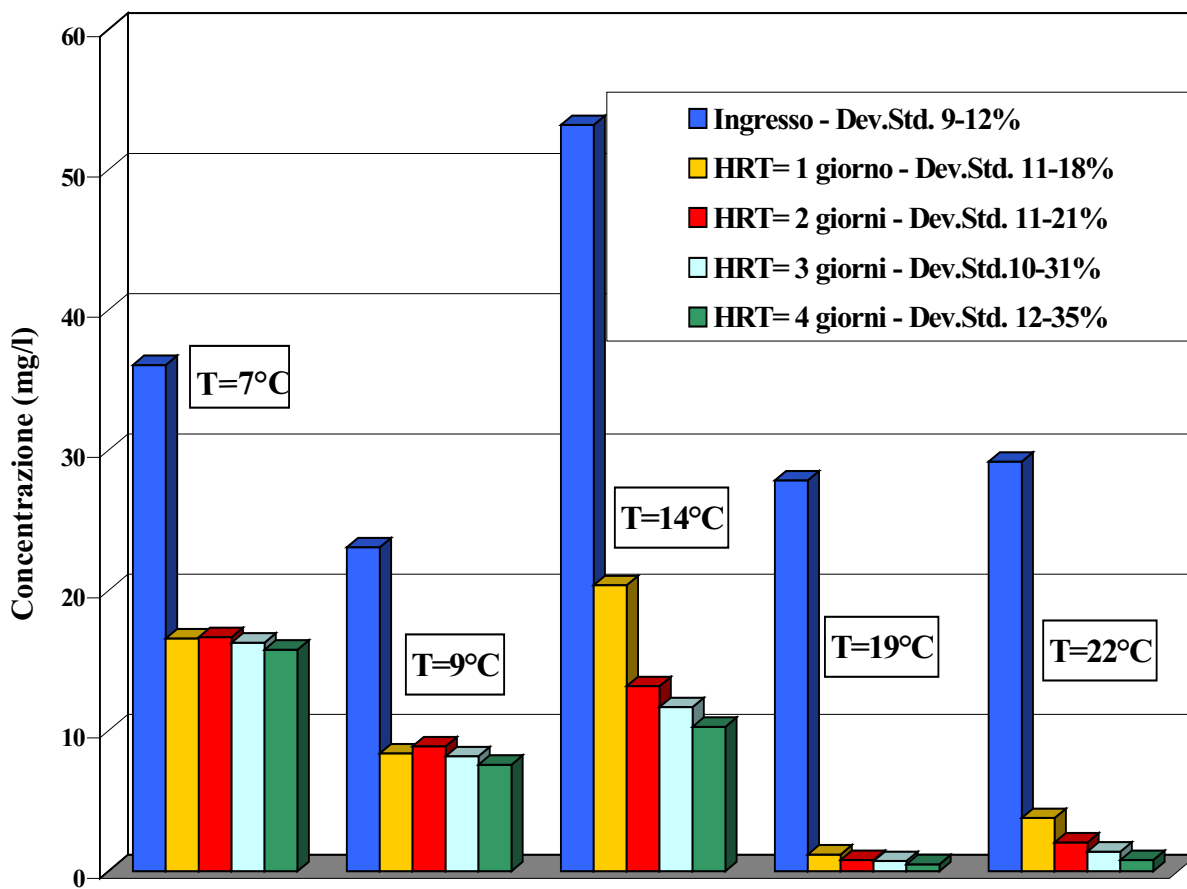
I risultati mostrati indicano chiaramente la necessità di considerare un trattamento addizionale a quello fitodepurativo orizzontale per la rimozione dell'ammoniaca nel periodo invernale.

#### *3.1.1.3 Efficienza di rimozione del sistema SF-v*

Una possibile soluzione a questo problema, come già accennato nella Introduzione di questo lavoro di Tesi, risiede nella utilizzazione di sistemi verticali, in sostituzione o in abbinamento a quelli orizzontali. In Figura 9 e 10 sono riportati gli istogrammi relativi alla rimozione dell'azoto ammoniacale e nitrico, a differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).

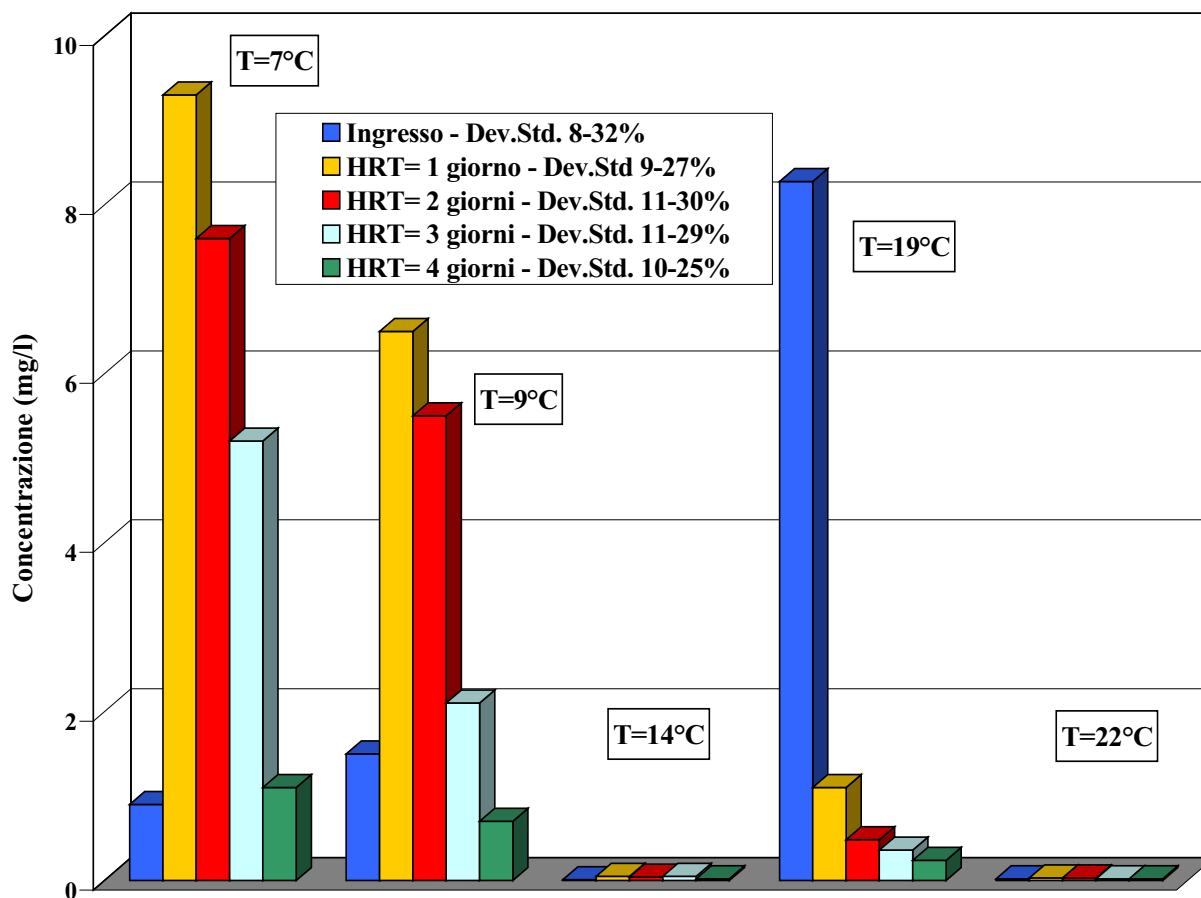


**Figura 9 - Rimozione dell'N ammoniacale nel sistema SF-v (media di tre determinazioni) a**



**differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).**





**Figura 10 – Rimozione dell’N nitrico nel sistema SF-v (media di tre determinazioni) a differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).**

I dati relativi all’N nitroso non sono riportati in quanto molto spesso al di sotto del limite di rivelabilità e comunque inferiori a 0.07 mg/l. Per l’effettuazione dello studio, il sistema è stato periodicamente tenuto vuoto per 24 ore in modo da favorirne la “ricarica” in termini di ossigeno e quindi riempito con il liquame fino a circa 5 cm dalla superficie del letto. Si sono quindi effettuate le misure dopo 1, 2, 3 e 4 giorni. Ogni valore di concentrazione presentato è la media dei risultati ottenuti prelevando i campioni a diverse profondità (circa 20, 40 e 60 cm). Ogni misura è stata ripetuta tre volte per ogni temperatura e gli intervalli dei valori di deviazione standard (Dev.Std.)



ottenuti sono riportati sui grafici. Tale tipo di procedura, descritta ora per l'azoto, è stata utilizzata per l'analisi di tutti i parametri di routine.

I valori riscontrati per le diverse profondità non risultano significativamente differenti, anche se, per quanto riguarda l'N ammoniacale e  $HRT = 2, 3$  e 4 giorni, il dato a 20 cm è stato costantemente più basso degli altri. Ciò sembra indicare una maggiore concentrazione locale di ossigeno che probabilmente deriva dalla diffusione dell'aria sovrastante.

In base ai dati ottenuti possono essere fatte le seguenti considerazioni.

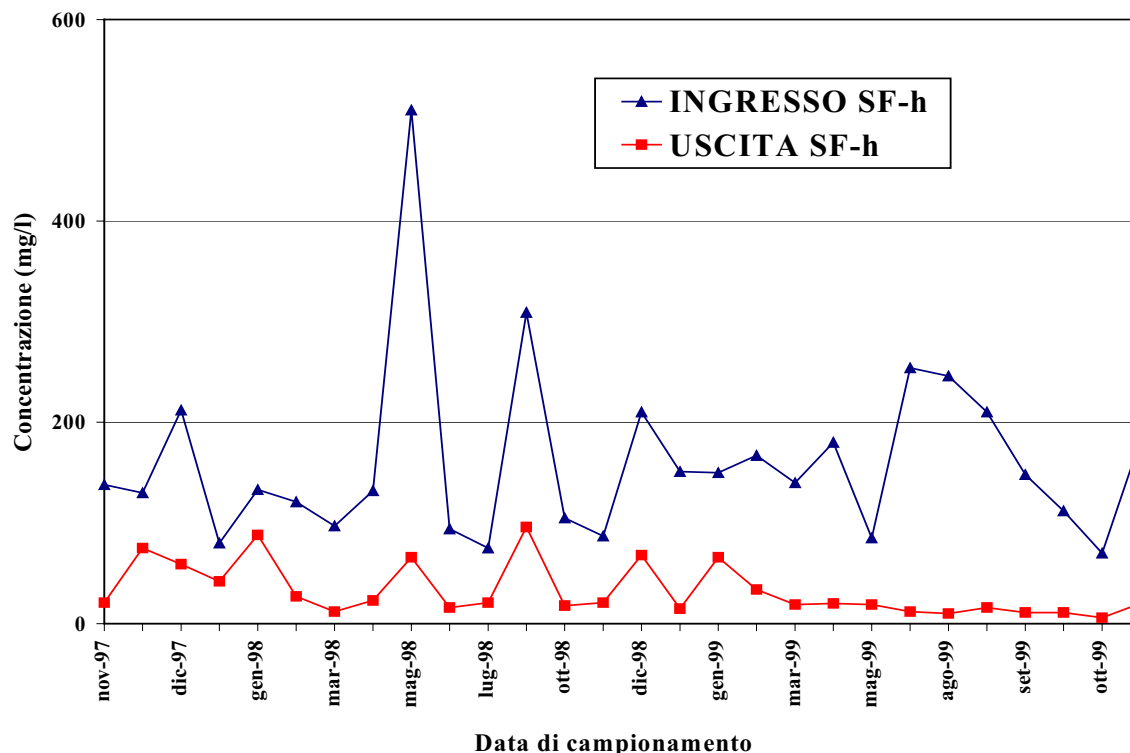
- L'abbattimento più marcato di N ammoniacale è sempre stato ottenuto in corrispondenza del primo giorno di HRT, fenomeno probabilmente da attribuire all'ossigeno di ricarica. La quantità rimossa per  $HRT=1$  giorno, varia da 5.5 a 12.3  $g/m^2 \cdot \text{giorno}$  e risulta così nettamente superiore rispetto a quella relativa al sistema orizzontale.
- Per l'N ammoniacale si individuano due distinti andamenti passando dalle basse (7 e 9°C) alle alte temperature. Nel primo caso l'abbattimento complessivo è identificabile, con buona approssimazione, con quello relativo all'ossigeno di ricarica ( $HRT=1$  giorno). Nel secondo vi è invece una costante e continua rimozione dell'ammoniaca anche nei giorni successivi, che conduce a valori entro i limiti di Legge. L'andamento della rimozione con la temperatura, conferma quanto precedentemente osservato per il sistema orizzontale e indica ancora una volta il fondamentale ruolo delle piante nel fornire ossigeno ai liquami.
- L'N nitrico, calcolato senza tenere conto del contributo della nitrificazione dell'ammoniaca, mostra un generale buon abbattimento. Per basse temperature (7 e 9°C) e per  $HRT=1$  giorno, si nota un incremento della concentrazione di nitrato, dovuto al surplus di N-nitrico prodotto per nitrificazione dell'ammoniaca e accompagnato da un rallentamento del processo di denitrificazione imputabile sia ai bassi valori di temperatura sia, probabilmente, alle alte concentrazioni di ossigeno presenti nel corso del primo giorno di residenza. A temperature più elevate la rimozione del nitrato è sensibilmente maggiore, anche nel caso in cui sia presente in ingresso a concentrazioni significative.

### *3.1.2 Rimozione della materia organica*

#### *3.1.2.1 Efficienza di rimozione del sistema SF-h*



La rimozione della materia organica è stata valutata attraverso l'osservazione dei parametri COD, BOD<sub>5</sub> e la determinazione dei detergenti anionici. In Figura 11 sono riportati i valori di COD in ingresso e in uscita all'impianto SF-h.



**Figura 11 - Andamento del COD in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**

I valori di COD, come evidenziato nella Tabella 1, si sono mantenuti ampiamente entro i limiti previsti dalla Legge 152/99, per tutto il periodo monitorato. E' comunque da sottolineare un apprezzabile incremento delle prestazioni dell'impianto durante il periodo Marzo-Ottobre 1999. Tale periodo, oltre che climaticamente più favorevole, può essere considerato come quello più prossimo alle condizioni di regime in considerazione della data di costruzione dell'impianto (Ottobre 1997). Facendo riferimento ai dati di rimozione dell'ultimo anno di esercizio (Novembre 1998-Ottobre 1999) è quindi possibile effettuare una stima quantitativa teoricamente più attendibile dell'abbattimento ottenibile con questo tipo di sistema. Il valore medio in ingresso è 159 mg/l, mentre quello in uscita è 23 mg/l, che conducono ad una rimozione di 3.7 g/m<sup>2</sup>-giorno. Questo dato appare notevolmente sottostimato se consideriamo che, in base a tale valore, la concentrazione massima sopportabile dal sistema per rimanere nei limiti di Legge (125 mg/l) dovrebbe essere 260 mg/l; infatti nella serie storica presentata in Figura 11 possiamo notare che, a fronte di ingressi di

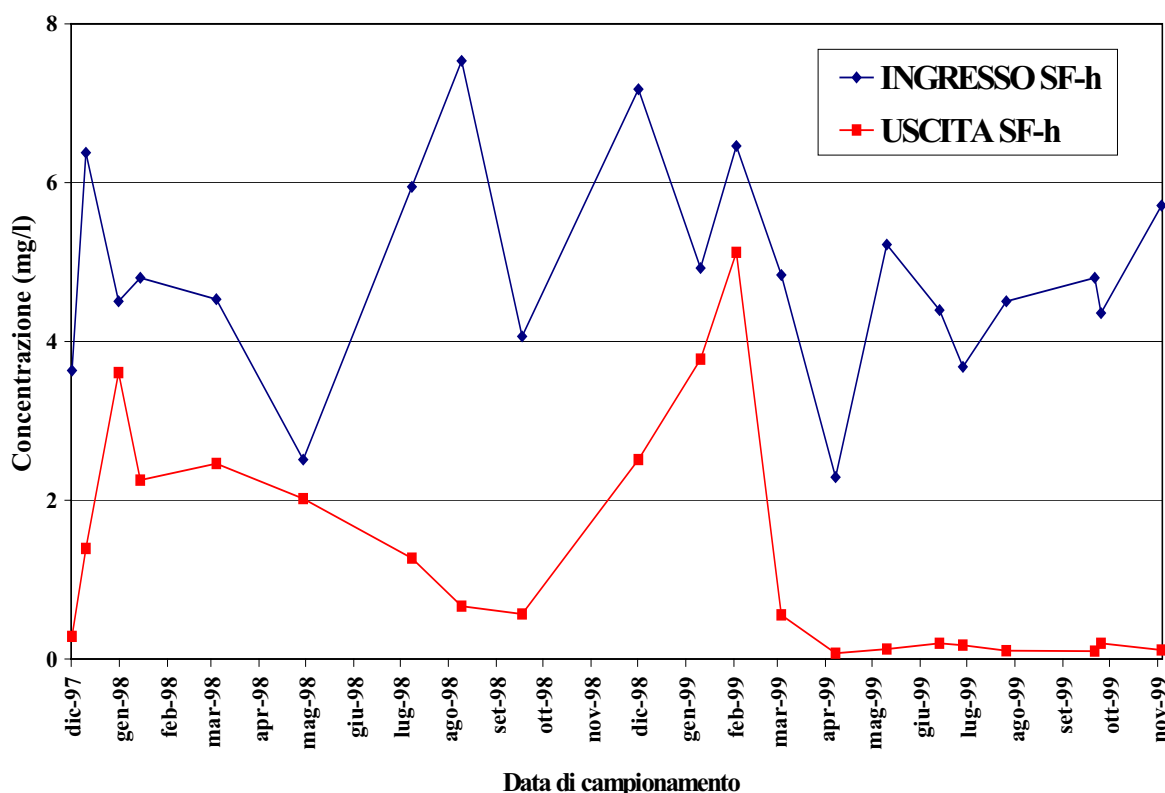


309 e 510 mg/l di COD, si riscontrano uscite ampiamente al di sotto delle 125 ppm. Questi dati indicano, tra l'altro, una notevole resistenza di questi sistemi a forti variazioni di carico.

L'andamento del BOD<sub>5</sub> è del tutto simile a quello del COD; il valore medio calcolato per l'effluente (29 mg/l) e anche il minimo storico riscontrato (5 mg/l) sono maggiori di zero a conferma dell'esistenza di un "fondo" di BOD (e COD) in uscita, proprio dei sistemi naturali di depurazione, anche nel caso in cui essi siano sovradimensionati.

In Figura 12 sono riportate le concentrazioni dei detergenti anionici in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante l'intero periodo di funzionamento. L'andamento della rimozione è di tipo stagionale con un minimo di efficienza individuabile nei mesi Gennaio e Febbraio. In accordo con Inaba et al. (1988), tale minimo può essere imputato alle basse temperature (5-6 °C), misurate all'interno della vasca nei periodi suddetti e al conseguente scarso apporto di ossigeno da parte delle piante.

Sulla base dei dati relativi all'ultimo anno di funzionamento (concentrazione media in ingresso 3.92 mg/l; concentrazione media in uscita 0.85 mg/l) è possibile stimare che il sistema è in grado di rimuovere circa 103 mg/m<sup>2</sup>·giorno di detergenti anionici. Questo valore risulta essere in buon accordo con quanto riportato da Inaba (1992), che quantifica la rimozione (adsorbimento più degradazione) in circa 140 mg/m<sup>2</sup>·giorno.



**Figura 12 – Concentrazioni dei detergenti anionici in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**



### 3.1.2.2 Efficienza di rimozione del sistema SF-v

In Figura 13 e 14 sono riportati gli andamenti del COD e dei detergenti anionici a diverse temperature e tempi di residenza idraulici.

Come già visto per l'N ammoniacale, anche nel caso di questi due parametri, l'abbattimento si dimostra dipendente dalla presenza dell'ossigeno di ricarica; durante il primo giorno, infatti, si registra la rimozione più elevata, indipendentemente dal valore assunto dalla temperatura. Il ruolo svolto dalla temperatura e dall'azione ossigenante delle piante sembra essere decisivo per la rimozione dei detergenti anionici, suggerendo per questi ultimi un probabile meccanismo di degradazione aerobico, mentre nel caso del COD, non si notano significative differenze tra il periodo freddo (rimozione compresa tra l'84 e l'85%) e quello caldo (rimozione compresa tra l'80 e il 91%).

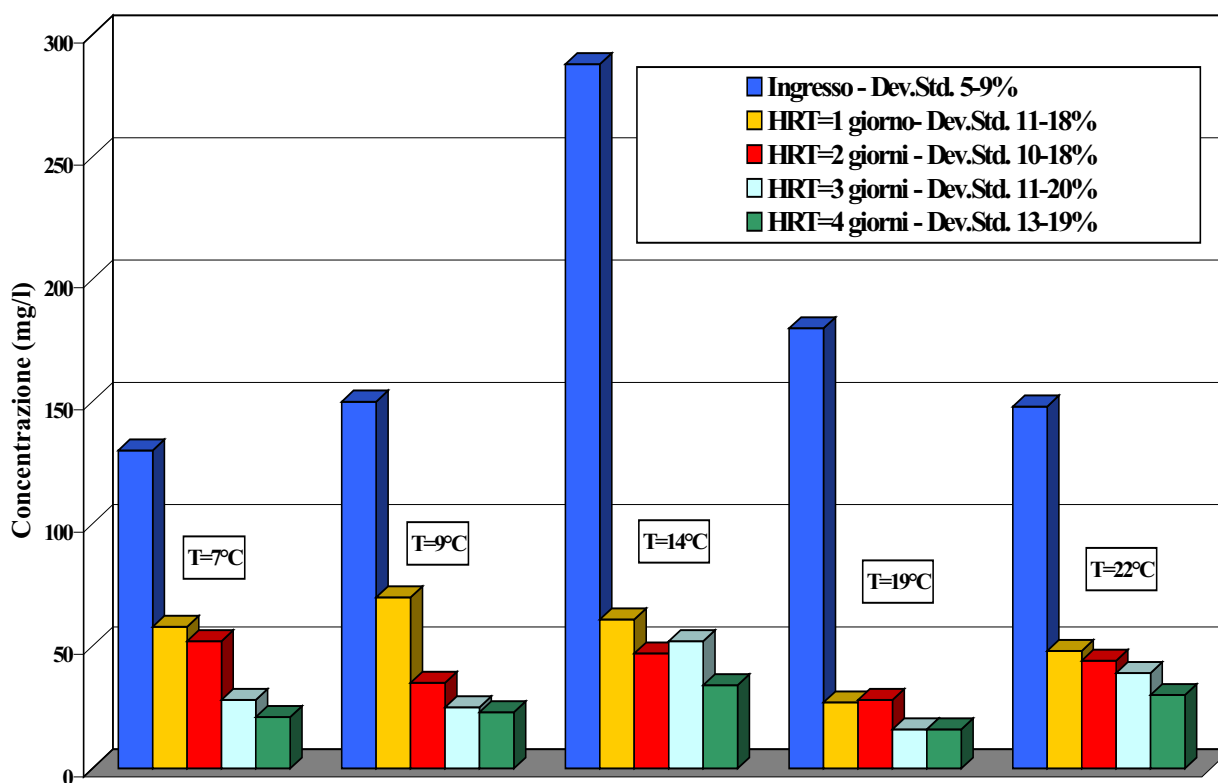
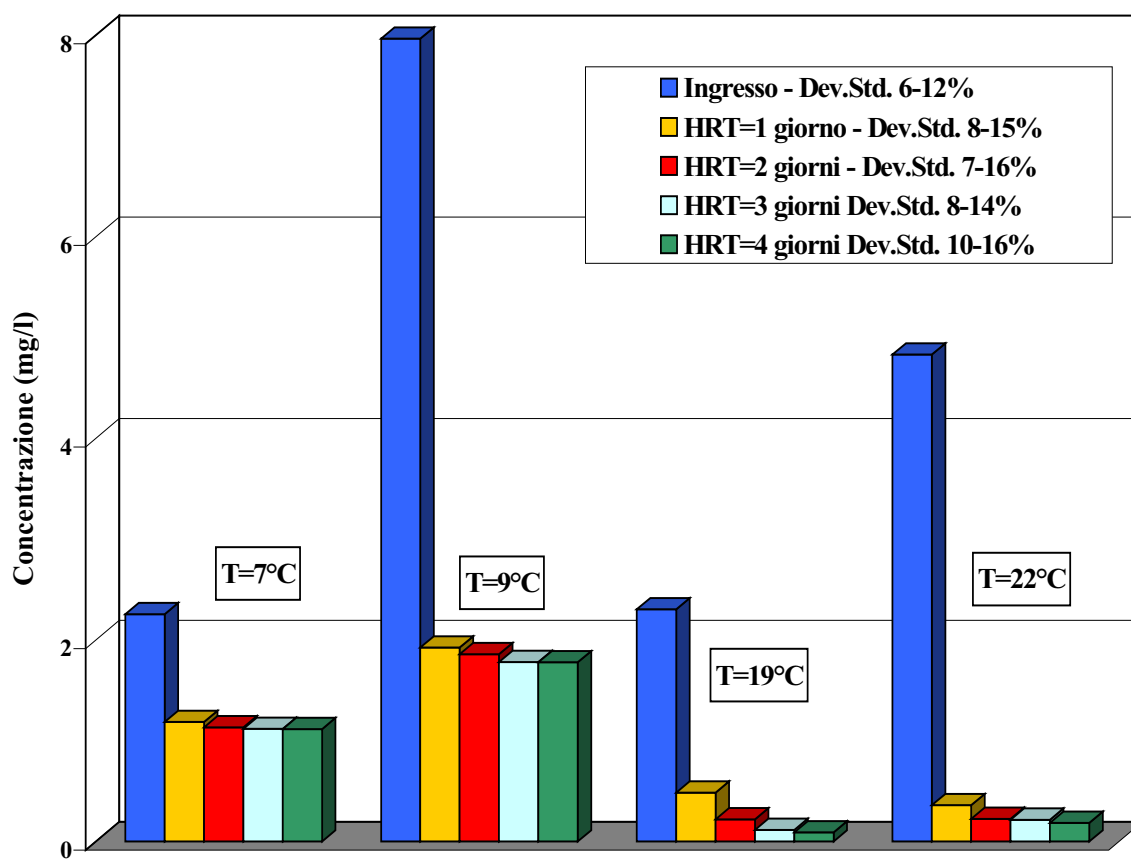


Figura 13 - Rimozione del COD nel sistema SF-v (media di tre determinazioni) a differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).



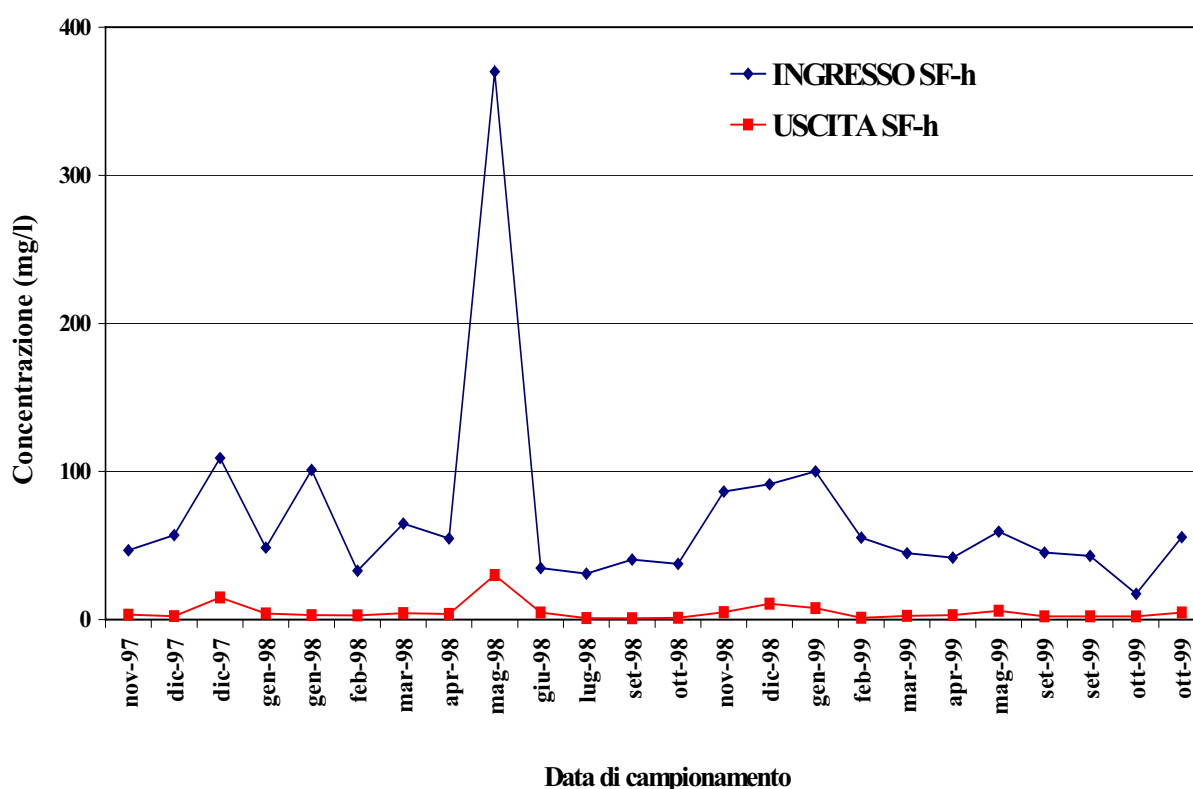


**Figura 14 - Rimozione dei detergenti anionici nel sistema SF-v (media di tre determinazioni) a differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).**



### 3.1.3 Rimozione dei SST

In Figura 15 sono riportati gli andamenti dei SST in ingresso e in uscita al sistema SF-h, durante tutto il periodo di funzionamento. In accordo con i già citati meccanismi che presiedono alla loro rimozione, non si nota alcuna apprezzabile differenza di tipo stagionale nella rimozione. Il dato di Maggio 1998 offre inoltre lo spunto per osservare la buona resistenza del sistema ad uno shock di carico.

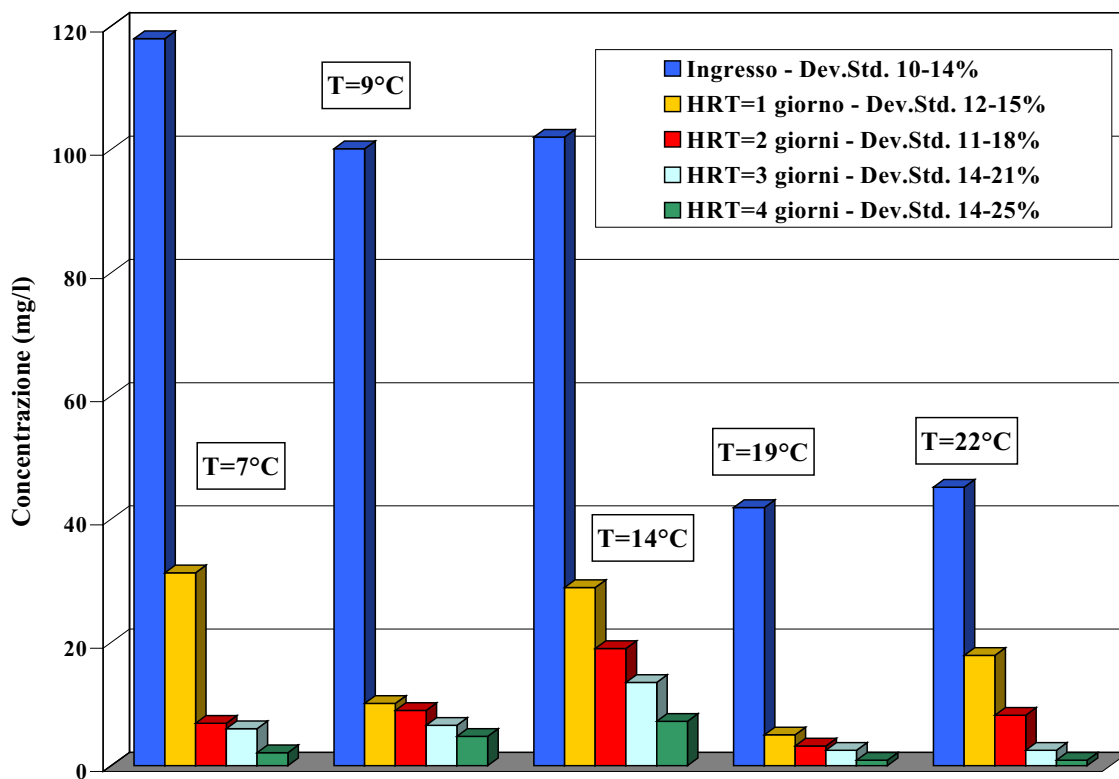


**Figura 15 – Concentrazioni dei SST in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**

Anche il sistema verticale (vedi Figura 16) sembra mostrare il medesimo tipo di comportamento con buone rimozioni, oscillanti tra il 92.9 e il 98.2%, e valori in uscita mai superiori agli 8.2 mg/l. Si noti che nel caso di questo sistema, campioni prelevati a diverse profondità hanno evidenziato concentrazioni crescenti dei SST all'aumentare della profondità stessa. Tali differenze diventano



comunque sempre meno significative con l'aumentare di HRT.

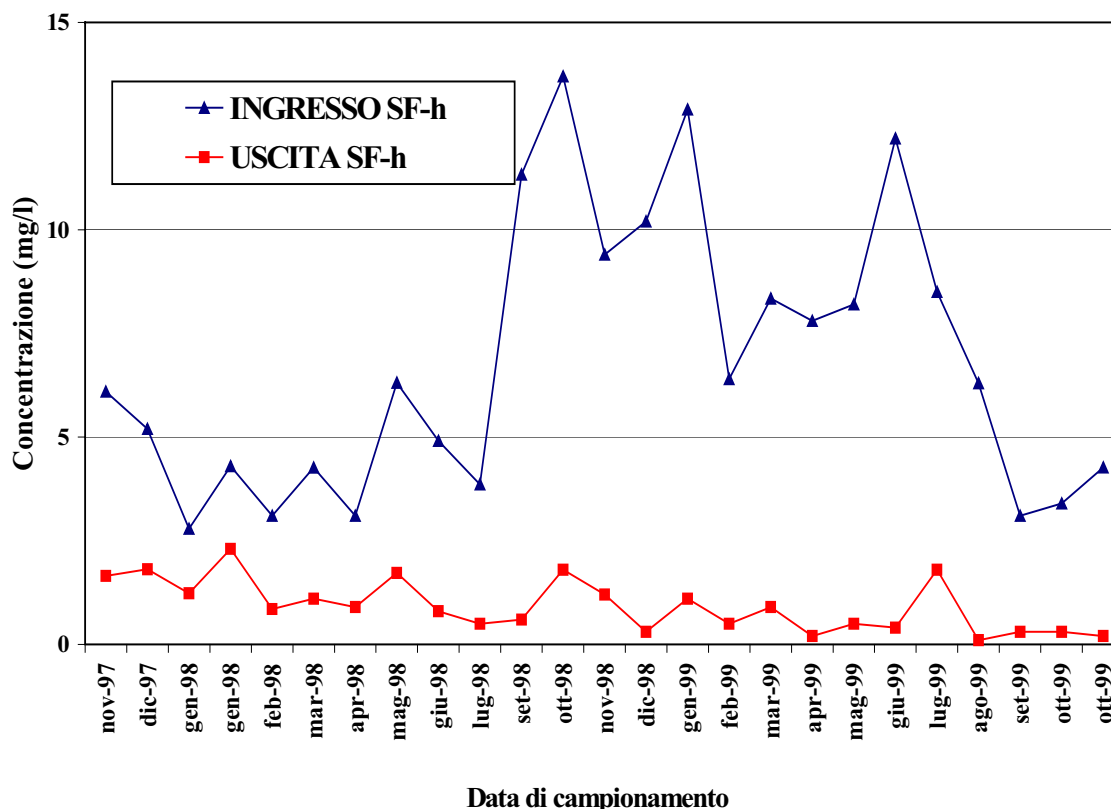


**Figura 16 - Rimozione dei SST nel sistema SF-v (media di tre determinazioni) a differenti temperature e tempi di ritenzione idraulica (HRT).**

### 3.1.4 Rimozione dei fosfati

In Figura 17 sono riportate le concentrazioni dei fosfati in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di esercizio. Anche in questo caso, come già precedentemente notato per i SST, non si osserva alcun andamento di tipo stagionale della rimozione. I valori in uscita permangono costantemente al di sotto dei 2.3 mg/l (0.8 mg/l di P) con un valore medio pari a 0.92 mg/l (0.31 mg/l di P) e sono quindi in linea con uno scarico recapitante in aree sensibili.





**Figura 17 – Concentrazione dei fosfati in ingresso e in uscita al sistema SF-h durante tutto il periodo di funzionamento.**

Del tutto analogo a quanto visto in precedenza per i SST è l'andamento della rimozione dei fosfati nel sistema SF-v. I valori ritrovati in uscita a questo impianto sono generalmente superiori a quelli relativi al sistema SF-h, ma la notevole differenza nei tempi di ritenzione idraulici (4 giorni per il verticale, circa 7 per l'orizzontale), non permette una comparazione diretta tra le due serie di dati.

### 3.2 RIMOZIONE DEGLI INDICI DI CONTAMINAZIONE FECALE

In Figura 18, 19 e 20 sono riportate rispettivamente le comparazioni tra gli abbattimenti degli indici di contaminazione fecale riscontrati nell'impianto tradizionale e nelle due zone umide costruite a flusso sub-superficiale orizzontale.

Da sottolineare l'ottimo funzionamento del sistema SF-h/PT, che svolge una notevole azione di



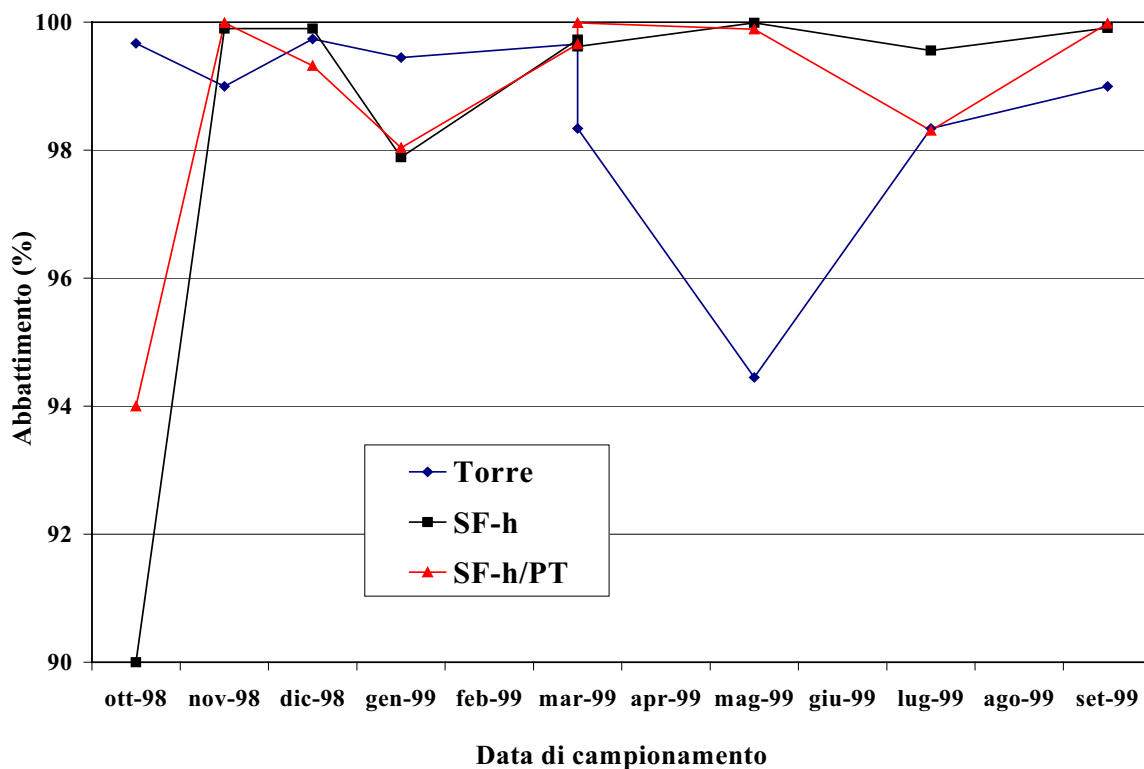
raffinamento della qualità dell'acqua in uscita rispetto a questi parametri. Per questo sistema la rimozione dei coliformi fecali (vedi Figura 18) è, a parte il campione di Ottobre 1998, sempre maggiore del 98%, mentre nella maggioranza delle analisi effettuate raggiunge valori superiori al 99%, con punte del 99.99% in ben tre casi.

Estremamente interessante è anche il funzionamento del sistema SF-h, che mostra una efficienza di rimozione comparabile ed in qualche caso superiore all'impianto tradizionale, con valori quasi costantemente superiori al 99%. Non si deve comunque dimenticare che tali risultati sono raggiunti dal sistema SF-h e dal sistema SF-h/PT, rispettivamente con circa 7 e 5 giorni di residenza idraulica contro le circa 2 ore dell'impianto a fanghi attivi. Gli alti tempi di residenza idraulici, infatti, influiscono positivamente su tutti i meccanismi di rimozione (filtrazione, adsorbimento, sedimentazione, rilascio di sostanze antibiotiche da parte delle piante, effetto della temperatura, stress dovuto ad alternanza di microsites aerobici/anaerobici) finora proposti per spiegare l'abbattimento di questi indici in zone umide costruite

Ancora più efficiente appare la rimozione dei coliformi totali (vedi Figura 19) che, con l'esclusione del campione di Luglio 1999, assume, per il sistema SF-h/PT, valori costantemente superiori al 99%. Il sistema SF-h mostra anche in questo caso una buona rimozione con percentuali di abbattimento che solo in due casi scendono al di sotto del 98% e che, nella maggioranza dei campioni analizzati, risultano superiori a quelle dell'impianto a fanghi attivi.

Anche per quanto riguarda gli streptococchi fecali il sistema SF-h/PT si dimostra estremamente efficiente mostrando rimozioni sempre superiori al 99% con l'eccezione del campione di Ottobre 1998. La rimozione del sistema SF-h è generalmente superiore a quella dell'impianto tradizionale, particolarmente nel periodo primaverile-estivo.



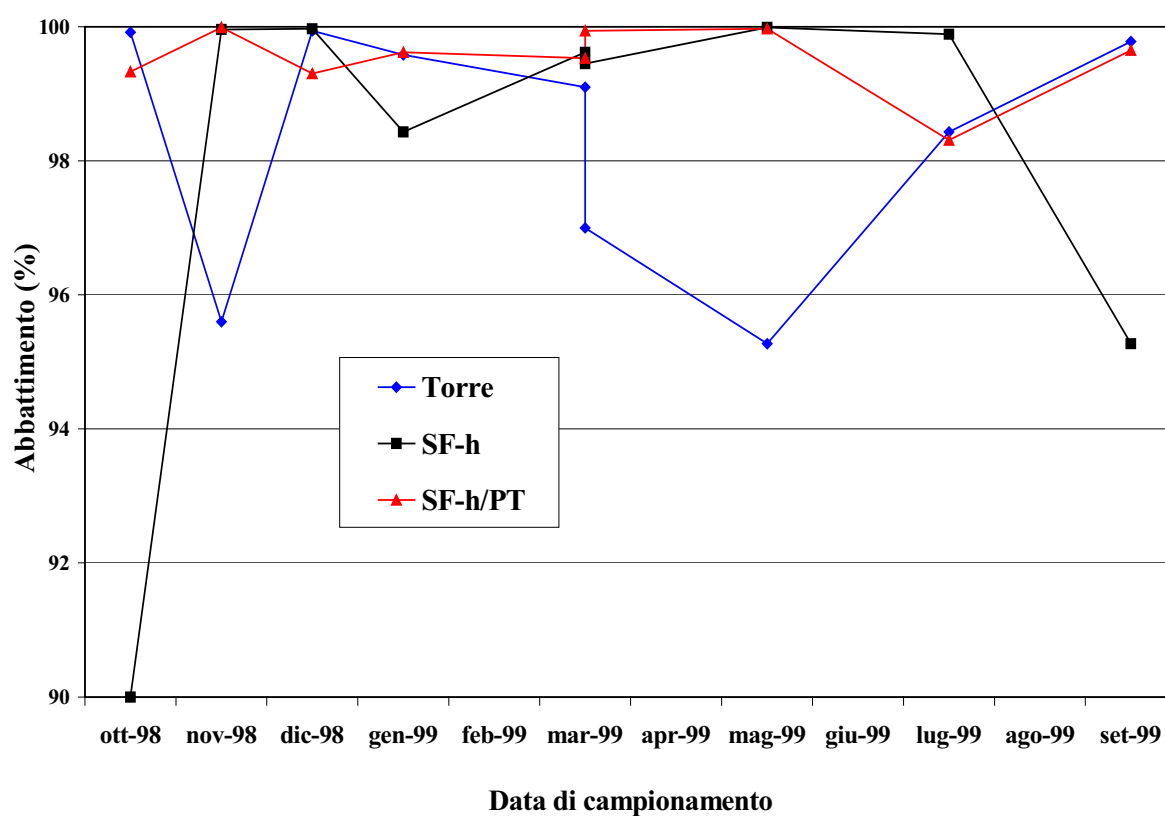


**Figura 18 – Comparazione degli abbattimenti percentuali dei coliformi fecali per gli impianti “Torre”, SF-h e SF-h/PT.**

Molto interessante è anche l’osservazione delle analisi quantitative relative al numero di microrganismi presenti per 100 ml di acque reflue.

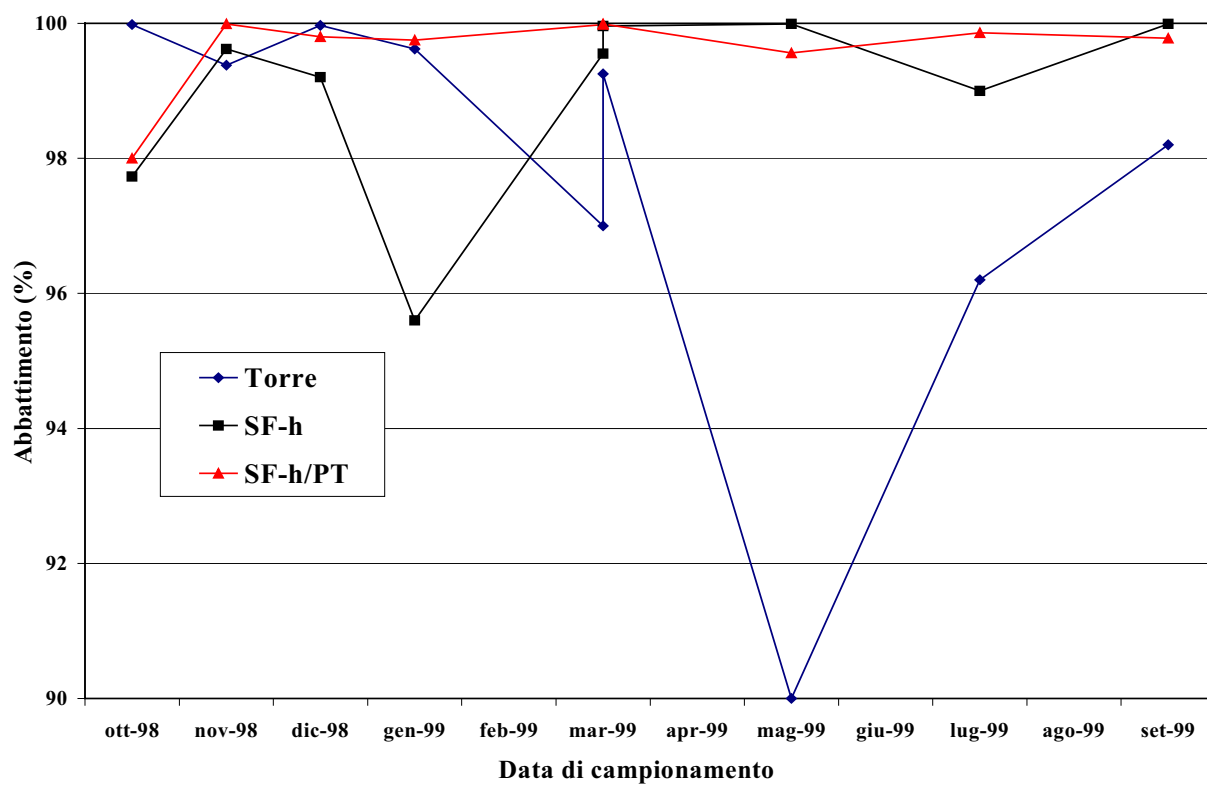
Per quanto riguarda il sistema SF-h/PT, il numero di microrganismi si mantiene nella stragrande maggioranza dei casi e per tutti e tre i parametri esaminati, entro le 100 unità per 100 ml a fronte di un valore in ingresso dell’ordine di  $10^4$ - $10^5$ , ciò a conferma di un notevole miglioramento delle qualità del refluo.





**Figura 19 – Comparazione degli abbattimenti percentuali dei coliformi totali per gli impianti “Torre”, SF-h e SF-h/PT.**





**Figura 20 – Comparazione degli abbattimenti percentuali degli streptococchi fecali per gli impianti “Torre”, SF-h e SF-h/PT.**



### 3.3 RIMOZIONE DI COMPOSTI ORGANICI NELLA ZONA UMIDA COSTRUITA SF-h/PT

In Tabella 2 e 3 sono riportate le concentrazioni di classi omogenee di composti organici identificate nei liquami in ingresso e in uscita al sistema SF-h/PT. Tali analisi sono state effettuate a un duplice scopo: valutare l'efficienza del sistema nel trattamento terziario di un'acqua di scarico per l'ulteriore rimozione di composti organici pericolosi da un punto di vista ambientale, quali gli ftalati o gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA), e di valutare inoltre la composizione di tale matrice in vista di successivi studi di rimozione e/o biodegradazione di composti organici in zone umide costruite. I dati mostrati in Tabella 2 evidenziano un generale buon funzionamento di questo tipo di sistema per il raffinamento dell'acqua in uscita all'impianto di depurazione tradizionale.

**Tabella 2 – Intervalli di concentrazione ed efficienza media di rimozione di classi omogenee di composti organici identificati nelle acque in ingresso e in uscita al sistema SF-h/PT (sei campioni raccolti nel periodo Aprile-Agosto 1998).**

CLASSE DI COMPOSTI ORGANICI	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/l)		RIMOZIONE MEDIA
	INGRESSO	USCITA	
IDROCARBURI ALIFATICI	182-822	30-100	85%
ALCHILBENZENI (C <sub>2</sub> -C <sub>4</sub> )	108-2048	21-666	71%
IPA	82-198	34-101	70%
ISOMERI DEL NONILFENOLO	119-623	8-10	95%
FTALATI	134-2050	42-768	68%

I livelli di concentrazione riscontrati in uscita all'impianto tradizionale sono significativi, anche se non preoccupanti e vengono abbattuti in modo notevole; da sottolineare in particolare la rimozione veramente eccellente degli isomeri del nonilfenolo (95%).

L'analisi del materiale particolato (vedi Tabella 3) relativo ai campioni di acqua suddetti ha evidenziato nell'ingresso la presenza delle medesime classi di composti, mentre in uscita, a causa della scarsissima quantità di particolato presente in sospensione (circa 1 mg/l), non è stato possibile identificare e determinare alcun composto.

Per confrontare le concentrazioni dei composti organici presenti nell'acqua e nel materiale particolato, è stato scelto di esprimere queste ultime come ng/l; ciò è possibile tenendo presente che



il valore medio della concentrazione del materiale particolato presente in ingresso nei sei campioni analizzati è pari a 19 mg/l. I valori di concentrazione riportati in Tabella 3, indicano che gli isomeri del nonilfenolo e gli ftalati si ritrovano nel particolato e in acqua agli stessi livelli di concentrazione, mentre IPA e idrocarburi alifatici sono maggiormente presenti nel materiale particolato, seppure con coefficienti di arricchimento molto diversi tra di loro. Opposto è il comportamento degli alchilbenzeni a basso peso molecolare che sono maggiormente presenti in acqua.

**Tabella 3 - Intervalli di concentrazione di classi omogenee di composti organici, identificati nel materiale particolato (concentrazione media 19 mg/l) relativo alle acque in ingresso al sistema SF-h/PT (sei campioni raccolti nel periodo Aprile-Agosto 1998). N.D. = non determinato.**

CLASSI DI COMPOSTI ORGANICI	INTERVALLO DI CONCENTRAZIONE (ng/l)	
	INGRESSO	USCITA
IDROCARBURI ALIFATICI	1140-4750	N.D.
ALCHILBENZENI (C <sub>2</sub> -C <sub>4</sub> )	18-216	N.D.
IPA	285-722	N.D.
ISOMERI DEL NONILFENOLO	76-342	N.D.
FTALATI	95-1425	N.D.

### 3.4 STUDIO DELLA RIMOZIONE DEL TRITON X-100

#### 3.4.1 *Messa a punto della procedura analitica*

La prima parte del lavoro è consistita nella messa a punto del metodo di estrazione, derivatizzazione, separazione cromatografica e rivelazione dei singoli etossimeri del Triton X-100. Per quanto concerne la separazione dei singoli etossimeri costituenti la miscela di Triton X-100 e la loro determinazione quantitativa, le tecniche da noi utilizzate sono state la HPLC-DAD in fase inversa, la HRGC-FID e la HRGC-MS.

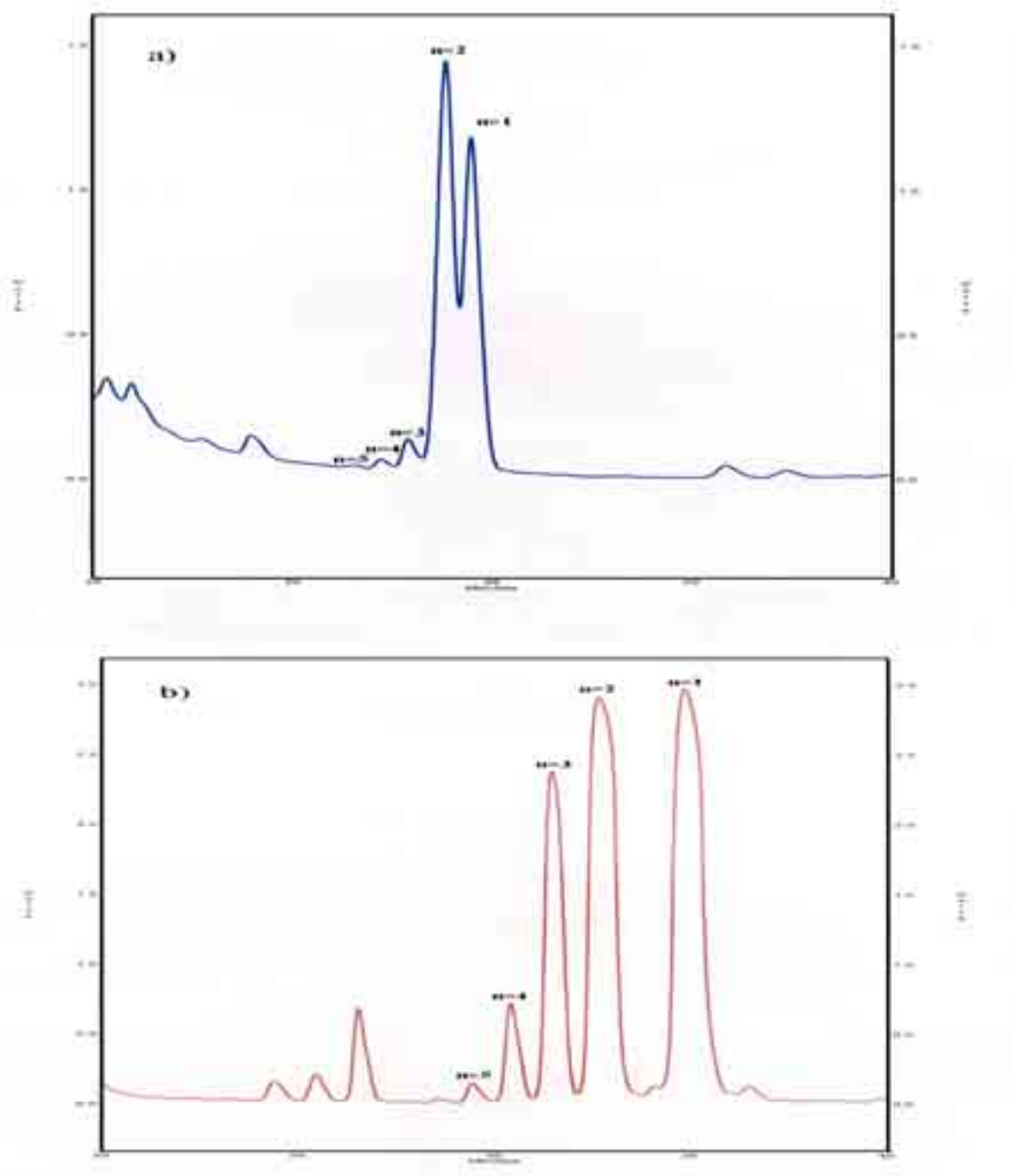
La derivatizzazione dei vari etossimeri costituenti il Triton X-100 è indispensabile per consentire la



loro separazione in fase inversa, mentre non risulta utile in fase normale (Marcomini e Giger, 1987); tale procedura, inoltre, permette di accrescere notevolmente la loro risposta UV, migliorando quindi la sensibilità del metodo.

Tra i due derivatizzanti testati è risultato migliore il NIC in quanto, sebbene determini una minore risoluzione degli etossimeri più leggeri, non dà luogo a picchi interferenti (dovuti al derivatizzante stesso e/o ai suoi prodotti di decomposizione) nella zona nella quale sono visibili i diversi etossimeri. A titolo di esempio, in Figura 21a e 21b sono riportati rispettivamente i cromatogrammi liquidi relativi al Triton X-15 derivatizzato con NIC e con NC, eluito nelle migliori condizioni riscontrate in laboratorio (vedi paragrafo 2.2.3) e rivelato ad una  $\lambda = 220$  nm, che è risultata essere la lunghezza d'onda di massima sensibilità per questo tipo di molecole.





**Figura 21 – Cromatogrammi ottenuti mediante HPLC su standard di Triton X-15 previa derivatizzazione con a) NP e b) NP. Quantità iniettata della miscela di etossimeri 20 µg,  $\lambda$  di rivelazione 220 nm.**

Dal momento che il 4-t-ottilfenolo, in virtù del suo -OH fenolico, è incapace di reagire con il derivatizzante, esso è caratterizzato da un tempo di ritenzione e da un fattore di risposta completamente diversi rispetto a quelli tipici degli omologhi etossilati; la sua rivelabilità tramite



HPLC, specie quando sia presente in un campione reale, è bassa in quanto l'assorbimento UV di questo composto è legato in massima parte alla presenza dell'anello benzenico. Inoltre, il picco del 4-t-ottilfenolo cade in una zona "sporca" del cromatogramma liquido, per cui risulta arduo eseguire una corretta integrazione del picco stesso. Gli etossimeri del Triton X-100, al contrario, mostrano tempi di ritenzione simili ed uniformemente distanziati fra di loro, nonché un comune fattore di risposta dovuto ai medesimi gruppi cromofori (anello benzenico e naftalenico) presenti in ciascuno (vedi Figura 22). Dato che l'aumento delle unità etossiliche determina un incremento di polarità nella molecola, la tecnica HPLC a fase inversa comporta l'uscita delle sostanze dalla colonna partendo dagli etossimeri più pesanti per finire con il 4-t-ottilfenolo monoetossilato, ovvero in ordine di polarità decrescente.

Per valutare l'efficienza della metodica d'estrazione dei campioni acquosi, sono state eseguite cinque prove di estrazione da H<sub>2</sub>O contenente un quantitativo noto di Triton X-100; l'analisi mediante HPLC dei cinque campioni in questione ha evidenziato un recupero pari al  $78 \pm 3\%$ .

La tecnica gascromatografica è applicabile direttamente ai campioni non derivatizzati in quanto non sussistono problemi di separazione particolari. Tuttavia, essendo la separazione gascromatografica essenzialmente basata sulla temperatura di volatilizzazione dei vari omologhi, risulta impossibile determinare gli etossimeri del Triton X-100 con n superiore a 8 nelle condizioni sperimentali utilizzate. E' stato quindi possibile realizzare gascromatogrammi di tutti i campioni commerciali, eccetto il Triton X-100, per il quale sono stati identificati, mediante gascromatografia, soltanto i primi 8 etossimeri. I fattori di risposta variano da omologo a omologo; dallo studio degli standard, è stato possibile determinare i fattori di risposta per tutti gli etossimeri con n fino a 6 e, con minore accuratezza, anche per n = 7 e n = 8, a causa del progressivo allargamento dei picchi e di una non perfetta riproducibilità del valore delle aree. Analogamente a quanto riportato per l'HPLC, gli estratti in cloroformio ottenuti da soluzioni standard del Triton X-100 in acqua sono stati iniettati in GC; il recupero, calcolato sugli etossimeri con n compreso fra 0 e 8, è risultato pari al  $75 \pm 4\%$ .

In Tabella 4 sono riportate le % relative dei singoli etossimeri presenti nei prodotti commerciali Triton X-15, X-35, X-45 e X-100. I valori del grado di etossilazione medio ottenuti sperimentalmente sono in buon accordo con quelli teorici indicati dal produttore e mostrano uno scostamento comunque non superiore al 15%.

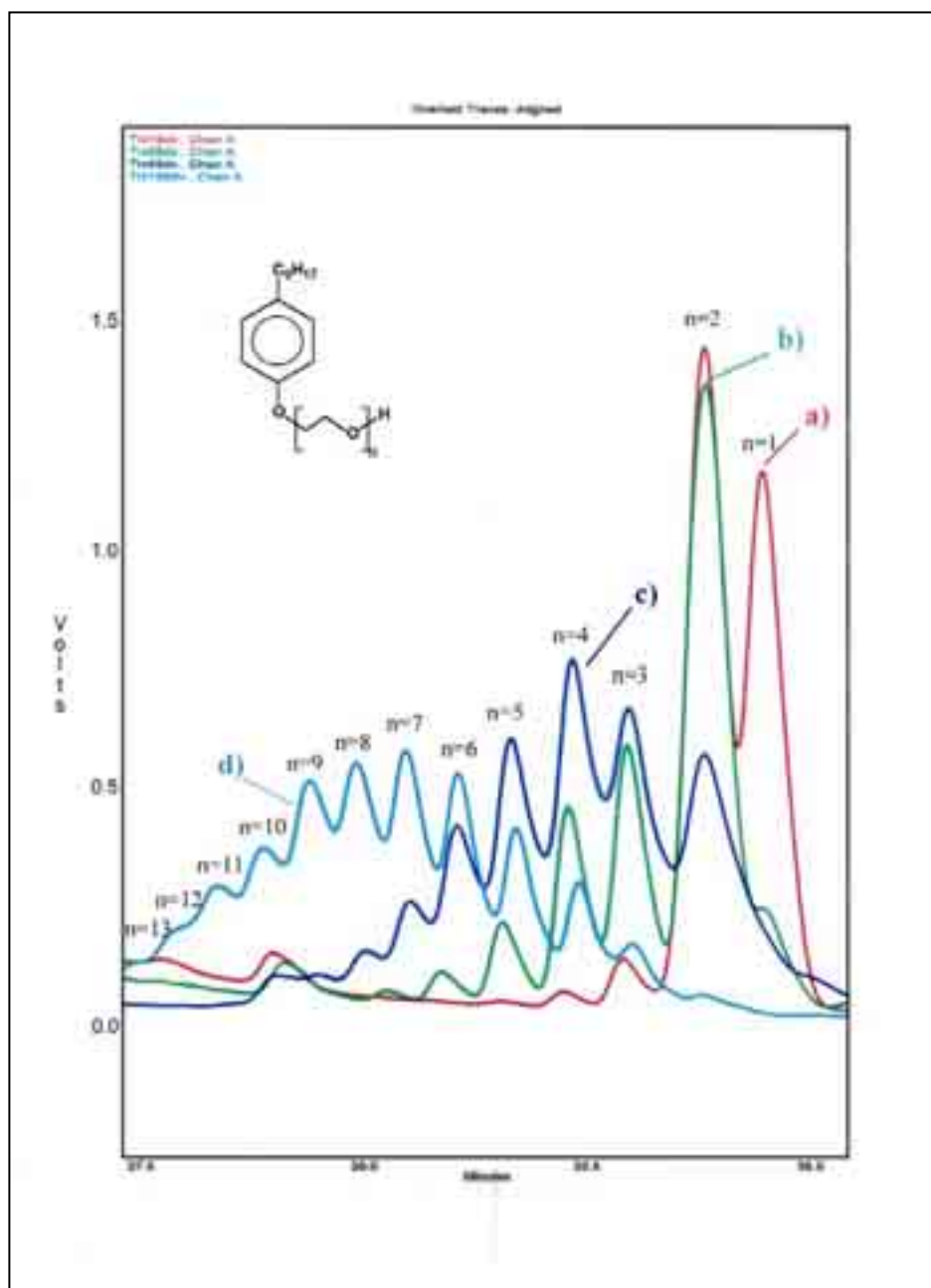
Dalle aree ottenute tramite la tecnica HPLC si evince che i primi otto etossimeri rappresentano il  $65,65 \pm 2,98\%$  della miscela commerciale denominata Triton X-100. In questo modo le percentuali dei singoli etossimeri, calcolate sulla base delle aree gascromatografiche, possono essere confrontate con i dati ottenuti tramite HPLC per gli etossimeri da n = 1 a n = 8.



**Tabella 4 - Composizione media percentuale dei vari etossimeri presenti nei prodotti commerciali utilizzati come standard, calcolata su 5 prove, per mezzo dei cromatogrammi HPLC.**

<b>Triton</b>	<b>n=0</b>	<b>n=1</b>	<b>n=2</b>	<b>n=3</b>	<b>n=4</b>	<b>n=5</b>	<b>n=6</b>	<b>n=7</b>	<b>n=8</b>	<b>n=9</b>	<b>n=10</b>	<b>n=11</b>	<b>n=12</b>	<b>n=13</b>
<b>X-15</b>	-	41,0	50,1	4,8	2,4	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>X-35</b>	-	4,3	49,1	20,1	15,0	7,6	2,9	1,1	-	-	-	-	-	-
<b>X-45</b>	-	1,9	15,4	18,2	22,1	17,6	11,2	6,8	3,5	2,1	1,1	-	-	-
<b>X-100</b>	-	0,1	0,4	1,5	4,9	7,9	13,1	16,2	16,5	12,4	10,2	8,6	5,4	3,1





**Figura 22 – Cromatogrammi ottenuti mediante HPLC su standard di: a) Triton X-15, b) Triton X-35, c) Triton X-45, d) Triton X-100, previa derivatizzazione con NIC dei vari etossimeri. Quantità iniettata 20  $\mu$ g di ciascuna miscela di etossimeri,  $\lambda$  di rivelazione 220 nm.**

### 3.4.2 Descrizione degli esperimenti effettuati

Il tensioattivo è stato introdotto nella vasca in tre dosaggi crescenti; inizialmente, ad una



concentrazione di 30 ppm per un tempo di 66 giorni (26 Febbraio- 3 Maggio 1999), quindi a 300 ppm per 54 giorni (4 Maggio-28 Giugno 1999) e, infine, a 1000 ppm per altri 50 giorni (29 Giugno-18 Agosto 1999). La motivazione di tale procedura è legata alla necessità di acclimatare la flora batterica evitando situazioni di shock alla flora stessa e di verificare, allo stesso tempo, l'efficienza di rimozione della zona umida costruita al variare della concentrazione del Triton X-100.

Il processo di biodegradazione è stato seguito prelevando nel tempo campioni di acqua all'entrata, all'uscita e nei punti di prelievo intermedio. Inizialmente, per ciascun dosaggio, i campioni sono stati prelevati ad intervalli di 2-3 giorni e, una volta raggiunto l'equilibrio del sistema, è stata eseguita un'analisi simultanea di tutti i punti di prelievo.

In tal modo, anche se i campioni si riferiscono a situazioni temporali diverse, i relativi dati analitici non presentano problemi interpretativi, in quanto si riferiscono sempre ad una situazione di equilibrio complessivo. Il basso valore di COD dell'acqua proveniente dal depuratore e la scarsa presenza di composti organici in genere, con tracce trascurabili di alchilfenoli, non determina alterazioni apprezzabili di tale equilibrio.

Le analisi microbiologiche, eseguite in collaborazione con la Sezione di Igiene del nostro Dipartimento, sono state condotte prelevando campioni di radici prima dell'inizio dell'esperimento, durante il dosaggio del Triton X-100 e circa due mesi dopo il termine della somministrazione del tensioattivo. Per ogni campionamento è stata determinata la carica batterica totale ed il numero delle differenti specie microbiche adese alla superficie dei rizomi, in modo da evidenziare sia cambiamenti nella quantità della biomassa adesa, sia processi di selezione a carico di tale biomassa.

### *3.4.3 Analisi chimiche*

#### *3.4.3.1 Confronto tra la gascromatografia e l'HPLC*

In Figura 23 e 24 sono riportati rispettivamente i cromatogrammi HPLC e GC relativi alla analisi simultanea effettuata durante il dosaggio di 300 ppm.

Dall'osservazione di tali figure appare evidente la complementarità delle due tecniche; infatti l'HPLC consente di determinare (pur con alcuni limiti dovuti alla non perfetta risoluzione dei picchi relativi agli omologhi più pesanti) tutti gli etossimeri da  $n = 1$  a  $n = 13-14$ , ma non permette la determinazione del 4-t-ottil-fenolo, che coeluisce assieme ad alcuni picchi del derivatizzante. Utilizzando la GC, viceversa, è possibile determinare con estrema sensibilità e ottima risoluzione tutti gli etossimeri con  $n$  compreso tra 0 e 7-8, mentre la rivelazione degli omologhi superiori è resa impossibile a causa della scarsa volatilità di questi ultimi.

Nessuna delle due tecniche prese singolarmente è dunque capace di seguire la biodegradazione del

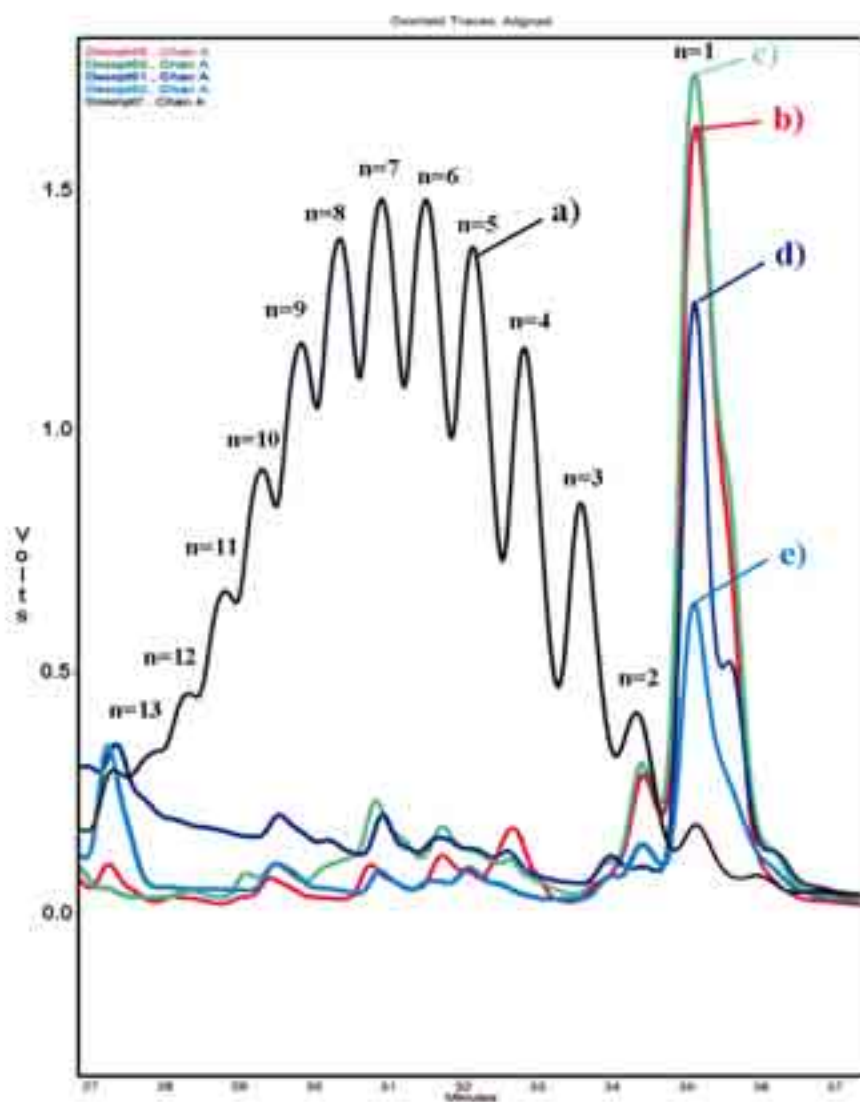


Triton X-100 che avviene nell'impianto pilota; al contrario, l'impiego simultaneo dell'HPLC e della GC riesce a fornire un quadro completo del fenomeno. I cromatogrammi presentati nelle figure 23 e 24 mostrano chiaramente che, già dopo 40 cm dall'entrata in vasca, il Triton X-100 ha subito profonde modificazioni nella sua composizione e che gli unici etossimeri presenti in concentrazioni apprezzabili risultano essere quelli con  $n \leq 5$ , agevolmente determinabili per mezzo della GC. Per questa ragione, tutte le valutazioni di carattere qualitativo e quantitativo su campioni prelevati a valle dell'ingresso possono essere desunte tramite la tecnica gascromatografica, supportata, per la conferma delle attribuzioni dei picchi, dalla GC-MS.

Il fatto che, per i punti di prelievo intermedi e per l'uscita, la GC renda conto di tutti gli etossimeri presenti nei campioni, ha permesso di confrontare le aree GC e HPLC per i campioni stessi e di verificare il buon accordo tra le due metodiche strumentali. E' stato così possibile calcolare un fattore di correzione medio (0.6565) tra aree gascromatografiche e HPLC per campioni di Triton X-100 e ricavare quindi percentuali relative GC da confrontare con le corrispondenti percentuali HPLC.

In Tabella 5 è riportato il confronto tra le percentuali degli etossimeri calcolate mediante HPLC e GC, queste ultime calcolate utilizzando il fattore di correzione suddetto. Anche in questo caso, l'accordo tra i due andamenti è buono.





**Figura 23 – Cromatogrammi ottenuti mediante HPLC (previa derivatizzazione con NIC) sugli estratti dei campioni prelevati contemporaneamente in a) Ingresso, b) 40 cm, c) 80 cm, d) 120 cm, e) Uscita, durante il dosaggio di 300 ppm.**



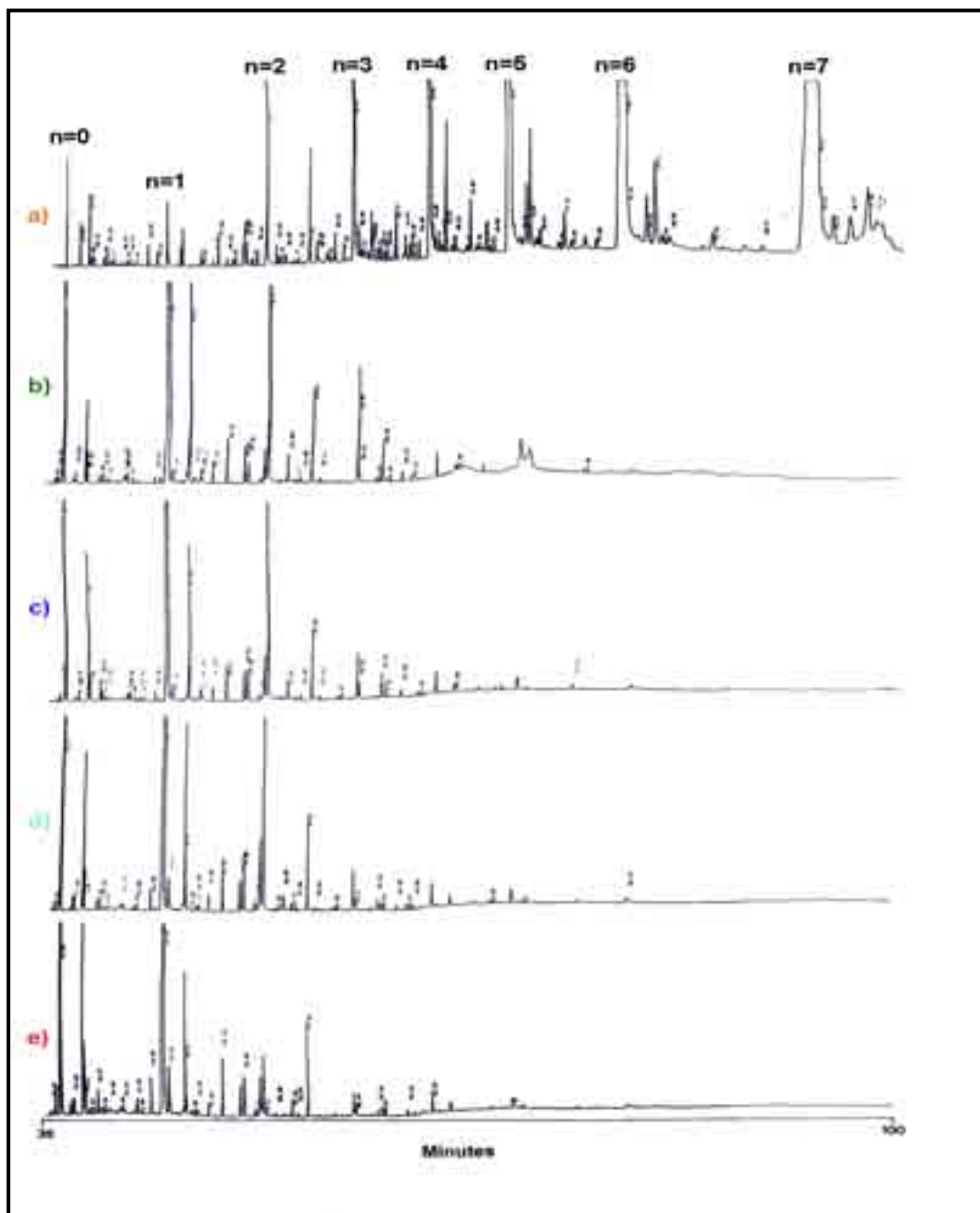


Figura 24 - Cromatogrammi ottenuti mediante GC sugli estratti dei campioni prelevati contemporaneamente in **a) Ingresso**, **b) 40 cm**, **c) 80 cm**, **d) 120 cm**, **e) Uscita**, durante il dosaggio di 300 ppm.



**Tabella 5 - Percentuali degli etossimeri determinate mediante HPLC e GC\* in campioni di acque in entrata all'impianto SF-h/PT contenenti differenti concentrazioni di Triton x-100.**

<b>Etossimero</b>	<b>30 ppm</b>		<b>300 ppm</b>		<b>1000 ppm</b>	
	<b>HPLC</b>	<b>GC</b>	<b>HPLC</b>	<b>GC</b>	<b>HPLC</b>	<b>GC</b>
<b>n=0</b>		0,9		0,4		0,4
<b>n=1</b>	3,9	4,1	0,6	0,2	0,5	0,3
<b>n=2</b>	2,4	3,2	1,7	1,1	1,5	0,9
<b>n=3</b>	3,7	4,5	3,7	3,8	3,6	3,9
<b>n=4</b>	7,6	7,8	7,6	8,8	7,1	8,1
<b>n=5</b>	10,2	9,6	10,7	12,8	12,3	12,6
<b>n=6</b>	12,3	12,5	12,9	14,1	13,1	14,2
<b>n=7</b>	12,6	12,8	13,3	14,2	13,8	14,1
<b>n=8</b>	11,1	10,4	12,9	10,8	11,9	11,3
<b>n=9</b>	10,9		11,9		11,3	
<b>n=10</b>	9,2		9,7		9,4	
<b>n=11</b>	6,7		7,1		6,9	
<b>n=12</b>	8,9**		5,1		4,9	
<b>n=13</b>			2,7		2,5	
<b>n=14</b>					1,1	

\* Le percentuali riportate sono state ricavate moltiplicando i valori ottenuti con il metodo gascromatografico per un fattore di correzione pari a 0.6565, che rappresenta la frazione media di Triton X-100 costituita dagli etossimeri con n = 1-8.

\*\* Valore comprensivo della somma degli etossimeri con n=12 e 13.



#### 3.4.3.2 Composizione delle entrate reali della vasca a 30, 300 e 1000 ppm

Confrontando i dati riportati in Tabella 4 con quelli mostrati in Tabella 5, si nota come la composizione del Triton X-100 standard differisca da quella del medesimo Triton presente in ingresso all'impianto pilota.

In particolare si osserva un significativo aumento della percentuale degli etossimeri più leggeri a scapito di quelli più pesanti con la comparsa di apprezzabili percentuali di 4-t-ottilfenolo. Inoltre il fenomeno appare quantitativamente meno significativo all'aumentare della concentrazione del Triton in quanto i fenomeni degradativi che già si manifestano nel pur breve tempo intercorrente tra la miscelazione con l'acqua di scarico, il prelievo del campione e il periodo intercorso fra il prelievo e l'analisi del campione stesso, incidono percentualmente in modo minore sulle concentrazioni più elevate di Triton X-100 che non su quelle inferiori.

#### 3.4.3.3 Dosaggio di 30 ppm

L'immissione del Triton X-100 a 30 ppm è iniziata nella stagione fredda (fine Febbraio 1999, T media in vasca = 7-8 °C), con il letto di *Phragmites australis* ancora nello stato di quiescenza invernale; con il progressivo aumento della temperatura, verso la metà di Marzo è iniziata la vegetazione delle piante. Lo sviluppo delle *Phragmites* è stato fin da subito rigoglioso e non si è notato alcun segno evidente di sofferenza vegetativa imputabile al tensioattivo immesso; come termine di paragone, lo sviluppo della medesima vegetazione in altre vasche non interessate dal dosaggio, presenti in loco, è stato del tutto analogo.

Dall'inizio del dosaggio, solo dopo circa venti giorni si è registrata la presenza del tensioattivo nel punto di prelievo situato a 40 cm dall'ingresso della vasca; il raggiungimento dei successivi punti di prelievo si è invece realizzato in tempi via via più brevi. I rendimenti depurativi all'inizio sono stati scarsi, essendo marcata anche nell'uscita finale la presenza di etossimeri pesanti del Triton X-100; col progredire della crescita delle *Phragmites* e con l'aumento della temperatura, la situazione è progressivamente migliorata, giungendo ben presto ad una stabilizzazione della composizione delle uscite. Queste ultime presentano, tra l'altro, una schiumosità bassa e poco persistente se agitate, nonché una bassissima torbidità, del tutto analoga a quella tipica delle uscite relative a periodi precedenti l'inizio del dosaggio.

Alla fine di Aprile (T media in vasca = 16 °C) è stata eseguita l'analisi simultanea di tutti i punti di prelievo; visto che il successivo prelievo cautelativo di altri campioni non ha dato risultati difforni dai precedenti, dopo alcuni giorni la concentrazione in entrata del Triton X-100 è stata portata a 300 ppm.



In Figura 25 sono riportati gli andamenti delle % relative, calcolate mediante gascromatografia, degli ottilfenoli etossilati ( $n = 0-7$ ) in entrata, uscita ed a varie distanze dall'ingresso dell'impianto. Dall'osservazione di tali andamenti possono essere desunte le seguenti considerazioni. Gli etossimeri con  $n > 5$  scompaiono completamente già nei primi 40 cm della vasca.

Le percentuali degli etossimeri con  $n = 4$  e  $n = 5$  presentano un andamento fortemente decrescente nei primi 80 cm, persistendo fino all'uscita dell'impianto solo a livello di tracce.

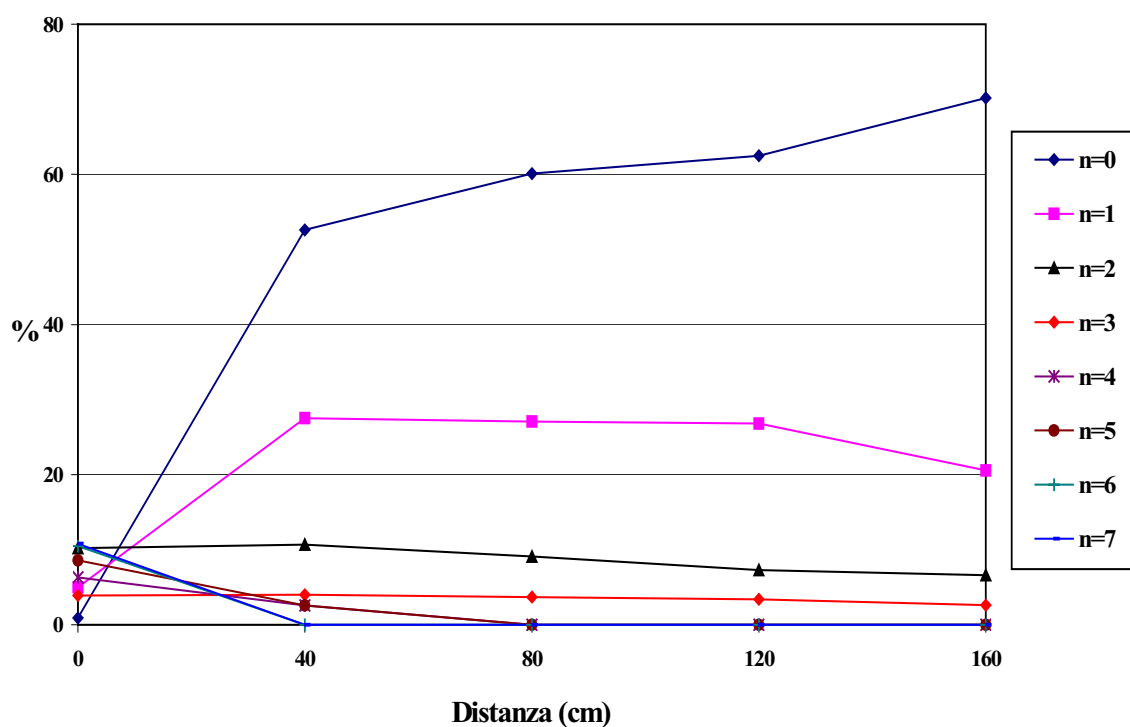
Gli etossimeri con  $n = 2$  e  $n = 3$  mostrano un andamento praticamente costante nei primi 40 cm della vasca, andando poi a decrescere. Tuttavia essi permangono in quantità apprezzabili lungo tutto lo sviluppo della vasca e presentano in uscita percentuali relative pari rispettivamente al 6.6 e al 2.6%.

Estremamente interessante è poi l'andamento degli etossimeri con  $n = 1$  e  $n = 0$  (4-t-ottilfenolo); tali etossimeri presentano un comune andamento crescente nei primi 40 cm della vasca, mentre nei successivi 120 cm i loro andamenti divergono.

Il 4-t-ottilfenolo, infatti, mostra un andamento crescente andando dall'entrata all'uscita lungo tutto il sistema e rappresenta con il 70.2% il composto percentualmente più abbondante tra quelli presenti nell'uscita. Il monoetossilato, invece, dopo aver raggiunto un massimo in corrispondenza dei 40 cm, diminuisce prima in modo molto contenuto (tra 40 e 120 cm) e quindi più nettamente nel tratto finale.

In Tabella 6 sono riportate le percentuali degli etossimeri da  $n = 0$  a  $n = 7$ , determinate nelle uscite mediante gascromatografia. L'osservazione congiunta della Fig.25 e di tale Tabella, mostra che la scomparsa e/o la diminuzione di certi etossimeri è correlata con l'incremento di altri, e che ciascun etossimero si forma probabilmente per accorciamento della catena etossilica dell'omologo superiore.





**Figura 25 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=7 in ingresso, uscita e a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 30 ppm).**

**Tabella 6 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=6 determinate mediante gascromatografia a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 30 ppm).**

Etossimero	40 cm	80 cm	120 cm	160 cm
n=0	52,6	60,1	62,5	70,2



<b>n=1</b>	27,5	27,1	26,8	20,6
<b>n=2</b>	10,7	9,1	7,3	6,6
<b>n=3</b>	4,0	3,7	3,4	2,6
<b>n=4</b>	2,6	-	-	-
<b>n=5</b>	2,6	-	-	-
<b>n=6</b>	-	-	-	-

#### 3.4.3.4 Dosaggio di 300 ppm

L'aumento della concentrazione del Triton X-100 immesso non ha portato alcun apparente effetto negativo sullo sviluppo delle *Phragmites*, nonostante un massiccio attacco di Afidi verdi protrattosi per mesi e volutamente non trattato, al fine di studiare le capacità di resistenza di questo tipo di piante in condizioni avverse.

L'esame visivo delle acque in uscita non ha rivelato variazioni di sorta rispetto al precedente dosaggio, in quanto i campioni appaiono limpidi e, solo in certi casi, ingialliscono leggermente se esposti alla luce per qualche tempo; la schiumosità indotta mediante agitazione è appena più persistente. Il raggiungimento delle condizioni di equilibrio, per questa maggiore concentrazione immessa, è stato ottenuto in modo molto più veloce e senza registrare particolari picchi di carico nelle uscite della vasca; nella seconda metà di Giugno ( $T_{media} = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) è stata effettuata l'analisi simultanea di tutti i punti di prelievo e, dopo il consueto periodo d'osservazione, la concentrazione del Triton X-100 all'ingresso è stata aumentata a 1000 ppm.

In Figura 26 sono riportati gli andamenti delle % relative, calcolate mediante gascromatografia, degli ottilfenoli etossilati ( $n = 0-7$ ) in entrata, uscita ed a varie distanze dall'ingresso dell'impianto. Dall'osservazione di tali andamenti possono essere desunte le seguenti considerazioni. Gli etossimeri con  $n > 6$  scompaiono completamente già nei primi 40 cm della vasca, mentre l'isomero esaetossilato permane a livello di tracce ( $\leq 0.1\%$ ) per tutti i punti di campionamento del sistema.

Le percentuali degli etossimeri con  $n = 3, 4$  e  $5$  presentano un andamento di tipo decrescente,



raggiungendo valori pari rispettivamente all'1,5, 0,6 e 0,4 % già nei primi 40 cm. Tale andamento sembra evidenziare una più efficace degradazione da parte delle biomasse presenti nel sistema, rispetto a quanto osservato per il dosaggio a 30 ppm; ciò in apparente contrasto con l'aumentata concentrazione di Triton X-100 in ingresso. Questo fenomeno trova una ragionevole spiegazione nella più alta temperatura dei reflui durante questo secondo esperimento, che può aver favorito un maggiore sviluppo delle biomasse e, conseguentemente, una loro migliore efficienza; tali biomasse, inoltre, hanno beneficiato di un più lungo periodo d'acclimatamento, che può avere influito positivamente sulla loro capacità degradativa e sullo sviluppo di colonie batteriche più specifiche per la biodegradazione del Triton X-100.

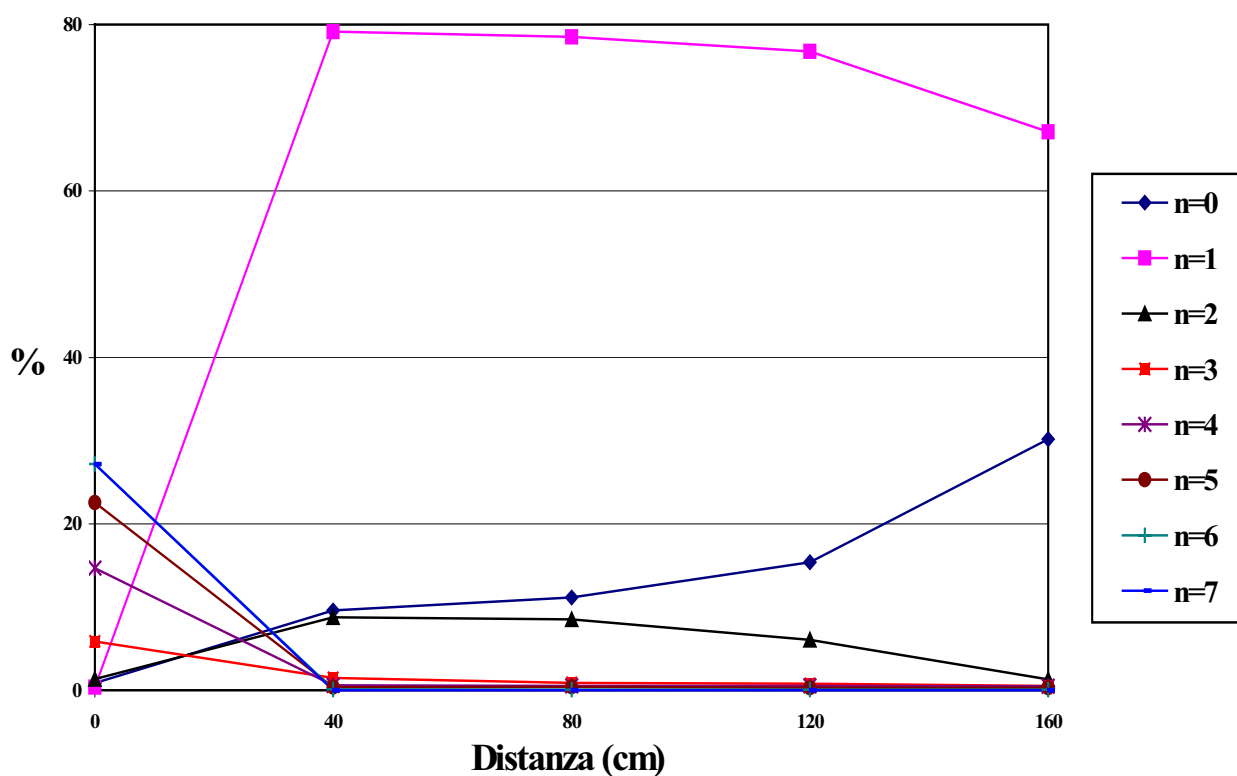
Il dietossilato presenta un andamento "a campana" simile a quello evidenziato nel dosaggio a 30 ppm per il monoetossilato, ma con abbondanza mai superiore all'8,8%.

Anche in questo caso risulta estremamente interessante l'andamento degli etossimeri con  $n = 1$  e  $n = 0$ ; tali etossimeri presentano ancora una volta un comune andamento crescente nei primi 40 cm della vasca, ma in questo caso l'etossimero di gran lunga più abbondante risulta essere il monoetossilato. Gli andamenti dei due etossimeri sono dello stesso tipo di quelli già osservati per il dosaggio a 30 ppm ma l'aumentata concentrazione in ingresso del Triton X-100 comporta un aumento significativo del monoetossilato rispetto al 4-t-ottilfenolo. Questo comportamento indica che la velocità di degradazione del monoetossilato è significativamente più bassa di quella degli omologhi superiori e che, con ogni probabilità, è molto simile a quella del 4-t-ottilfenolo.

In Tabella 7 sono riportate le percentuali degli etossimeri da  $n = 0$  a  $n = 7$ , determinate mediante gascromatografia. Anche in questo caso si osserva una buona correlazione tra la scomparsa di alcuni etossimeri e la corrispondente formazione degli altri.

Da rilevare, inoltre, la costanza delle percentuali degli etossimeri con  $n=4$  e  $5$  (0.5 e 0.3%, rispettivamente) che indica come questi composti siano rilasciati continuamente dal sistema che li ha trattiene nei periodi precedenti.





**Figura 26 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=7 in ingresso, uscita e a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 300 ppm).**

**Tabella 7 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=7 determinate mediante gascromatografia a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 300 ppm).**

Etossimero	40 cm	80 cm	120 cm	160 cm
<b>n=0</b>	9,6	11,1	15,4	30,2
<b>n=1</b>	79,1	78,5	76,8	67,1
<b>n=2</b>	8,8	8,5	6,1	1,3



<b>n=3</b>	1,5	0,9	0,8	0,5
<b>n=4</b>	0,6	0,5	0,5	0,5
<b>n=5</b>	0,4	0,4	0,3	0,3
<b>n=6</b>	0,1	0,1	0,1	<0,1
<b>n=7</b>	-	-	-	-

#### 3.4.3.5 Dosaggio di 1000 ppm

Con l'ulteriore aumento nella concentrazione del Triton X-100 immesso, l'impianto pilota ha mostrato il raggiungimento dei propri limiti operativi, prescindendo dalla composizione, in termini di metaboliti del tensioattivo, delle acque in uscita.

Malgrado le condizioni climatiche (temperature elevate, prolungato ed intenso irraggiamento solare) fossero le più adatte, si sono manifestati chiari segnali di stress: ingiallimento, seppur contenuto, del fogliame, notevole aumento della torbidità dell'acqua in uscita che appare giallastra e, per esposizione alla luce, intensifica la propria colorazione producendo ulteriori quantità di particellato particolarmente fine; la filtrazione dei campioni risulta notevolmente ostacolata.

In Figura 27 sono riportati gli andamenti delle % relative, calcolate mediante gascromatografia, degli ottilfenoli etossilati (n = 0-7) in entrata, uscita ed a varie distanze dall'ingresso dell'impianto.

Dall'osservazione della suddetta figura possiamo notare che le variazioni degli andamenti dei vari etossimeri, evidenziate con il passaggio da 30 a 300 ppm, sono in questo caso ancora più marcate.

Il trietossilato, infatti, che nel dosaggio a 300 ppm mostrava un andamento strettamente decrescente, presenta in questo caso un andamento costante fino a 40 cm di distanza dall'ingresso.

Il dietossilato continua ad avere un andamento "a campana"; il massimo a 40 cm è però notevolmente più pronunciato rispetto al dosaggio precedente, raggiungendo un valore del 22,8%, ed il valore in uscita, pari al 7,3%, è assai elevato.

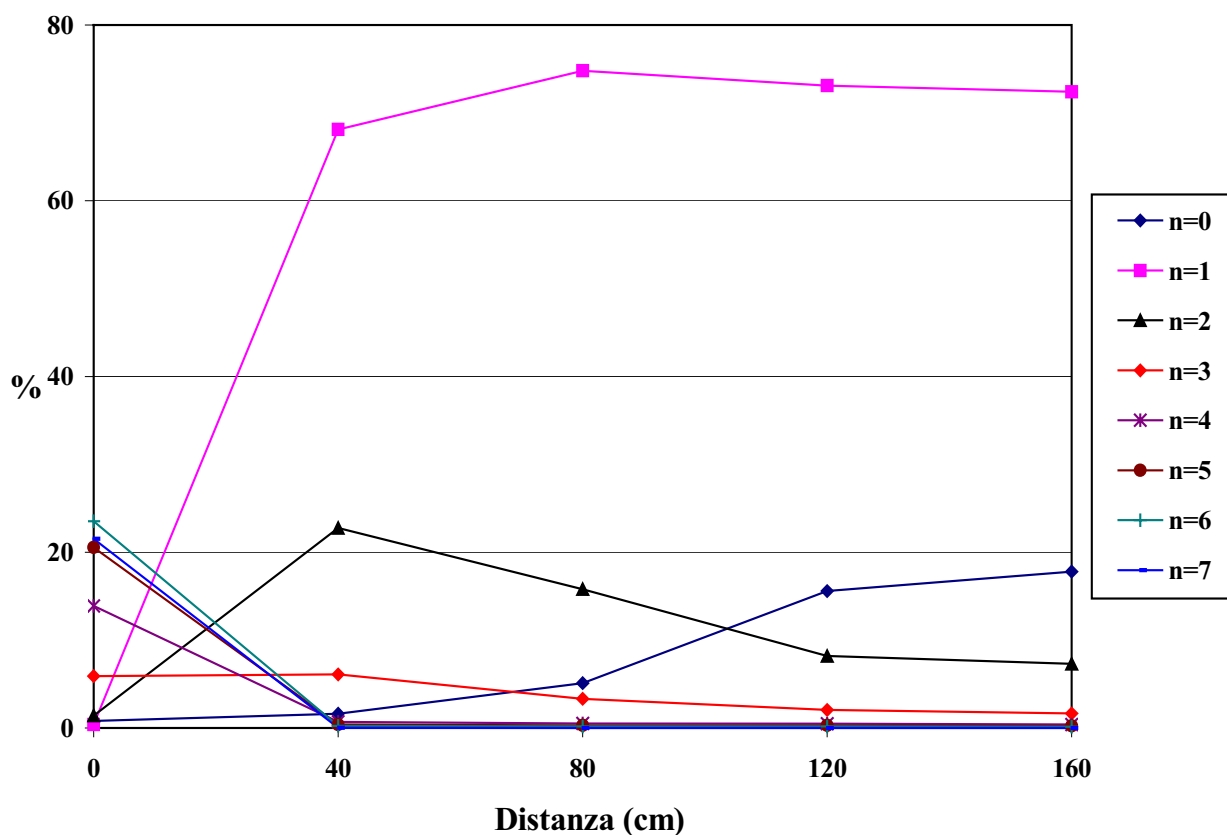
Il monoetossilato, invece, presenta un andamento a campana molto slargata con il massimo (74,8%) in corrispondenza degli 80 cm, ma senza mostrare il netto calo all'uscita come nei casi precedenti.



Il 4-t-ottilfenolo, infine, è caratterizzato anche in questo caso da un andamento strettamente crescente ma il suo incremento è più contenuto che nei casi precedenti, rappresentando in uscita solo il 17,8% del totale.

Riassumendo, all'aumentare della concentrazione in ingresso si nota un progressivo aumento delle percentuali degli etossimeri più pesanti, a conferma del fatto che l'aumento abnorme di concentrazione del tensioattivo in entrata dà luogo ad un processo di saturazione delle colonie batteriche che non sono più in grado di fare fronte all'aumentata massa di etossimeri che devono essere biodegradati.

La Tabella 8, che mostra l'andamento delle percentuali degli etossimeri da n=0 a n=7, evidenzia ancora una volta il buon accordo tra l'aumento di alcuni omologhi più leggeri e la diminuzione di altri più pesanti. I valori di tabella confermano altresì la costanza delle percentuali per n=4 e 5, che rappresentano quindi la quantità rilasciata dall'impianto in seguito alle esperienze alle quali è stato sottoposto.



**Figura 27 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=7 in ingresso, uscita e a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 1000 ppm).**



**Tabella 8 - Percentuali degli ottilfenoli etossilati da n=0 a n=7 determinate mediante gascromatografia a varie distanze dall'ingresso (analisi simultanea, dosaggio 1000 ppm).**

<b>Etossimero</b>	<b>40 cm</b>	<b>80 cm</b>	<b>120 cm</b>	<b>160 cm</b>
<b>n=0</b>	1,6	5,1	15,6	17,8
<b>n=1</b>	68,1	74,8	73,1	74,2
<b>n=2</b>	22,8	15,8	8,2	7,3
<b>n=3</b>	6,1	3,3	2,1	1,7
<b>n=4</b>	0,7	0,5	0,5	0,4
<b>n=5</b>	0,4	0,3	0,3	0,3
<b>n=6</b>	0,2	0,2	0,2	0,1
<b>n=7</b>	<0,1	-	-	-

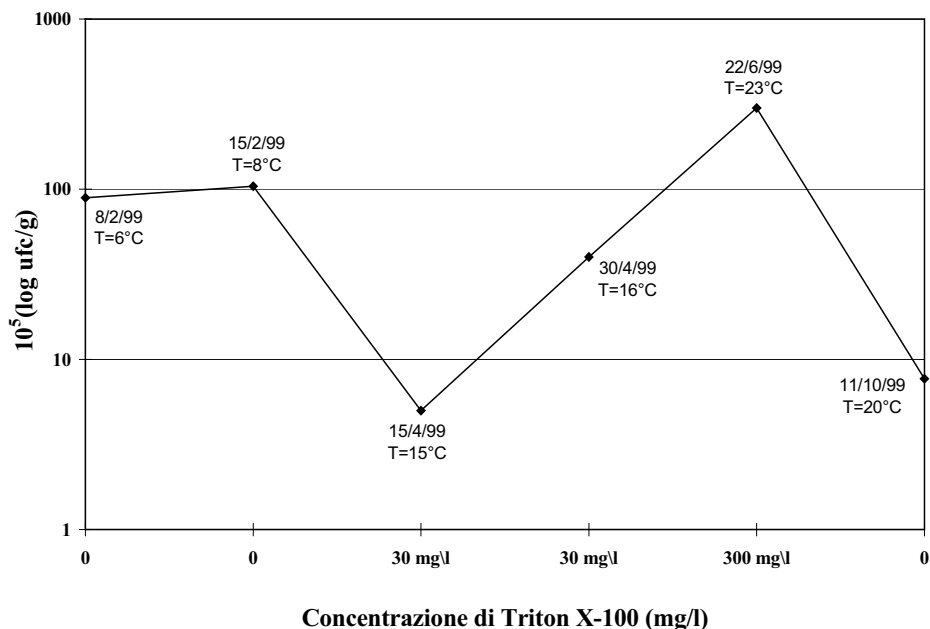
#### *3.4.4 Analisi microbiologiche*

In Figura 28 e 29 sono rappresentati gli andamenti della carica batterica totale determinata per mezzo di differenti terreni di coltura (TY e TYCV) su campioni di radici prelevati a 80 cm dall'ingresso dell'impianto e ad una profondità di circa 25 cm, in funzione della concentrazione di Triton X-100 dosato e quindi in differenti periodi dell'anno.

Le figure mostrano un calo significativo della carica batterica durante il dosaggio del Triton X-100

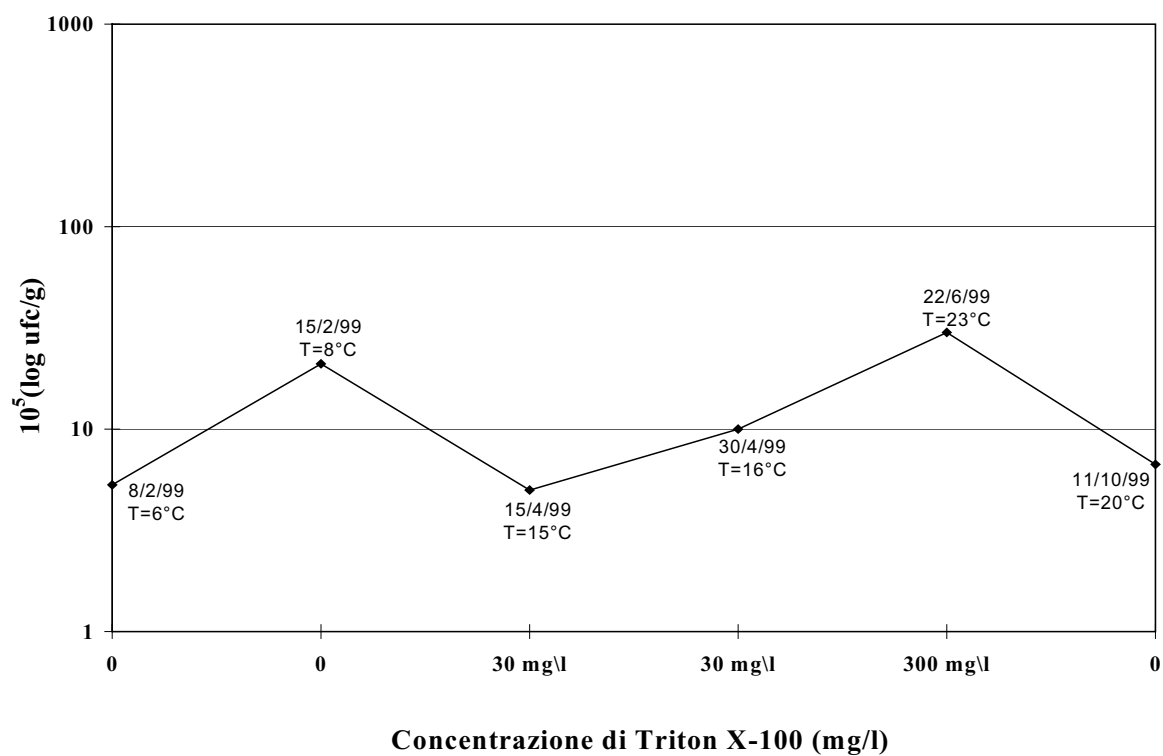


a 30 ppm, probabilmente da imputare ad un effetto inibitore del tensioattivo sulla crescita della maggior parte delle colonie batteriche, sinergicamente favorito dalle basse temperature registrate nel periodo del campionamento. Il progressivo acclimatemento delle flore microbiche è evidenziato dal successivo andamento crescente della carica batterica, con un massimo in corrispondenza del dosaggio di 300 mg/L; tale massimo è più pronunciato per l'analisi effettuata per mezzo di terreni TY che non TYCV. La presenza di un valore di picco durante il dosaggio a 300 ppm è probabilmente dovuta ad una selezione positiva di microrganismi resistenti e/o degradanti nonché alle più favorevoli condizioni climatiche registrate durante il dosaggio di 300 ppm ( $T = 23^{\circ}\text{C}$ ). D'altronde l'incremento progressivo della carica batterica non può essere spiegato invocando esclusivamente il positivo effetto della temperatura, in quanto il dato di Ottobre, relativo ad una presenza in vasca di Triton X-100 estremamente più bassa che nel campionamento precedente, è caratterizzato, al contrario, da temperature elevate ( $20^{\circ}\text{C}$ ), paragonabili a quelle del prelievo di Giugno e comunque superiori a quelle del campionamento effettuato il 30 di Aprile, che presenta un valore di carica batterica maggiore.



**Figura 28 – Carica batterica totale TY in campioni di radici prelevati a 80 cm dall'ingresso del sistema e ad una profondità di 25 cm, prima, durante e dopo il dosaggio di differenti concentrazioni di Triton X-100.**





**Figura 29 – Carica batterica totale TYCV in campioni di radici prelevati a 80 cm dall'ingresso del sistema e ad una profondità di 25 cm, prima, durante e dopo il dosaggio di differenti concentrazioni di Triton X-100.**



In Figura 30 e 31 sono mostrate il numero di specie differenti identificate per mezzo di terreni di coltura TY e TYCV su campioni di radici prelevati a 80 cm dall'ingresso dell'impianto e ad una profondità di circa 25 cm, in funzione della concentrazione di Triton X-100 dosato e quindi in differenti periodi dell'anno.

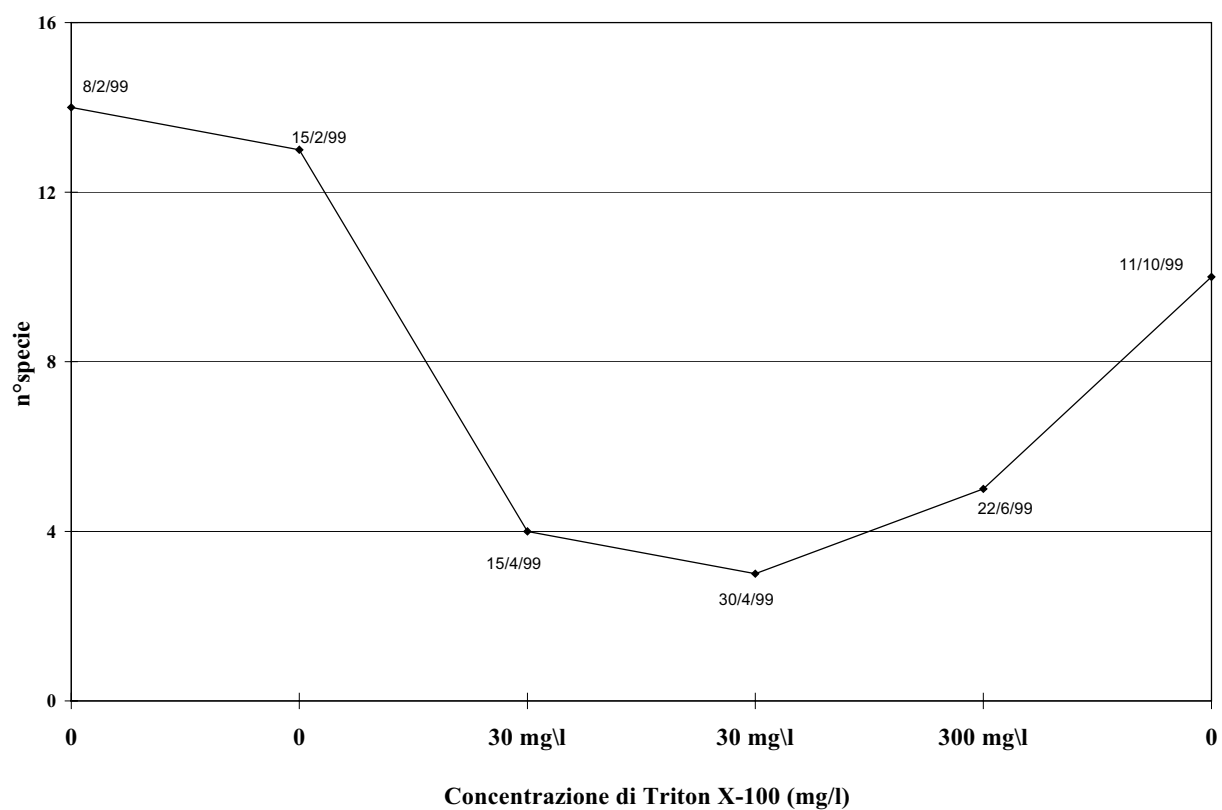
La diversità microbica, intesa come pluralità di specie esistenti, mostra un andamento caratteristico in relazione alla presenza di Triton. Il numero di specie, infatti assume valori di minimo in corrispondenza del dosaggio del tensioattivo e torna ad aumentare allorchè tale dosaggio cessa. E' da sottolineare inoltre, come la selezione delle specie, ovvero la diminuzione del loro numero, sia accompagnata dal contemporaneo aumento della carica batterica totale, fenomeno questo, che indica in modo chiaro una "selezione positiva" delle colonie e un conseguente aumento della loro capacità metabolica nei confronti del Triton X-100.

I batteri maggiormente presenti finora identificati sono di tipo Gram negativo appartenenti a generi quali *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Aquaspirillum* e *Achromobacter*. Sono inoltre stati identificati batteri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* appartenenti ai generi *Enterobacter* e *Rahnella*.

La presenza di *Pseudomonas* e *Flavobacterium*, ceppi batterici per i quali sono ampiamente dimostrate le buone attitudini nella degradazione di composti organici (Bergey, 1984), è coerente con le ottime rese depurative riscontrate.

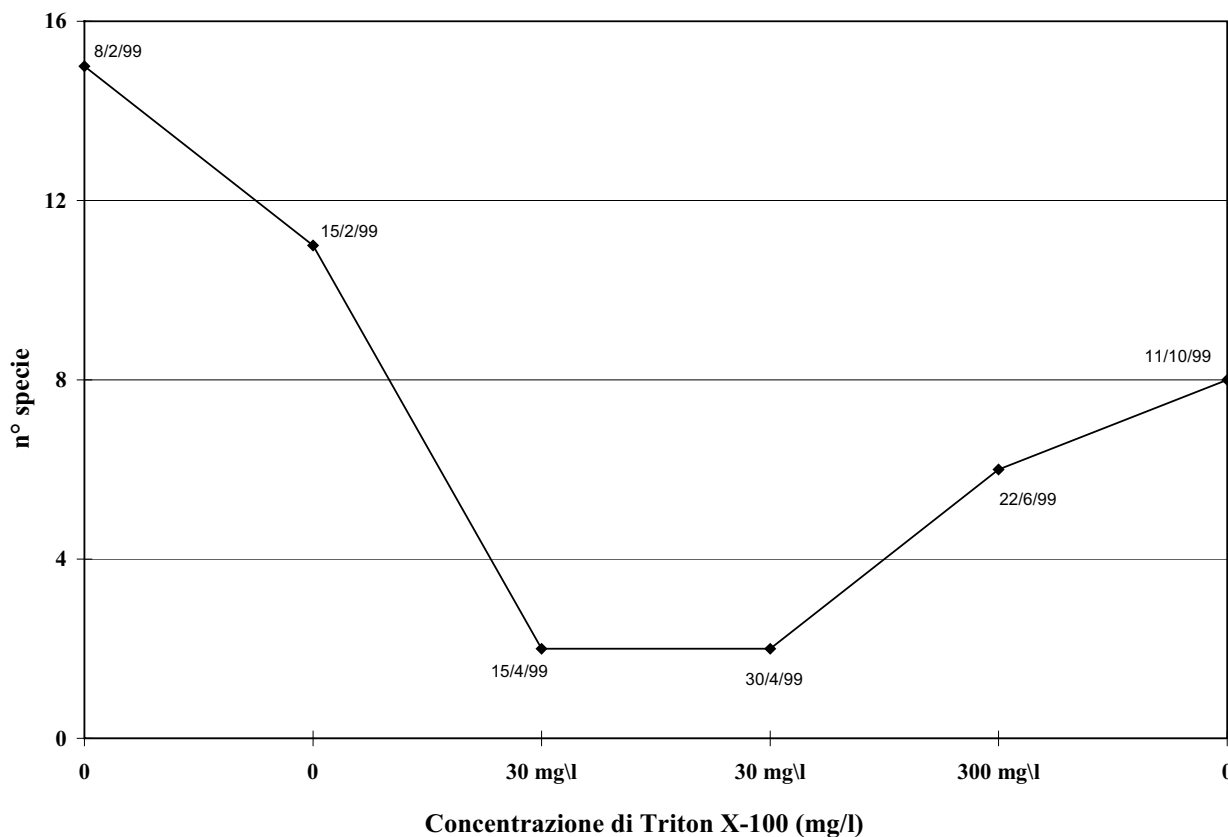
Sembra perciò ragionevole asserire che, dopo un necessario tempo di acclimatamento, le zone umide costruite rappresentano un "habitat" capace di adeguare la sua flora microbica, sia da un punto di vista quantitativo (carica batterica totale) che qualitativo (numero di specie), in risposta alla somministrazione di un inquinante quale il Triton X-100.





**Figura 30 – Numero di specie differenti identificate su terreno TY in campioni di radici prelevati a 80 cm dall'ingresso del sistema e ad una profondità di 25 cm, prima, durante e dopo il dosaggio di differenti concentrazioni di Triton X-100.**





**Figura 31 – Numero di specie differenti identificate su terreno TYCV in campioni di radici prelevati a 80 cm dall’ingresso del sistema e ad una profondità di 25 cm, prima, durante e dopo il dosaggio di differenti concentrazioni di Triton X-100.**

### *3.4.5 Valutazione dell’efficienza di rimozione del Triton X-100 da parte dell’impianto pilota*

Sulla base dei risultati illustrati precedentemente, emerge che il Triton X-100 dosato nell’impianto viene biodegradato dando luogo alla scomparsa degli etossimeri con  $n > 6$  e provocando un



contemporaneo aumento di quelli a più basso peso molecolare ( $n = 1, 2, 3$ ) e al 4-t-ottilfenolo ( $n = 0$ ). Questi ultimi si ritrovano all'uscita dell'impianto, sia nella fase acquosa che nel particellato in essa contenuto. Tale fenomeno è in accordo con quanto riportato in letteratura per scarichi di impianti a fanghi attivi (Di Corcia et al., 1998).

#### 3.4.5.1 Bilancio di massa degli etossimeri disciolti nella fase acquosa

Le concentrazioni degli etossimeri in uscita dall'impianto, dopo aver raggiunto le condizioni di regime, sono risultate molto basse rispetto a quelle riscontrate in entrata, come mostrato in Tabella 9, indicando un'eccellente efficienza di rimozione globale nei confronti del tensioattivo. Si osservano infatti delle concentrazioni totali (mg/l) in uscita che variano tra il 3.2 e il 10.5% di quelle in entrata.

Per effettuare un bilancio di massa occorre però valutare la presenza degli etossimeri in entrata e in uscita attraverso grandezze omogenee. Ciò non è possibile attraverso una misura di massa, giacché per esprimere un valore di rimozione, sia gli etossimeri in entrata che quelli in uscita debbono essere riuniti in due gruppi distinti, ciascuno caratterizzato da un proprio valore del numero di etossilazione medio (9,5 per l'entrata e circa 1 per l'uscita) e quindi da un corrispondente peso molecolare. In questo modo è possibile trattare un insieme di composti come uno solo, utilizzando il peso molecolare medio ed esprimendo quindi la quantità di etossimeri immessi nell'impianto e rilasciati dallo stesso, attraverso una misura in  $\text{mmoli/m}^2 \cdot \text{giorno}$ .

**Tabella 9 - Concentrazione (mg/L) degli etossimeri in entrata e in uscita dall'impianto per i tre dosaggi impiegati in condizioni di regime.**

Etossimero	30 ppm		300 ppm		1000ppm	
	Entrata	Uscita	Entrata	Uscita	Entrata	Uscita
<b>n=0</b>	0.3	0.6	0.8	7.0	4.0	8.1
<b>n=1</b>	2.1	0.3	0.5	22.8	2.9	54.6
<b>n=2</b>	1.1	0.1	2.0	0.5	10	4.5



<b>n=3</b>	2.2	-	8.7	0.2	36	0.9
<b>n=4</b>	2.4	-	21.8	0.2	81	0.2
<b>n=5</b>	2.9	-	32.1	0.1	119	0.2
<b>n=6</b>	3.5	-	38.6	-	138	0.1
<b>n=7</b>	3.7	-	39.8	-	140	-
<b>n=8</b>	3.2	-	38.6	-	116	-
<b>n=9</b>	3.2	-	35.7	-	110	-
<b>n=10</b>	2.6	-	29.1	-	92	-
<b>n=11</b>	1.9	-	21.3	-	68	-
<b>n=12</b>	2.5*	-	15.3	-	48	-
<b>n=13</b>		-	8.1	-	25	-
<b>n=14</b>	-	-	-	-	11	-
<b>Totale</b>	31.6	1.0	292.4	30.8	1000.9	68.6

\* Il valore si riferisce alla somma degli etossimeri con n = 12 e 13.

Per questa ragione, in Tabella 10 sono riportate le mmoli/m<sup>2</sup>·giorno dell'insieme degli etossimeri in entrata e in uscita dall'impianto e le percentuali delle uscite rispetto alle entrate. Questi dati, omogenei e quindi confrontabili, mostrano che le mmoli/m<sup>2</sup>·giorno in uscita rappresentano una percentuale compresa tra il 14 e il 27 % rispetto al gruppo di etossimeri in entrata. Quest'ultimo dato evidenzia che, per quanto riguarda la fase acquosa, vi è una forte differenza tra le mmoli immesse nell'impianto e quelle rilasciate sotto forma di etossimeri. E' comunque da ricordare che tale dato tiene conto solo della fase acquosa e non del particellato in essa sospeso.

**Tabella 10 - Quantità (mmoli/m<sup>2</sup>·giorno) di etossimeri presenti in entrata e in uscita dell'impianto pilota durante differenti dosaggi di Triton X-100.**

<b>Concentrazione di Triton X-100 (ppm)</b>	<b>Entrata</b>	<b>Uscita</b>	<b>Percentuali delle uscite rispetto alle entrate</b>
---	----------------	---------------	---



<b>30</b>	1,76	0,25	14,2
<b>300</b>	17,6	4,74	26,8
<b>1000</b>	58,8	10,1	17,2

Al termine del dosaggio delle 1000 ppm, il monitoraggio dell'acqua in uscita e del particolato in essa contenuto è stato protratto, al fine di valutare eventuali fenomeni di rilascio di etossimeri precedentemente adsorbiti da parte dell'impianto.

In Figura 32 sono riportati gli andamenti degli etossimeri disciolti in acqua, espressi come mmoli/m<sup>2</sup>·giorno, prelevati all'uscita dell'impianto pilota alla fine del dosaggio di 1000 ppm e durante i successivi 97 giorni.

Tali andamenti sono estremamente interessanti e forniscono lo spunto per le seguenti considerazioni.

- Il rilascio del 4-t-ottilfenolo e degli etossimeri a basso peso molecolare, si è protratto per i successivi 97 giorni e permane tuttora a livelli consistenti.
- Gli andamenti degli etossimeri con n = 0, 2 e 3 sono in buon accordo con una regressione di tipo lineare, presentando valori di r<sup>2</sup> pari rispettivamente a 0,9409, 0,9147 e 0,9428; il monoetossilato, invece, viene ben rappresentato da una regressione di tipo esponenziale (r<sup>2</sup> = 0.9751).
- Dall'estrapolazione della curva di regressione corrispondente al monoetossilato, che rappresenta il composto di gran lunga più abbondante, si può prevedere che la scomparsa di questo etossimero, e quindi anche degli altri, avverrà dopo circa 100 giorni a partire dall'ultimo campionamento effettuato.
- Dopo circa 100 giorni dal termine del dosaggio, si nota ancora la persistenza degli etossimeri con n = 2 e 3, con il dietossilato presente a un livello di concentrazione praticamente costante e con il trietossilato che diminuisce abbastanza lentamente.
- Gli andamenti del monoetossilato e del 4-t-ottilfenolo confermano che le loro velocità di degradazione sono simili.

Dal bilancio complessivo delle mmoli immesse nell'impianto durante l'intero periodo di dosaggio e quelle determinate nelle acque di uscita fino a 97 giorni dopo la cessazione del dosaggio, si evince che, in questo periodo di tempo, l'impianto ha rilasciato nella fase acquosa 1082 mmoli/m<sup>2</sup> (652 mmoli/m<sup>2</sup> durante il dosaggio e 430 dopo il suo termine) che, rispetto alle 4007 mmoli/m<sup>2</sup> introdotte, rappresentano il 27%.

Ciò può essere spiegato considerando la notevole idrofobicità degli etossimeri a basso peso



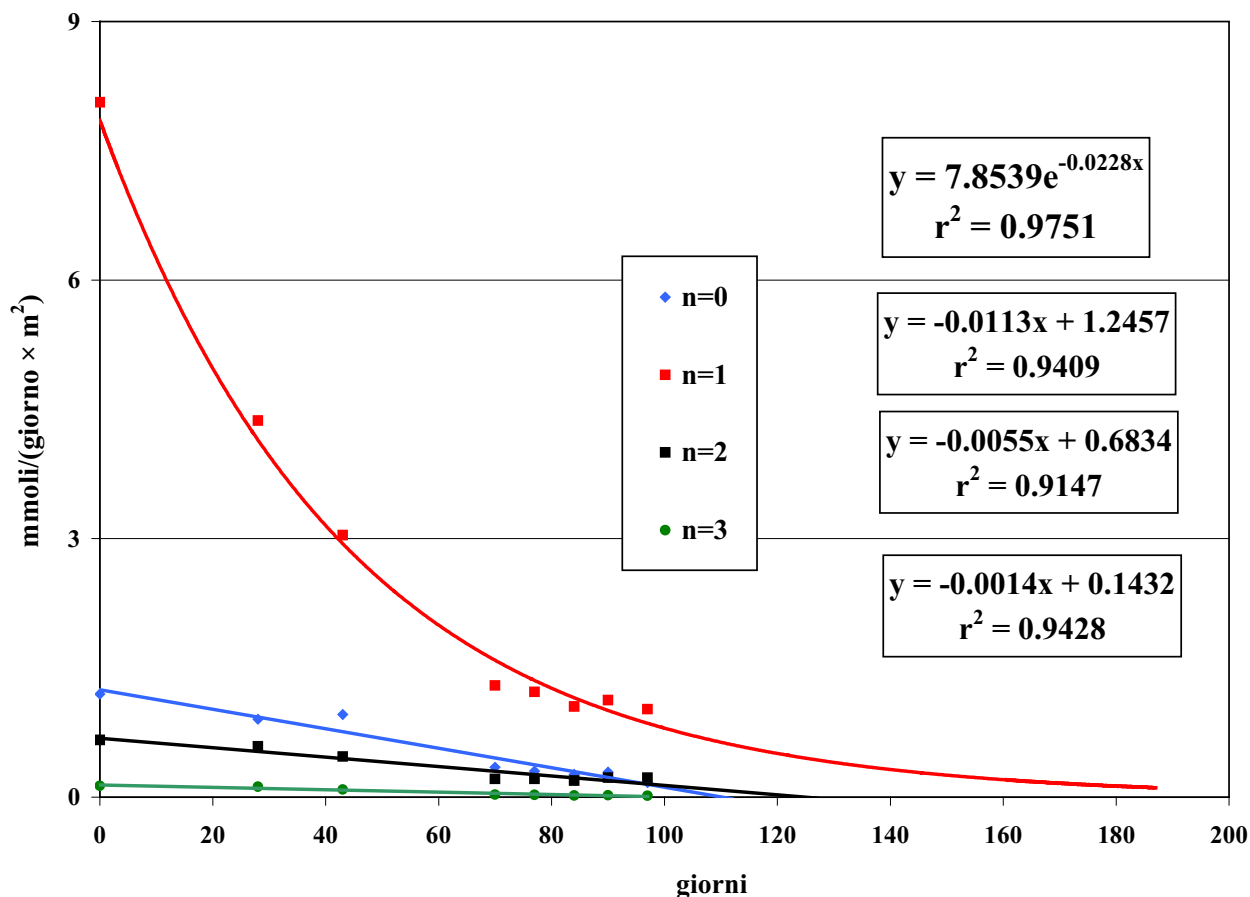
molecolare, responsabile della loro maggiore affinità nei confronti del particolato rispetto all'acqua. Il successivo lento rilascio da parte della matrice solida rende conto della persistenza di tali composti nelle acque in uscita all'impianto pilota.

#### *3.4.5.2 Bilancio di massa degli etossimeri nel particolato*

Sono state effettuate analisi sia sul particolato sia sulle radici delle piante al fine di determinare la quantità dei singoli etossimeri ivi assorbiti.

Mentre le analisi sulle radici non hanno mostrato la presenza degli etossimeri, quelle sul particolato hanno messo in evidenza concentrazioni apprezzabili, dell'ordine dei  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , di tali composti. L'apporto del particolato in uscita al bilancio di massa, non appare tuttavia rilevante; è da notare, infatti, che la concentrazione degli etossimeri adsorbiti sul particolato in uscita all'impianto per un dosaggio di Triton X-100 pari a 1000 ppm, è di  $0.47 \text{ mmoli}/\text{giorno} \cdot \text{m}^2$ , cioè pari al 4,3% della quantità disciolta nell'acqua. Moltiplicato tale valore per i 40 giorni del dosaggio e aggiungendo anche il contributo del particolato raccolto con l'acqua in uscita per i 97 giorni successivi, la percentuale di etossimeri adsorbita risulta praticamente trascurabile rispetto a quella disciolta nell'acqua.





**Figura 32 – Andamento delle concentrazioni e miglior curva di regressione per gli etossimeri del Triton X-100 nei campioni di acqua in uscita al sistema pilota prelevati dopo il termine del dosaggio.**

### 3.4.6 Valutazione dell'efficienza di rimozione attraverso i valori di COD

Un'ulteriore dimostrazione delle capacità degradative dell'impianto pilota nei confronti del Triton X-100 è fornita dai valori del COD registrati in entrata, uscita e punti di prelievo intermedi; sia il tensioattivo immesso che i suoi metaboliti primari, infatti, sono composti organici ossidabili nelle condizioni in cui si esegue la prova. Se si considera che la quantità di tensioattivo immesso, anche al dosaggio più basso, produce un valore di COD ben più elevato del “fondo” caratteristico dei reflui in entrata, si comprende facilmente come la diminuzione del COD fra l'ingresso e l'uscita della vasca sia correlabile con la rimozione del Triton X-100.



In Tabella 11 sono riportati i valori di COD relativi ai campioni di entrata, uscita e a punti di prelievo intermedi, registrati prima e durante l'aggiunta di differenti concentrazioni di Triton X-100. Tali valori illustrano chiaramente le variazioni registrate in assenza del tensioattivo e durante i vari dosaggi; le analisi sono state eseguite parallelamente su campioni filtrati come di consueto e non filtrati, in modo da poter valutare l'influenza del particolato a carico del parametro in esame.

Con un dosaggio pari a 30 ppm di Triton X-100, la differenza fra il COD relativo a campioni filtrati e non filtrati è minima, in accordo con la scarsa quantità di solidi sospesi presenti nei reflui in entrata e con l'assenza pressochè completa, nelle uscite, di particellati.

A 300 ppm, la differenza tra le due serie di campioni si fa più marcata, in relazione con lo sviluppo di moderate quantità di particolato giallastro per esposizione alla luce dei campioni stessi; la genesi di tale particolato ed il suo elevato contributo in termini di COD, indicano che esso è costituito essenzialmente da materiale organico prodottosi per catabolismo batterico.

Con il dosaggio di 1000 ppm, infine, la notevole quantità di particolato ossidabile presente nelle uscite determina un ulteriore aumento della differenza di COD tra campioni filtrati e non. A prescindere da questi fenomeni, i valori di rimozione sono comunque elevati, raggiungendo punte intorno al 95% in corrispondenza del dosaggio più elevato.

Le maggiori rimozioni percentuali registrate in corrispondenza degli alti carichi in ingresso (300 e 1000 ppm), rispetto a quelli più bassi (0 e 30 ppm), sono in parte da imputare alla presenza di un "fondo" di COD tipico per sistemi naturali quali le zone umide costruite. Tale "fondo", ovviamente, incide percentualmente tanto meno quanto più elevato è il carico organico presente.

Da sottolineare infine che, in corrispondenza dei valori di dosaggio di 30 e 300 ppm, l'impianto si dimostra ampiamente capace di riportare i valori di COD entro i limiti (125 mg/L) imposti dalla Direttiva CEE n° 271/91 e recentemente recepiti con il D.L. n° 152 dell'11/5/1999. Nel caso del dosaggio di 1000 ppm si nota invece che l'uscita, per quanto attiene al valore di concentrazione, non rispetta i requisiti di qualità propri di uno scarico proveniente da un impianto di trattamento e destinato alla reimmissione in corpi d'acqua superficiali; l'abbattimento percentuale, d'altronde, ben superiore al 75% imposto dalla normativa suddetta fa rientrare anche questo dato nei limiti di legge. Volendo comunque riportare il valore di COD entro il limite di concentrazione di 125 mg/L, sarebbe sufficiente aumentare l'area superficiale di soli 0.05 m<sup>2</sup>.



**Tabella 11 - Valori di COD (mg/L) in entrata e a varie distanze dall'ingresso, registrati prima e durante l'aggiunta di differenti concentrazioni (mg/L) di Triton X-100.**

<b>Triton</b>	<b>Tipo campione (NF/F)*</b>	<b>Entrata</b>	<b>40 cm</b>	<b>80 cm</b>	<b>120 cm</b>	<b>Uscita</b>	<b>Rimozione %</b>
<b>0</b>	NF	29**	n.d.	n.d.	n.d.	14**	51,7
	F	20**	n.d.	n.d.	n.d.	9**	55,0
<b>30</b>	NF	234	140	95	65	50	78,6
	F	205	135	82	60	46	77,6
<b>300</b>	NF	1440	460	320	140	95	93,4
	F	1260	255	180	98	75	94,1
<b>1000</b>	NF	4560	750	580	330	210	95,4
	F	4150	470	410	190	140	96,6

\* NF = campione non filtrato; F = campione filtrato.

\*\* Valori medi di 13 misurazioni effettuate tra Novembre 1997 e Novembre 1998.

### **3.5 STUDIO DELLA RIMOZIONE DEL FOSFORO DA PARTE DI SUOLI DANESI UTILIZZABILI COME “MEDIUM” IN ZONE UMIDE COSTRUITE A FLUSSO SUB-SUPERFICIALE**

#### *3.5.1 Origine dei suoli e loro caratterizzazione*

L'ultima glaciazione (Weichsel, periodo Wurmiano), risalente a un periodo compreso tra i 50000 e i 100000 anni fa, ha diviso la Danimarca in due regioni: quella più ad Est, coperta dalla estremità inferiore dei ghiacciai norvegesi e quella verso Ovest, libera dai ghiacci. Le caratteristiche dei suoli delle due zone risultano perciò diverse in conseguenza delle differenti condizioni cui sono stati sottoposti. In particolare la zona Est, che è stata coperta dai ghiacci, è dominata da una morena frontale e presenta generalmente suoli argillosi e calcarei. A ovest di tale morena, al contrario, il suolo è prevalentemente di tipo sabbioso e dilavato. Le caratteristiche dei materiali naturali che sono commercialmente disponibili per l'uso nelle zone umide costruite differiscono perciò in dipendenza della località di provenienza.

I materiali usati in questo studio (vedi Tabella 12), sono stati ottenuti da cave di ghiaia e sabbia situate in differenti regioni della Danimarca, in modo da valutare la loro capacità di rimuovere il fosforo (presumibilmente diversa in ragione della loro origine geologica) da una matrice acquosa e,



quindi, la loro utilità come “medium” di riempimento di zone umide costruite a flusso sub-superficiale.

I materiali sono stati caratterizzati sia per quanto riguarda le loro proprietà fisiche (distribuzione dimensionale delle particelle, porosità, densità e conducibilità idraulica), che per quanto attiene la composizione chimica in P, Ca, Mg, Al e Fe, metalli questi ultimi, notoriamente coinvolti nella formazione di fosfati altamente insolubili e perciò probabilmente correlati con un’eventuale rimozione di fosforo da un’acqua di scarico.

**Tabella 12 - Elenco dei materiali utilizzati in questo studio.**

<b>Materiali</b>	<b>Descrizione</b>	<b>Coordinate</b>
<b>Birkesig</b>	Sabbia lavata (0-2 mm)	56°18’N; 10°48’E
<b>Vestergård</b>	Sabbia lavata (0-2mm) di Kongensbro	56°18’N; 9°40’E
<b>Almind</b>	Sabbia lavata (0.5-4mm)	55°33’N; 9°30’E
<b>Bedsted 1</b>	Sabbia “Filtersand” (0-2mm) di Uge	54°58’N; 9°18’E
<b>Bedsted 2</b>	Sabbia (0-2mm) di Mijøls	55°05’N; 9°18’E
<b>Bedsted 3</b>	Sabbia “Stobesand” (0-4mm) di Uge	54°58’N; 9°18’E
<b>Nymølle</b>	Sabbia “Hønsegrus” (0-4mm)	55°19’N; 10°30’E
<b>Aunsøgård</b>	Sabbia lavata (0-4mm)	55°38’N; 11°20’E
<b>Løgtved</b>	Sabbia lavata “Betonsand” (0-4mm)	55°41’N; 11°09’E
<b>Sorø</b>	Sabbia lavata (0-2mm)	55°28’N; 11°34’E
<b>Darup</b>	Sabbia lavata (1-4mm)	55°38’N; 12°05’E
<b>Farum</b>	Sabbia “Betonsand” (0-4mm)	55°50’N; 12°20’E
<b>Quartz sand</b>	Sabbia lavata ed essiccata “Filtersand” (0.3-1.0 mm)	sconosciute

I materiali selezionati per questo studio, hanno delle caratteristiche tali da renderli idonei per l’uso in zone umide costruite a flusso sub-superficiale (vedi Tabella 13). La dimensione effettiva delle particelle ( $d_{10}$ ) varia tra 0.2 e 1.4 mm; tre materiali presentano un  $d_{60} > 3.2$  mm e, conseguentemente, una conducibilità idraulica molto elevata.

Il contenuto in metalli varia in modo marcato con la località di provenienza del materiale (vedi Tabella 14); in particolare la concentrazione del calcio è particolarmente bassa per il materiale denominato Vestergård (0.2 mg/g) in accordo con le condizioni di dilavamento subite dall’area di origine di tale sabbia. Vestergård contiene anche meno Mg e Al rispetto alla maggior parte degli altri suoli esaminati, mentre il suo contenuto in ferro è comparabile con quello degli altri materiali.



**Tabella 13 - Caratteristiche fisiche delle sabbie utilizzate per la valutazione delle proprietà di adsorbimento del P. I valori della porosità,  $d_{10}$ ,  $d_{60}$  e del coefficiente di uniformità ( $d_{60}/d_{10}$ ) sono la media di tre determinazioni. I valori della conducibilità idraulica ( $K_s$ ) sono riportati come media e relativa Standard Deviation (n=5).**

<b>Materiali</b>	<b>Porosità (%)</b>	<b>Densità (g cm<sup>3</sup>)</b>	<b><math>d_{10}</math> (mm)</b>	<b><math>d_{60}</math> (mm)</b>	<b><math>d_{60}/d_{10}</math></b>	<b><math>K_s</math> (m giorno<sup>-1</sup>)</b>
<b>Birkesig</b>	31	2.65	0.3	1.4	4.7	67±10
<b>Vestergård</b>	36	2.66	0.4	1.2	3.0	202±18
<b>Almind</b>	43	2.57	1.4	3.7	2.6	770±180
<b>Bedsted 1</b>	32	2.63	0.3	1.1	3.7	143±6
<b>Bedsted 2</b>	36	2.69	0.2	0.7	3.5	74±7
<b>Bedsted 3</b>	38	2.67	0.2	0.9	4.5	77±4
<b>Nymølle</b>	44	2.51	0.8	3.2	4.0	1130±64
<b>Aunsøgård</b>	30	2.66	0.2	1.0	5.0	22±1
<b>Løgtved</b>	36	2.61	0.2	0.6	3.0	69±10
<b>Sorø</b>	35	2.55	0.2	0.7	3.5	40±4
<b>Darup</b>	36	2.67	0.6	3.4	5.7	360±40
<b>Farum</b>	33	2.54	0.2	0.7	3.5	30±6
<b>Quartz sand</b>	32	2.56	0.3	0.9	3.0	111±12

In molti degli altri suoli il contenuto di calcio è più elevato e varia tra circa 20 e 70 mg/g, con Darup e Nymølle che rappresentano i materiali più ricchi in questo metallo.

Il materiale denominato Quartz sand ha mostrato il più basso contenuto rispetto a tutti i metalli analizzati.

Il pH e la conducibilità dei materiali posti a contatto con l'acqua di rubinetto, si sono mostrati abbastanza costanti (vedi Tabella 14), riflettendo il pH e la conducibilità propri dell'acqua di rubinetto stessa.



**Tabella 14 - Valori all'equilibrio di pH e conducibilità in acqua di rubinetto e concentrazioni del P, Fe, Ca, Al e Mg nella sabbia e nelle ghiaie utilizzate per valutare le capacità di adsorbimento del P. Le concentrazioni sono espresse in peso secco. Tutti i valori sono la media di analisi duplicate.**

<b>Materiali</b>	<b>pH</b>	<b>Conducibilità (<math>\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>P (<math>\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Fe (<math>\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Ca (<math>\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Al (<math>\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>	<b>Mg (<math>\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}</math>)</b>
<b>Birkesig</b>	8.25	563	0.21	3.54	24.7	1.73	0.83
<b>Vestergård</b>	8.20	492	0.14	3.33	0.2	0.61	0.18
<b>Almind</b>	8.30	510	0.30	8.13	22.8	1.70	1.21
<b>Bedsted 1</b>	8.65	481	0.35	4.89	31.1	2.40	1.45
<b>Bedsted 2</b>	8.65	496	0.19	3.75	23.7	1.28	0.92
<b>Bedsted 3</b>	8.68	453	0.18	2.79	27.7	1.63	0.98
<b>Nymølle</b>	8.30	580	0.28	4.77	69.9	2.53	2.08
<b>Aunsøgård</b>	8.26	557	0.45	8.47	23.6	4.18	2.23
<b>Løgtved</b>	8.32	525	0.34	3.65	3.5	2.36	1.05
<b>Sorø</b>	8.20	496	0.30	4.46	39.2	2.35	1.26
<b>Darup</b>	8.32	540	0.30	3.59	62.3	1.90	1.28
<b>Farum</b>	8.39	533	0.21	2.91	40.3	1.47	0.75
<b>Quartz sand</b>	8.53	496	0.04	1.21	0.6	0.32	0.08



### 3.5.2 *Isoterme di adsorbimento di Langmuir e analisi statistiche relative*

L'equazione di Langmuir, basata sulla teoria cinetica dei gas, trova la sua naturale applicazione nella descrizione dell'adsorbimento di gas su solidi. D'altra parte, questa equazione, sia nella sua forma originaria (Olsen e Watanabe, 1957) che con alcune modificazioni (Gunary, 1970; Syers et al., 1973; Rayan e Fox, 1975; Ryden et al., 1977), è stata diffusamente utilizzata anche per descrivere l'adsorbimento, da parte di solidi, di ioni presenti in soluzione acquosa. Non deve comunque essere dimenticato che le stesse rigorose basi teoriche esistenti nel caso dei gas, non sono state invece sviluppate nel caso di soluzioni acquose e che, a questo riguardo, severe critiche sono state mosse alla estensione dell'utilizzo di tale equazione (Veith e Sposito, 1977).

L'equazione di Langmuir, nella sua forma originale, può essere scritta come:

$$q/Q = b \cdot C / (1 + b \cdot C) \quad (7)$$

dove:

C = concentrazione di equilibrio dell'adsorbato (mg P/l);

q = massa di adsorbato per unità di massa di adsorbente all'equilibrio (mg P/g);

Q = entità dell'adsorbimento in condizioni di saturazione (mg P/g);

b = costante empirica avente come dimensione l'inverso di una concentrazione.

In forma lineare l'equazione (7) diventa:

$$C/q = C/Q + 1/b \cdot Q \quad (8)$$

che rappresenta una linea retta avente pendenza  $1/Q$  e intercetta  $1/b \cdot Q$ . L'equazione (8), teoricamente, permette di stimare sia il massimo adsorbimento Q che la costante b. Quest'ultima rappresenta l'inverso della concentrazione di equilibrio dell'adsorbato in corrispondenza di metà saturazione e fornisce, perciò, una misura dell'affinità dell'adsorbato per l'adsorbente. Tuttavia, quando oltre l'adsorbimento intervengono altri meccanismi di rimozione del fosforo (come ad esempio la precipitazione), anche se l'equazione di Langmuir sembra ben interpretare i dati sperimentali, nessun significato può ovviamente essere attribuito a Q e b (Veith e Sposito, 1977). In questo caso l'equazione di Langmuir diventa semplicemente un modo di diagrammare i dati in forma lineare, ruolo questo comunque utile per riassumere graficamente un processo complesso



quale la rimozione del fosforo da parte di un dato suolo (Barrow, 1978).

In Figura 33 è riportata la quantità (mg) di P rimosso per grammo di materiale, in funzione della concentrazione di equilibrio raggiunta al termine delle prove discontinue di rimozione, per le sabbie denominate Darup, Nymølle, Birkesig, Vestergård e Quartz sand. Dall'osservazione di tale figura, appare chiaro come sabbie caratterizzate da un elevato contenuto di metalli (Darup e Nymølle) presentano una capacità di rimozione del fosforo nettamente superiore alle altre. Questa differenza appare tanto più evidente quanto più elevata è la concentrazione iniziale di fosforo. Infatti, per una concentrazione iniziale di incubazione pari a 320 mg/l, la quantità di fosforo rimossa varia tra gli 0.27 mg P/g di Quartz sand e i 2.68 e 3.94 mg P/g rispettivamente di Nymølle e Darup. I valori di rimozione per le altre sabbie sono risultati compresi tra gli 0.27 e i 3.94 mg P/g (vedi Tabella 15).

Per identificare quali delle caratteristiche, misurate per i differenti materiali, sono maggiormente correlate con le differenze nella efficienza di rimozione del fosforo, riscontrate per i vari suoli, è stata condotta una “analisi delle componenti principali”. Tale trattamento chemiometrico studia l'interdipendenza di coppie di variabili, allo scopo di ridurre il numero a determinate componenti principali.

Nel nostro studio, condotto con il software Statgraphics versione 3.1 (Statistical Graphics Corp., USA), tale procedura ha consentito di ridurre il numero di variabili indipendenti, dalle 11 di partenza (vedi Tabella 16) a quattro componenti principali (PC1-4), che sono combinazioni lineari indipendenti delle variabili originarie.



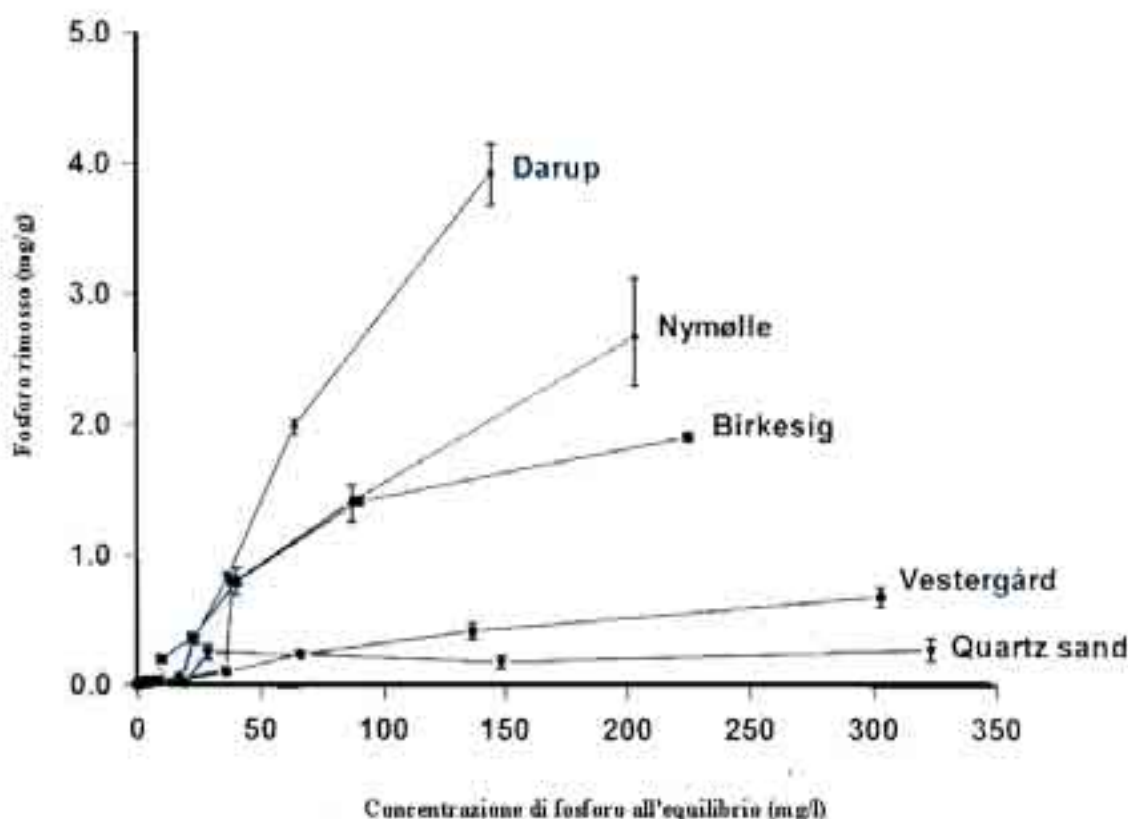
**Tabella 15 - Valori medi della capacità di adsorbimento del P stimati attraverso i grafici delle isoterme di Langmuir, valori di adsorbimento del P per una concentrazione iniziale di incubazione di 320 mg P l<sup>-1</sup>, e valori di rimozione del P in colonna per un carico pari a 0.2 mg P g<sup>-1</sup> in peso secco delle 13 sabbie studiate. I numeri in parentesi indicano l'intervallo dei valori per le varie misure (n=3).**

<b>Materiali</b>	<b>Capacità di adsorbimento secondo Langmuir (µg·g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Adsorbimento a 320 mg/l (µg·g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Rimozione in colonna (µg·g<sup>-1</sup>)</b>
<b>Birkesig</b>	93 (64-169)	1907 (1882-1931)	114 (104-124)
<b>Vestergård</b>	86 (68-96)	679 (603-755)	68 (65-72)
<b>Almind</b>	49 (44-55)	2054 (2027-2083)	92 (86-100)
<b>Bedsted 1</b>	76 (67-88)	891 (851-932)	98 (93-103)
<b>Bedsted 2</b>	84 (72-99)	795 (732-858)	102 (91-113)
<b>Bedsted 3</b>	86 (78-94)	760 (691-828)	82 (67-97)
<b>Nymølle</b>	61 (57-67)	2677 (2295-3124)	134 (127-142)
<b>Aunsøgård</b>	102 (97-108)	1259 (1227-1281)	73 (69-77)
<b>Løgtved</b>	129 (113-150)	1677 (1618-1735)	117 (105-129)
<b>Sorø</b>	112 (78-199)	874 (806-943)	133 (129-137)
<b>Darup</b>	64 (58-70)	3941 (3680-4156)	165 (157-168)
<b>Farum</b>	68 (59-79)	1710 (1590-1832)	130 (122-139)
<b>Quartz sand</b>	20 (18-22)	272 (186-359)	52 (50-55)



I fattori maggiormente significativi per le componenti principali suddette sono stati:

- PC1 - fattore correlato al contenuto in metalli (elevata correlazione per P, Fe, Al e Mg);
- PC2 - fattore correlato alla pezzatura dei materiali (elevata correlazione per tutte e quattro le granulometrie);
- PC3 – fattore correlato al pH e alla conducibilità (elevata correlazione per il pH e la conducibilità di equilibrio);
- PC4 - fattore correlato al contenuto in calcio (elevata correlazione per Ca).



**Figura 33 – Isotherme di adsorbimento del fosforo per cinque materiali rispetto alle concentrazioni di equilibrio di P in soluzione al termine dell'esperimento.**



**Tabella 16 - Analisi delle componenti principali del contenuto in minerali (P, Fe, Ca, Al, Mg), della pezzatura (G=granulometria) di 13 materiali usati negli esperimenti di adsorbimento isoterma, e di pH e conducibilità in condizioni di equilibrio per una concentrazione iniziale di P = 80 mg/l. Le variabili più significative di ogni componente principale hanno i relativi coefficienti di combinazione evidenziati in neretto.**

	<b>Autovalore</b>	<b>Percentuale di varianza</b>	<b>Percentuale cumulativa di varianza</b>
<b>Componenti principali</b>			
<b>PC1</b>	4.278	38.9	38.9
<b>PC2</b>	3.099	28.2	67.1
<b>PC3</b>	1.530	13.9	81.0
<b>PC4</b>	1.204	10.9	91.9

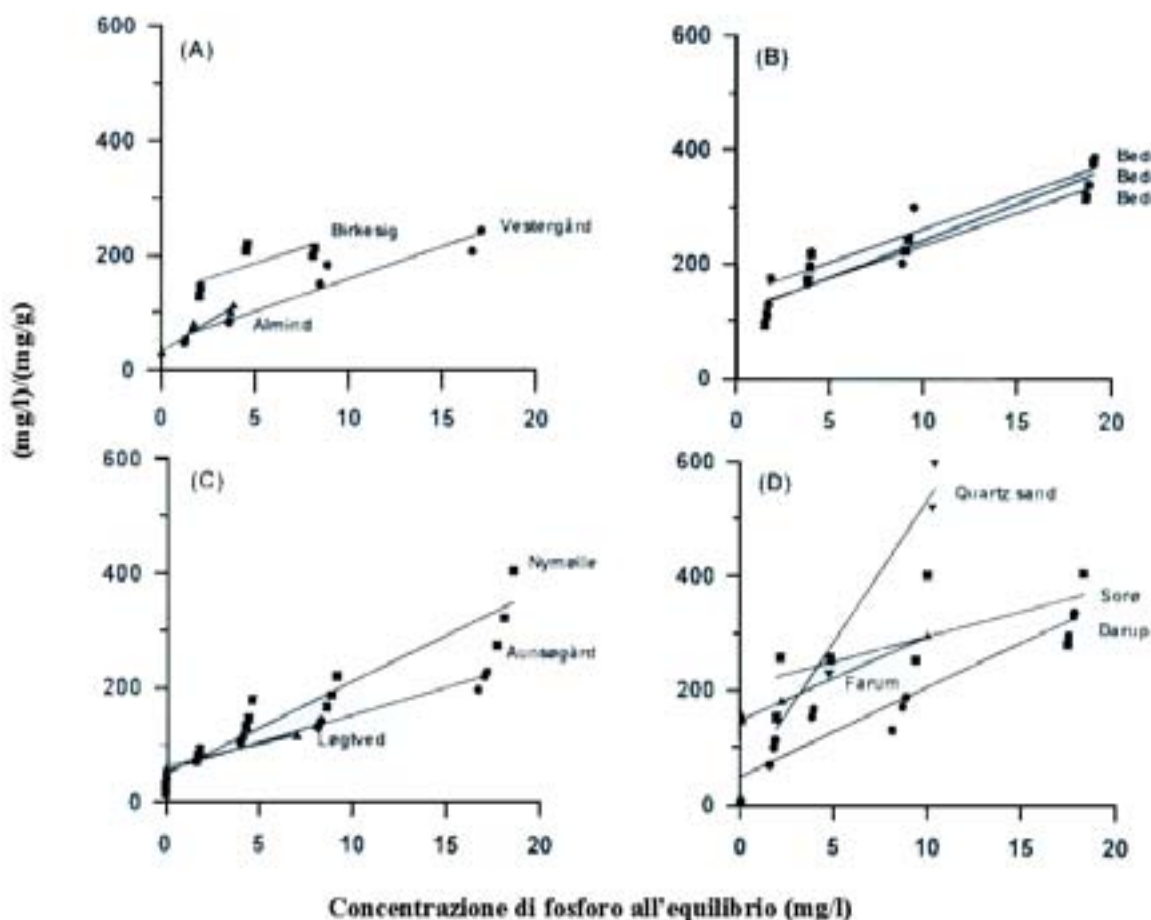
<b>Variabili</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>	<b>PC3</b>	<b>PC4</b>
<b>pH</b>	-0.129	0.067	<b>0.877</b>	0.016
<b>Conducibilità</b>	0.218	0.127	<b>0.888</b>	-0.035
<b>P</b>	<b>0.946</b>	0.053	0.142	0.175
<b>Fe</b>	<b>0.871</b>	-0.336	0.086	-0.123
<b>Ca</b>	0.230	-0.118	-0.069	<b>0.935</b>
<b>Al</b>	<b>0.955</b>	0.116	-0.051	0.167
<b>Mg</b>	<b>0.872</b>	-0.123	-0.067	0.398
<b>G: 0.6-2.0 mm</b>	0.094	<b>0.975</b>	-0.061	0.171
<b>G: 0.426-0.6 mm</b>	-0.252	<b>0.759</b>	-0.150	-0.550
<b>G: 0.18-0.425 mm</b>	-0.048	<b>0.971</b>	0.149	0.044
<b>G: 0.106-0.18 mm</b>	0.148	<b>0.738</b>	0.256	0.465

Le componenti principali identificate, sono state poi utilizzate come variabili indipendenti in una regressione multipla, dove la variabile dipendente era rappresentata dalla quantità di fosforo rimosso alle varie concentrazioni iniziali. La correlazione più significativa fu trovata per una concentrazione iniziale di fosforo aggiunto pari a 80 mg/l ( $P=0.0000$ ). Le quattro componenti principali identificate (vedi Tabella 16) sono risultate significative ( $P<0.1$ ) nella regressione multipla. La componente relativa al fattore correlato al pH e alla conducibilità (PC3) rende conto da



sola dell'82.2% della variazione nella quantità di P assorbito ( $P=0.0000$ ). Considerando la componente principale PC4 ( $P=0.001$ ) si ottiene un ulteriore 7.6% della variazione, mentre le altre due componenti PC2 ( $P=0.01$ ) e PC1 ( $P=0.004$ ), considerate insieme, rendono conto di un ulteriore 6.6% della variazione della quantità di P assorbito. Complessivamente, quindi, il 96.4% della variazione della quantità di P assorbito può essere spiegata da questi quattro fattori. Le analisi di regressione multipla per più alti livelli di concentrazione delle soluzioni di incubazione mostrano un comportamento analogo, ma il livello di significatività diventa progressivamente minore. Per esempio a 160 mg P/l soltanto i fattori correlati con il pH e la conducibilità e con il Ca sono risultati statisticamente significativi ( $P<0.01$ ), rendendo conto del 79.5% della variazione nell'assorbimento del P. A 320 mg P l<sup>-1</sup> combinando in uno i fattori correlati al pH, conducibilità e Ca, e considerando anche il fattore correlato con la granulometria, è possibile spiegare l'89.6% della variazione. Per concentrazioni di incubazione minori di 80 mg l<sup>-1</sup> nessuna delle componenti principali è risultata statisticamente significativa in relazione alla rimozione di fosforo. I dati relativi alle prove di rimozione di tipo discontinuo sono stati usati per stimare, attraverso l'equazione di Langmuir, la massima capacità di adsorbimento di fosforo da parte dei vari materiali (vedi Figura 34). Per minimizzare l'importanza di eventuali fenomeni di rimozione diversi dall'adsorbimento (quali la precipitazione di fosfati), sono stati presi in considerazione esclusivamente i dati di rimozione relativi a concentrazioni iniziali di fosforo  $\leq 20$  mg/l. La massima capacità di adsorbimento stimata nel modo descritto, è risultata compresa tra gli 0.020 mg P/g di Quartz sand e gli 0.129 mg P/g per Løgtved (vedi Tabella 15). Per la maggior parte dei materiali la capacità di massimo adsorbimento, stimata secondo Langmuir, è risultata almeno un ordine di grandezza al di sotto di quella effettiva per concentrazioni iniziali di fosforo pari a 320 mg/l (vedi Tabella 15), indicando la presenza di altri fenomeni di rimozione in aggiunta al semplice adsorbimento.





**Figura 34 – Isoterme di Langmuir per dati di adsorbimento a basse concentrazioni iniziali di P ( $\leq 20$  mg/l).**

Per comprendere quale delle caratteristiche misurate per i vari materiali fosse maggiormente correlata con le differenze di rimozione (stimate attraverso le isoterme di Langmuir), le quattro componenti principali, che rendevano conto della percentuale maggiore della varianza delle medesime caratteristiche, sono state usate come variabili indipendenti in una regressione multipla, dove la variabile dipendente era rappresentata dalla capacità di adsorbimento del fosforo. Due delle quattro componenti principali sono risultate significative ( $P < 0.1$ ) nella regressione multipla. PC2 è risultata la componente maggiormente significativa ( $P = 0.035$ ) e ha pesato per il 21.4% della varianza della capacità di rimozione del fosforo. PC1, invece, ha mostrato un livello di significatività inferiore ( $P = 0.07$ ) e un peso del 22.9% rispetto alla varianza complessiva. In totale, perciò, PC1 e PC2 rendono conto del 44.3% della variazione nella capacità di adsorbimento del fosforo. La conducibilità e il pH non sono stati, viceversa, significativi mostrando un  $P > 0.1$ . Anche



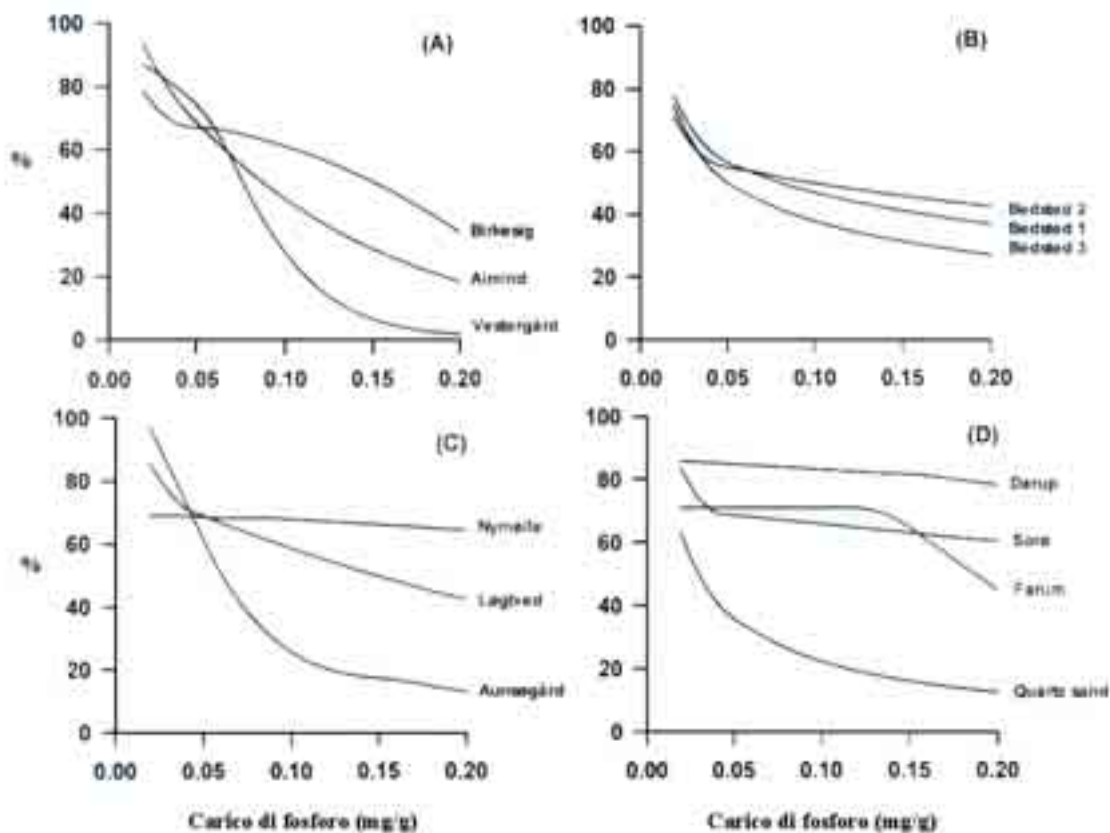
la correlazione univariata di tutte le caratteristiche dei materiali con la capacità di rimozione del fosforo ha mostrato che nessuna di queste è, da sola, significativa nello spiegare le variazioni osservate ( $P > 0.05$ ).

### *3.5.3 Esperimenti in colonna e analisi statistiche relative*

In Figura 35 sono riportate le percentuali di fosforo rimosse durante l'esperimento di dosaggio in continuo di fosforo ad una concentrazione pari a 10 mg/l, quest'ultima espressa come mg di fosforo aggiunto in colonna, al crescere del tempo, per grammo di materiale. Come si nota, all'inizio tutti i materiali rimossero il fosforo efficacemente, ma dopo un certo lasso di tempo tutte hanno mostrato una sensibile diminuzione delle prestazioni. In particolare, Quartz sand, Vestergård e Aunsøgard diminuirono rapidamente la loro capacità di rimozione, mentre Darup mantenne una efficienza di abbattimento  $>80\%$  per tutti gli 84 giorni dell'esperimento. Nymølle e Sorø mostrarono una capacità di rimozione intermedia (circa il 70%) e abbastanza costante durante tutto l'esperimento, mentre altre sabbie quali Almind e Bedsted 3 diminuirono la loro efficienza al di sotto del 50% dopo 12 settimane.

I grafici riportati in Figura 36 mostrano come la rimozione, espressa come mg P/g di materiale, ha seguito inizialmente un andamento quasi lineare, per poi discostarsi, in modo più o meno accentuato col passare del tempo. Il materiale denominato Darup si è dimostrato il più efficiente tra quelli testati, con una capacità di rimozione significativamente più elevata del carico dosato (0.2 mg P/g) durante le 12 settimane dell'esperimento. Analogamente a quanto precedentemente spiegato per l'esperimento delle isoterme di adsorbimento, anche in questo caso si è proceduto ad una analisi delle componenti principali che ha permesso di ridurre il numero delle variabili indipendenti dalle 11 iniziali (5 caratteristiche chimiche, 4 granulometriche, pH e conducibilità medi misurati in uscita dalle colonne) a tre componenti principali.





**Figura 35 – Rimozione percentuale (n=2) di fosforo nei confronti del carico dosato durante l'esperimento in colonna (mg/g), per i diversi materiali studiati.**

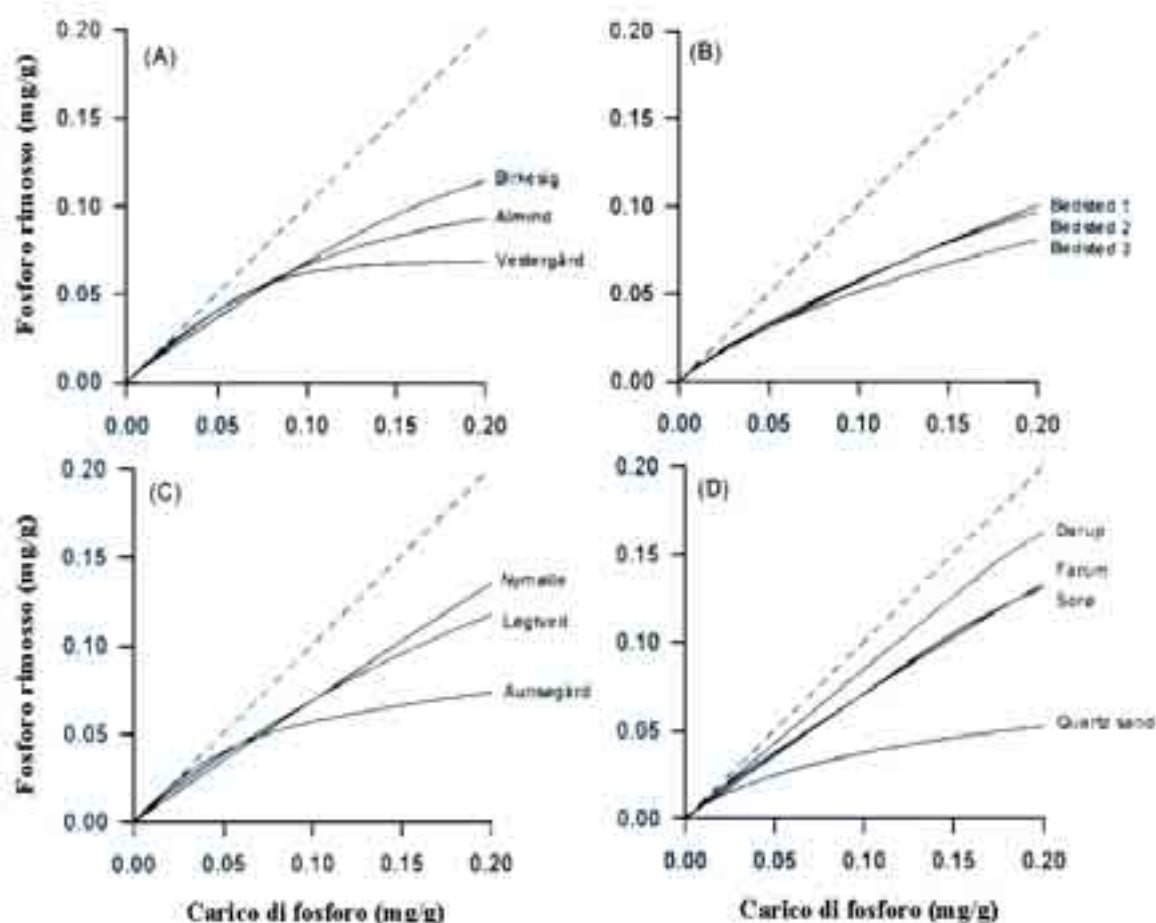
I fattori maggiormente significativi per le componenti principali suddette sono stati:

- PC1' - fattore correlato al contenuto in metalli (elevata correlazione per P, Fe, Al e Mg);
- PC2' - fattore correlato alla pezzatura dei materiali e al contenuto in calcio (elevata correlazione per tutte e quattro le granulometrie, in special modo quella più grossolana, >2 mm, e per il Ca)
- PC3' – fattore correlato al pH e alla conducibilità (elevata correlazione per il pH e la conducibilità di equilibrio).



La regressione multipla di queste tre componenti principali ha permesso di vedere che solo PC2' e PC3' sono significative ( $P < 0.1$ ). In particolare, PC2' rende conto da sola del 32.6% della variazione nella quantità di P rimosso ( $P = 0.007$ ), mentre PC3' contribuisce per un ulteriore 20.8% ( $P = 0.06$ ) di tale variazione. Un totale del 53.3% della variazione della rimozione del fosforo può così essere spiegata attraverso questi due fattori ( $P = 0.02$ ).

**Figura 36 – Quantità di fosforo rimosso (mg/g) nei confronti del carico dosato durante**



**l'esperimento in colonna (mg/g), per i diversi materiali studiati.**

Un'analisi di correlazione univariata di tutte le caratteristiche misurate dei suoli rispetto alla rimozione di fosforo, ha mostrato che il contenuto di calcio è positivamente correlato ( $r = 0.78$ ,  $P = 0.002$ ) con tale rimozione.

La rimozione ottenuta nelle prove in continuo è stata generalmente più elevata di quella attesa in



base alla equazione di Langmuir e nessuna significativa correlazione fu riscontrata tra il massimo adsorbimento teorico calcolato in base a detta equazione e la rimozione effettiva durante gli esperimenti in colonna ( $r=0.21$ ,  $P=0.49$ ). Una forte correlazione (vedi tabella 17) è stata invece riscontrata tra la quantità di fosforo rimosso negli esperimenti di isoterme di adsorbimento, e la quantità di nutriente rimosso in colonna. Questo risultato suggerisce l'impiego delle prove di adsorbimento isoterma come un metodo rapido semi-quantitativo per la stima della capacità di rimozione di un dato materiale nei confronti del fosforo. Non si deve comunque dimenticare che l'ammontare del fosforo rimosso (per alte concentrazioni di incubazione) durante gli esperimenti di adsorbimento isoterma risulta essere molto maggiore di quello rimosso in colonna.

**Tabella 17 - Risultati della regressione lineare che descrive la relazione tra la quantità di fosforo rimosso in colonna e quello rimosso negli esperimenti di adsorbimento isoterma. Le relazioni statisticamente significative sono state evidenziate in neretto.**

Concentrazioni iniziali (mg P/l)	Pendenza	Intercetta	P	$r^2$
10	0.302	0.095	0.50	0.42
20	0.083	0.098	0.47	0.48
40	0.103	0.078	0.21	0.14
80	<b>0.051</b>	<b>0.072</b>	<b>0.04</b>	<b>0.32</b>
160	<b>0.045</b>	<b>0.063</b>	<b>0.002</b>	<b>0.60</b>
320	<b>0.024</b>	<b>0.068</b>	<b>0.002</b>	<b>0.60</b>

#### 3.5.4 Frazionamento del fosforo trattenuto in colonna e analisi statistiche relative

La determinazione del fosforo variamente trattenuto dai materiali al termine degli esperimenti in colonna, ha mostrato che il fosforo adsorbito costituisce solo una piccola parte ( $< 7\%$ ) di quello globalmente rimosso (vedi Tabella 18).



**Tabella 18 - Valore medio (n=2) e intervallo delle concentrazioni di fosforo trattenuto dai materiali durante gli esperimenti in colonna dopo 12 settimane di dosaggio in continuo di 10 mg/l di P. P-adsorbito = fosforo adsorbito sulla superficie del materiale; P-Ca+Mg = fosforo legato a calcio e magnesio; P-Fe+Al = fosforo legato a ferro e alluminio; P-residuo = fosforo residuo dopo le estrazioni delle precedenti frazioni.**

<b>Materiali</b>	<b>P-adsorbito (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>P-Ca+Mg (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>P-Fe+Al (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>P-residuo (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>P-totale (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>
<b>Birkesig</b>	7.3 (6.9-7.6)	30.5 (29.2-31.8)	7.4 (6.9-7.8)	186 (162-209)	231 (209-253)
<b>Vestergård Almind</b>	4.2 (4.2-4.2)	9.8 (8.4-11.3)	35.6 (32.1-39.2)	38 (38-38)	88 (86-90)
	6.4 (6.0-6.7)	25.7 (24.9-26.5)	61.2 (60.0-62.3)	157 (149-165)	250 (242-259)
<b>Bedsted 1</b>	6.0 (5.6-6.4)	36.8 (35.7-37.8)	11.4 (10.8-11.9)	261 (248-274)	315 (300-330)
<b>Bedsted 2</b>	5.9 (5.7-6.2)	22.2 (20.9-23.5)	10.7 (9.5-11.9)	188 (167-209)	227 (208-241)
<b>Bedsted 3</b>	6.2 (5.8-6.6)	71.9 (58.2-86.0)	8.8 (8.8-8.8)	169 (115-223)	256 (188-324)
<b>Nymølle</b>	12.5 (10.8-14.2)	48.1 (42.0-54.1)	3.6 (3.4-3.7)	378 (350-407)	442 (421-463)
<b>Aunsøgård</b>	8.9 (8.4-9.4)	105.7 (101.3-110.2)	15.8 (15.5-16.1)	358 (319-398)	489 (443-534)
<b>Løgtved</b>	7.2 (6.8-7.7)	39.8 (35.9-43.7)	8.5 (8.0-9.1)	302 (281-323)	358 (341-375)
<b>Sorø</b>	9.6 (9.3-10.0)	59.4 (55.1-63.7)	4.0 (3.1-4.9)	330 (303-357)	403 (382-425)
<b>Darup</b>	17.3 (13.8-20.7)	82.9 (78.2-87.6)	3.9 (3.3-4.4)	244 (208-281)	348 (320-377)
<b>Farum</b>	8.3 (7.6-9.1)	100.4 (98.3-102.5)	5.3 (4.7-5.8)	235 (208-262)	349 (320-378)
<b>Quartz sand</b>	2.6 (2.4-2.8)	4.0 (4.0-4.0)	18.3 (16.0-20.6)	16 (14-17)	40 (40-41)

La forma prevalente è quella denominata fosforo residuo che costituisce fino all'85% del totale. Alcuni materiali (Darup, Aunsøgård, Farum e Bedsted 3) presentano comunque una significativa quantità di fosforo legato a Ca+Mg, e altre (Vestergård, Almind e Quartz sand) una frazione elevata di fosforo legato a Fe+Al.

Per comprendere quali tipi di correlazioni, statisticamente significative, esistessero tra queste ultime variabili esaminate ed il contenuto in metalli dei suoli esaminati, è stata condotta un'analisi di correlazione univariata che ha mostrato i seguenti risultati.

- La quantità di fosforo adsorbito è positivamente correlata con il contenuto di calcio dei materiali



( $r=0.83$ ,  $P=0.0005$ ).

- La frazione di fosforo legata con Ca+Mg è positivamente correlata con il contenuto di calcio ( $r=0.55$ ,  $P=0.05$ ), magnesio ( $r=0.56$ ,  $P=0.044$ ) e alluminio ( $r=0.63$ ,  $P=0.02$ ) nei suoli.
- La frazione di fosforo legata con Fe+Al è positivamente correlata con il contenuto di ferro ( $r=0.56$ ,  $P=0.05$ ).
- Il fosforo residuo è positivamente correlato con il contenuto di magnesio ( $r=0.88$ ,  $P=0.0001$ ), alluminio ( $r=0.86$ ,  $P=0.0002$ ) e calcio ( $r=0.67$ ,  $P=0.013$ ).

E' stata infine eseguita una regressione lineare dei dati di rimozione del fosforo in colonna, rispetto alle frazioni del fosforo trattenuto nelle medesime colonne per solo adsorbimento o residuo dopo le tre estrazioni. Tale analisi ha mostrato una positiva correlazione sia per il fosforo adsorbito ( $r=0.84$ ,  $P=0.0004$ ) che per quello residuo ( $r=0.65$ ,  $P=0.02$ ).

La frazione di fosforo trattenuto per semplice adsorbimento è stata, comunque, costantemente più bassa di un ordine di grandezza rispetto a quella complessivamente rimossa, indicando che la rimozione del fosforo nelle colonne non avviene per semplice adsorbimento, ma a seguito di più complessi meccanismi che coinvolgono la precipitazione di fosfati insolubili.

### 3.5.5 Conclusioni

I risultati di questo studio dimostrano chiaramente che le capacità di rimozione di suoli danesi aventi differenti origine geologiche variano in modo considerevole, comportando, di conseguenza, una differente possibilità di utilizzo come medium in zone umide costruite a flusso sub-superficiale per la rimozione del fosforo.

La quantità di fosforo dosato all'interno delle colonne durante gli 84 giorni di durata dell'esperimento, corrisponde approssimativamente al carico recapitato durante un periodo di circa due anni in una zona umida costruita "full-scale" avente un dimensionamento classico ( $5 \text{ m}^2/\text{PE}$ , profondità del letto 0.6 m). Ne consegue che da Quartz sand o Vestergård potremo aspettarci un tempo di vita compreso tra uno e due anni, mentre una sabbia come Darup può sicuramente fornire una eccellente rimozione durante i primi due anni di utilizzo e, probabilmente, anche negli anni successivi. Sebbene lo studio in colonna non si sia protratto fino a saturazione di tutti i materiali (ciò è avvenuto a causa dello scarso tempo a disposizione, pari a tre mesi esatti), la buona correlazione tra il fosforo rimosso in colonna e quello adsorbito nelle prove discontinue, permette di avanzare qualche deduzione. Infatti, la quantità di fosforo adsorbito da Darup a  $320 \text{ mg/l}$  è approssimativamente tra 6 e 14 volte più elevata di quella corrispondente per Quartz sand e Vestergård, possiamo perciò avanzare l'ipotesi che il tempo di vita di Darup sia più lungo di quello relativo a questi materiali di un fattore simile e si aggiri perciò tra i 10 e i 20 anni.



I materiali da noi studiati hanno generalmente mostrato proprietà fisiche ( $d_{10}$ ,  $d_{60}$ , coefficiente di uniformità) in linea con quelle richieste dall'Agenzia di Protezione Ambientale della Danimarca per assicurare un'adeguata conducibilità idraulica e scongiurare così il pericolo di intasamenti del letto. Per la rimozione del fosforo, ovviamente, il materiale deve soddisfare anche determinati requisiti circa il contenuto in metalli idonei a "sequestrare" lo ione fosfato.

I nostri dati dimostrano che il contenuto in calcio dei suoli testati è particolarmente importante per la rimozione del fosforo, mentre il ferro e l'alluminio sembrano rivestire un ruolo secondario. Infatti, un alto contenuto in calcio del medium favorisce la rimozione del fosforo per precipitazione, soprattutto per valori di pH relativamente alti quali quelli propri di un refluo civile, mentre per acque di scarico caratterizzate da pH più acidi, il contenuto in alluminio e ferro potrebbe assumere un ruolo più importante (Stumm e Morgan, 1981).

Il nostro studio evidenzia inoltre un ruolo interessante per i semplici esperimenti di adsorbimento isoterma, che possono costituire un metodo veloce per comparare l'efficienza di rimozione del fosforo da parte di differenti materiali, specialmente se effettuati con un'acqua avente una composizione chimica simile a quella da trattare (per esempio nel contenuto in calcio).

La stima del massimo adsorbimento per mezzo dell'equazione di Langmuir, non sembra viceversa costituire un metodo affidabile per l'ottenimento di informazioni circa la capacità di rimozione di un dato materiale.



## 4 BIBLIOGRAFIA

- American Petroleum Institute (API), (1998). *Treatment Wetlands for the Petroleum Industry Effluents*, Brochure prepared for the API Biomonitoring Task Force by CH2M HILL. Washington, D.C.
- American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation (1989). *American Public Health Association et al., 1989*. 17<sup>th</sup> Edition.
- Arias C., Del Bubba M. e Brix, H. *Phosphorus removal by sands for use as media in subsurface flow constructed reed beds*. Water Res., in attesa di stampa.
- Armstrong J, Armstrong W. e Beckett P.M. (1992). *Phragmites australis: Venturi and humidity-induced pressure flows enhance rhizome aeration and rhizosphere oxidation*. New Phytol. 120, 197-207.
- Armstrong, W., Armstrong, J. e Beckett, P. M. (1990). *Measurement and modelling of oxygen release of phragmites australis*. In: Constructed wetlands in water pollution control, pp. 41-52, edited by P.F. Cooper e B.C. Findlater, Advances in water pollution control No. 11. Pergamon Press, Oxford.
- Barrow N.J. (1978). *The description of phosphate adsorption curves*. J.Soil Sci. 29, 447-462.
- Bergey (1984). *Bergey's manual of systematic bacteriology vol. I*. Williams and Wilkins ed.
- Blackburn M. A., Kirby S. J. e Waldock M. J. (1999). *Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries*. Mar. Poll. Bull. 38, 109-118.
- Brix H. (1990). *Gas exchange through the soil-atmosphere interphase and through dead culms of Phragmites australis in a constructed reed bed receiving domestic sewage*. Wat. Res. 24, 259-266.
- Brix H. (1994a). *Functions of macrophytes in constructed wetlands*. Wat. Sci. Tech. 29, 71-78.



- Brix H. (1994b). *Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status and future perspectives*. Wat. Sci. Tech. 30, 209-223.
- Brix H. (1998). *Denmark*. In: *Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe*, pp. 123-152, edited by J.Vymazal, H. Brix, P.F. Cooper, M.B. Green & R. Haberl. Backhuys Publisher, Leiden, The Netherlands.
- Brix H. e Schierup H.H. (1989). *Sewage treatment in constructed reed beds – Danish experiences*. Wat. Sci. Tech. 21, 1665-1668.
- Brix H., Lyngby J.E. e Schierup H.H. (1983). *Eelgrass (Zostera marina L.) as an indicator organism of trace metals in the Limfjord, Denmark*. Mar.Environ.Res. 8, 165-181.
- Cooper P. e de Maeseneer J. (1996). *Hybrid systems – What is the best way to arrange the vertical and horizontal flow stages?*. IAWQ Specialist Group: The use of macrophytes in water pollution control. Newsletter No.15, pp.8-13.
- Day P.R. (1965). *Particle fractionation and particle-size analysis*. In: Black C.A., Evans D.D., Ensminger L.E., White J.L. e Clark F.E. (Eds.), *Methods of soil analysis*. American Society of Agronomy. Inc., Publishers, Madison, Wisconsin, USA, pp.545-567.
- Del Bubba M., Checchini L., Lepri L., Ducceschi L., Griffini O. e Tabani F. (1998). *Use of subsurface horizontal wetlands as tertiary treatment systems*. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, pp.688-696.
- Desideri P.G., Lepri L. e Checchini L. (1992). *A new apparatus for the extraction of organic compounds from aqueous solutions*. Mikrochim. Acta 107, 55-63.
- Di Corcia A., Crescenzi C., Marcomini A. e Samperi, R. (1998). *Liquid chromatography – electrospray – mass spectrometry as a valuable tool for characterizing biodegradation intermediates of branched alcohol ethoxylate surfactants*. Environ. Sci. Technol. 32, 711-718.
- Ejlerthsson J., Nilsson M. L. Kylin, H. Bergman, A. Karlson, L. Oquist, M. e Svensson B. H. (1999). *Anaerobic degradation of nonylphenol mono- and diethoxylates in digester sludge, landfilled municipal solid waste and landfilled sludge*. Environ. Sci. Technol. 33, 301-306.
- Gellini R., Pantani F., Grossoni F., Bussotti P. and Barbolani E. (1983). *Survey of the deterioration of the coastal vegetation in the park of S. Rossore in central Italy*. Eur. J. For. Pathol. 13, 296-304.
- Gellini R., Pantani F., Grossoni F., Bussotti P., Barbolani E. and Rinallo C. (1985). *Further investigation on the causes of disorder of the coastal vegetation in the park of S. Rossore (central Italy)*. Eur. J. For. Pathol. 15, 145-157.
- Gries C., Kappen L. e Lösch, R. (1990). *Mechanism of flood tolerance in reed, Phragmites australis (Cav.) Trin. Ex Steudel*. New Phytol. 114, 589-593.
- Gunary D. (1970). *A new adsorption isotherm for phosphate in soil*. J. Soil Sci. 21, 72-77.
- Hach Company (1996). *DR/2010 Spectromether handbook*. Loveland, Colorado (U.S.A.).



- Hammer D.A. e Knight R.L. (1994). *Designing constructed wetlands for nitrogen removal*. Wat. Sci. Tech. 29, 15-27.
- Hieltjes A.H.M. e Lijklema L. (1980). *Fractionation of inorganic phosphates in calcareous sediments*. J. Environ. Qual. 9, 405-407.
- Hosomi M., Kisaka K., Nakagawa Y., Yumiki M. e Murakami A. (1996). *Behavior of pollutants in vertical subsurface flow wetland systems with intermittent loadings*. Proceedings of 5<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, 14/7-14.
- Inaba K. (1992). *Quantitative assessment of natural purification in wetland for linear alkylbenzenesulfonates*. Wat.Res. 26, 893-898.
- Inaba K. e Amano K. (1988). *HPLC determination of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in aquatic environment. Seasonal changes in LAS concentration in polluted lake water and sediment*. Int. J. Environ. Anal. Chem. 34, 203-213.
- Inaba K., Iwasaki K. e Yagi O. (1988). *A method for behaviour analysis of synthetic chemicals in the aquatic environment using their adsorption constants. A study of linear alkylbenzenesulfonate in wetland*. Environ.Technol.Letters 9, 1387-1392.
- IRSA (1981). *Fosforo - Metodo D-011*. Metodi Analitici per le Acque.
- Johansen N.H. e Brix H. (1996). *Design criteria for a two stage constructed wetland*. Proceedings of 5<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control.
- Kadlec R.H. e Knight R.L. (1996). *Treatment wetlands*. Ed. CRC-Lewis Publishers, Boca Raton, New York (U.S.A.).
- Khatiwada N.R. e Polprasert C. (1998). *Kinetics of fecal coliform removal in constructed wetlands*. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, pp.456-468.
- Klute A. (1965). *Laboratory measurement of hydraulic conductivity of saturated soil*. In: Black C.A., Evans D.D., Ensminger L.E., White J.L. e Clark F.E. (Eds.), *Methods of soil analysis*. American Society of Agronomy. Inc., Publishers, Madison, Wisconsin, USA, pp.210-221.
- Kruzic A. P. e White K.D. (1996). *Natural treatment and on-site processes*. Water Environ. Res. 68, 498-503.
- Lemr K., Zanette M., e Marcomini A. (1994). *Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of 1-naphthyl isocyanate derivatives of linear alcohol polyethoxylates*. J.Chrom. 686, 219-224.
- Lepri L., Desideri P.G. e Del Bubba M. (1997). *Analysis of organic pollutants in a wastewater treatment plant*. Ann. Chim. 87, 317-335.
- Marcomini A. e Giger W. (1987). *Simultaneous determination of linear alkylbenzenesulfonates*,



*alkylphenol polyethoxylates and nonylphenol by high-performance liquid chromatography.* Anal. Chem. 59, 1709-1715.

- Marcomini A. e Zanette M. (1994). *Derivatization procedures and HPLC separations for environmental analysis of aliphatic alcohols polyethyleneglycole ethers (AE).* Riv.Ital.Sost.Grasse, vol. LXXI, 203-208.
- Masi F., Martinuzzi N., Loiselle S., Peruzzi P. e Bacci M. (1999). *The tertiary treatment pilot plant of Publiser Spa (Florence, Tuscany): a multistage experience.* Wat. Sci. Tech. 40, 195-202.
- Masotti L. (1993). *Depurazione delle acque: tecniche ed impianti per il trattamento delle acque di rifiuto.* Ed. Calderini – Bologna. Cap.7, pp.216-235.
- Pergetti M., Spigoni G.L. e Moroni F. (1995). *Primi risultati sperimentali dell'impianto di fitodepurazione a flusso sub-superficiale di Lugo di Baiso (Reggio Emilia).* Ingegneria Ambientale, 24, 565-570.
- Piraccini E. (1998). *Una applicazione di tecniche di fitodepurazione presso l'AMGA di Cesena.* Ingegneria Ambientale, 27, 93-96.
- Rayan S.S.S. e Fox R.L. (1975). *Phosphate adsorption by soils: II. Reactions in tropical acid soils.* Soil Sci. Amer. Proc. 39, 846-851.
- Reed S.C. e Brown D. (1995). *Subsurface flow wetlands – A performance evaluation.* Water Environ. Res. 67, 244-248.
- Reed S.C., Crites, R.W. e Middlebrooks, E.J. (Eds.) (1985). *Natural systems for waste management and treatment.* Mc Graw-Hill, Inc. New York (USA).
- Richardson C.J. (1985). *Mechanisms controlling phosphorus retention capacity in freshwater wetlands.* Science 228,1424-1427.
- Ryden J.C., Mc Laughlin J.R. e Syers J.K. (1977). *Mechanisms of phosphate sorption by soils and hydrous ferric oxyde gel.* J. Soil Sci. 28, 77-92.
- Soto A. M., Justicia H., Wray J. W. e Sonnenschein C. (1991). *p-Nonyl-Phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene.* Environ. Health Persp. 92, 167-173.
- Stumm W. e Morgan J.J. (1981). *Aquatic chemistry. An introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters.* 2<sup>nd</sup> Edition, John wiley & Sons, Inc.
- Syers J.K., Browman M.G., Smillie G.W. e Corey R.B. (1973). *Phosphate sorption by soils evaluated by the langmuir adsorption equation.* Soil Sci. Amer. Proc. 37, 358-363.
- Tange T., Devriese G. e Verstraete W. (1999). *Nonyphenol and estrogenic activity in aquatic environmental samples.* J. Environ. Qual. 28, 702-709.
- Tejada S.B. e Sigsby Jr. J.E. (1988). *Identification of chromatographic peaks using Lotus 1-2-*



3<sup>®</sup>. J. Chromatogr. Sci. 26, 494-500.

- Van den Dool H. e Kratz P.D. (1963). *Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography*. J. Chromatogr. 11, 463-470.
- Veith J.A. eposito G. (1977). *On the use of Langmuir equation in the interpretation of 2adsorption" phenomena*. Soil Sci. Soc. Am. J. 41, 697-702.
- Von Felde K. e Kunst S. (1996). *N- and COD-removal in vertical flow systems*. Proceedings of 5<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, 8/1-7.
- Vymazal J. (1998). *Removal mechanisms and types of constructed wetlands*. In: Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe, pp. 17-66, edited by J.Vymazal, H. Brix, P.F. Cooper, M.B. Green & R. Haberl. Backhuys Publisher, Leiden, The Netherlands.
- Vymazal J. (1998). *Removal of BOD<sub>5</sub> in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: Czech experience*. Proceedings of 6<sup>th</sup> International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, pp.167-175.
- Zurayk R., Nimah M., Geha Y. e Rizk C. (1997). *Phosphorus retention in the soil matrix of constructed wetlands*. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 28, 521-535.